

УДК 574.5:581.132

## ОСОБЕННОСТИ КОНЦЕНТРАЦИОННОЙ ЗАВИСИМОСТИ РАЗВИТИЯ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ В ВОДНЫХ ДИСПЕРСНЫХ СИСТЕМАХ НАНОЧАСТИЦ ПЛАТИНЫ

Т.П. АСТАФУРОВА, Ю.Н. МОРГАЛЕВ, Г.В. БОРОВИКОВА, А.П. ЗОТИКОВА,  
Г.С. ВЕРХОТУРОВА, Т.А. ЗАЙЦЕВА, В.М. ПОСТОВАЛОВА, Т.А. МОРГАЛЕВА

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет»  
634050 Томск, просп. Ленина, 36*

Изучали влияние наночастиц платины на рост корней, надземной части, а также на содержание хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов в проростках пшеницы при их выращивании в течение 10 сут в водной дисперсной системе с концентрациями наночастиц платины 0,01; 0,1; 1,0 и 10,0 мг/л. Показано, что модифицирующий эффект наночастиц в исследованных концентрациях на показатели роста, массы и содержание фотосинтетических пигментов у 10-суточных проростков пшеницы неоднозначен, нелинеен, однако выявляет специфичность воздействия при концентрациях 0,1 и 10,0 мг/л.

*Ключевые слова:* *Triticum aestivum* L., наночастицы платины, концентрация, морфометрические показатели роста, фотосинтетические пигменты.

Актуальность изучения концентрационных эффектов наночастиц обусловлена непредсказуемостью их взаимодействия с клеткой, клеточными структурами [10], и следовательно, необходимостью определения параметров зависимости доза—эффект (включая ПДК) для каждого класса наночастиц и каждого вида биообъектов. Кроме того, корректность исследований концентрационных зависимостей предъявляет особые требования к методам получения стабильных дисперсий наночастиц, время жизни которых в наноразмерном состоянии определяет и стабильность их воздействия на биообъекты [2, 7].

Особое внимание уделяется наночастицам драгоценных металлов — золота и серебра, которые в оптимальных концентрациях успешно используются при диагностике в иммунологии и онкологии, а также в качестве чувствительных маркеров при исследовании процессов в биологических системах [1, 12]. К группе благородных металлов относится и платина, однако исследований в области наноплатины еще очень мало, и они связаны в основном с проблемой получения частиц с целенаправленно формируемыми характеристиками и изучением их физических, оптических и химических свойств [3, 7]. Высокая каталитическая активность наночастиц платины в водных растворах [3] актуализирует проблему их возможной биотоксичности, а также необходимость исследований по изучению зависимости доза—эффект.

Цель нашей работы — оценить влияние разных концентраций наночастиц платины ( $НЧ_{Pt}$ ) размером 5 нм на рост и развитие проростков

пшеницы, культивированных в течение 10 сут в дисперсной системе (ДС) в условиях водной культуры, по изменениям морфологических показателей (длина корней, высота проростков), а также по содержанию хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов в листьях растений.

### Методика

Растения пшеницы (мягкая яровая — *Triticum aestivum* L., сорт Новосибирская 29) исследованы с использованием водной культуры. Семена (по 25 штук) в четырех повторностях для каждой концентрации НЧ<sub>pt</sub> в ДС помещали в разовые чашки Петри на фильтровальную бумагу, смоченную дистиллированной водой (контроль) или ДС с концентрациями НЧ<sub>pt</sub> 0,01; 0,1; 1,0 и 10,0 мг/л (опыт). Проращивали до появления корней в климатической камере при температуре 23–24 °С, освещенности 40 Вт/м<sup>2</sup> и длительности фотопериода 12 ч. В возрасте 3 сут опытные образцы (по 20 из каждой чашки) переносили в вегетационные сосуды, заполненные ДС НЧ<sub>pt</sub> разных концентраций объемом 500 мл, контрольные (в тех же количествах) — в сосуды с дистиллированной водой в тех же объемах и выращивали до 10-суточного возраста при описанных выше условиях.

Наночастицы металлической платины сферической формы диаметром 1,5–25 нм, размером  $\Delta_{50} = 5$  нм, удельной поверхностью 30 м<sup>2</sup>/г получали описанными ранее методами лазерной абляции в дистиллированной воде из брусков платины высокой степени чистоты (99,97 %) [5, 6]. Стабильность наноразмерных частиц сохранялась в течение 40 сут. Дисперсные системы НЧ<sub>pt</sub> необходимых концентраций получали разбавлением исходных ДС и последующей 5-минутной обработкой ультразвуком.

Особенности роста и развития 10-суточных растений пшеницы оценивали по морфометрическим (длина корней, высота проростков) и массовым показателям (общая масса корней и надземной части в каждом сосуде). Состояние пигментного аппарата в пластинке первого листа [9] оценивали по содержанию хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов, которое определяли спектрофотометрически (SHIMADZU UV-1601PC, Япония) [11]. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета Statistica 8. Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

В результате морфометрических исследований обнаружена хорошо выраженная специфичность реакции разных органов проростков на воздействие НЧ<sub>pt</sub> в исследуемых концентрациях (табл. 1). Корни оказались устойчивыми к действию низких концентраций наночастиц (0,01, 0,1 мг/л), а надземная часть, наоборот, более чувствительной, что проявилось в ингибировании роста стеблей и листьев, снижении прироста их массы. При повышении концентрации НЧ<sub>pt</sub> в 100 и 1000 раз (до 1 и 10 мг/л) развитие надземной части проростков не отличалось от контрольных растений. Корневая система, наоборот, оказалась более чувствительной: при концентрации 1 мг/л отмечалось удлинение корней на 30 %, а в условиях максимальной концентрации — более чем в 2 раза, что сопровождалось соразмерным увеличением их массы. Анализ морфометрических показателей свидетельствует также о том, что десяти-

ТАБЛИЦА 1. Влияние разных концентраций НЧ<sub>р</sub> на морфометрические и массовые параметры проростков пшеницы

Концентрация НЧ <sub>рв</sub> , мг/л	Корни		Побег		Отношение масс побег/корень
	Длина, см	Общая масса в одном сосуде, мг	Высота, см	Общая масса в одном сосуде, мг	
Контроль	7,79±0,22	771,4±85,4	2,52±0,26	2087,2±128,4	2,52±0,26
0,01	8,09±0,17	852,7±34,9	2,54±0,08	2161,2±25,2	2,54±0,08
0,1	7,84±0,23	675,3±60,2	2,62±0,20	1737,5±52,5*	2,62±0,20
1,0	10,14±0,22*	752,7±78,5	2,45±0,28	1830,2±74,5	2,45±0,28
10,0	17,27±0,29*	1353,2±26,9*	1,36±0,06*	1840,8±48,3	1,36±0,06*

ТАБЛИЦА 2. Содержание пигментов фотосинтеза (мкг/г сухой ткани) в листьях проростков пшеницы и их соотношение при разных концентрациях наночастиц

Концентрация наночастиц, мг/л	Хлорофиллы			Каротиноиды (κ)		
	a	b	a/b	κ	(a+b)/κ	%
Контроль	999±29	292±13	3,42	251±17	5,14	100
0,01	962±17	290±7	3,31	213±7	5,88	114
0,1	907±27*	270±18	3,36	196±12*	6,00	116
1,0	1170±20*	339±9*	3,45	250±3	6,03	117
10,0	1160±24*	337±12*	3,44	239±5	6,26	122

\* Разница достоверна при  $p < 0,05$ .

кратное повышение каждой последующей концентрации  $\text{HЧ}_{\text{Pт}}$  не вызвало у растений линейного ответа доза—эффект: отсутствие какой-либо реакции растений на концентрацию 0,01 мг/л; угнетение роста надземной части проростков с повышением дозы до 0,1 мг/л; стимулирование ростовых процессов в корневой системе при концентрациях  $\text{HЧ}_{\text{Pт}}$  1,0 и 10,0 мг/л, в большей степени выраженное при максимальном их содержании в ДС.

В листьях этих же проростков определяли содержание хлорофиллов  $a$ ,  $b$  и каротиноидов. Установлено, что при воздействии 0,1; 1,0 и 10 мг/л  $\text{HЧ}_{\text{Pт}}$  содержание пигментов изменялось разнонаправленно (табл. 2). Так,  $\text{HЧ}_{\text{Pт}}$  при концентрации 0,1 мг/л оказывали ингибирующее влияние на состояние пигментного аппарата, что проявлялось в снижении содержания основного фотосинтетического пигмента — хлорофилла  $a$  (10 %) и каротиноидов (15 %), в то время как количество хлорофилла  $b$  не изменялось. При более высоких концентрациях  $\text{HЧ}_{\text{Pт}}$  (1,0 и 10,0 мг/л), наоборот, накопление хлорофиллов  $a$  и  $b$  возрастало на 14—15 % при оптимальном уровне каротиноидов, т. е. у 10-суточных проростков пшеницы даже в условиях длительного периода воздействия  $\text{HЧ}_{\text{Pт}}$  в исследуемых концентрациях сохраняется достаточно высокий уровень пластичности пигментного аппарата. Более того, наблюдаемые изменения содержания пигментов аналогичны специфике развития проростков. Это свидетельствует о том, что между фотосинтезом и ростовыми процессами сохраняется очень тесная связь, регулируемая как метаболическими (накопление ассимилятов), так и гормональными механизмами [4].

Известно, что фотосинтетические пигменты, экстрагируемые из хлоропластов для определения их содержания, в нативном состоянии встроены в тилакоидные мембраны хлоропластов и образуют сложные пигмент-белковые комплексы, выполняющие светособирающую функцию. Поэтому кроме количественного определения содержания пигментов особое внимание уделяется анализу их соотношений в структурах светособирающих комплексов как внешних, так и тесно ассоциированных с реакционными центрами фотосистем ФС I и ФС II.

Соотношение хлорофиллов  $a/b$  во всех вариантах концентрационного градиента  $\text{HЧ}_{\text{Pт}}$  существенно не отличалось от контрольного уровня, несмотря на разнонаправленные изменения содержания отдельных пигментов (см. табл. 2). Снижение суммарного содержания зеленых пигментов ( $a + b$ ) у опытных растений наблюдалось только при концентрации  $\text{HЧ}_{\text{Pт}}$  0,1 мг/л, что, по мнению некоторых авторов [8], можно рассматривать как защитный механизм, если одновременно значительно не изменяется соотношение хлорофиллов  $a/b$ . Соотношение содержания суммы хлорофиллов и каротиноидов —  $(a + b)/k$  — у растений всех опытных групп повышалось (даже при минимальной концентрации  $\text{HЧ}_{\text{Pт}}$  — 0,01 мг/л), причем прирост, выраженный в процентах (14—22 %), почти прямо пропорционально зависел от дозы. Соотношение  $k/\text{хл } a$ , наоборот, уменьшалось при всех концентрациях  $\text{HЧ}_{\text{Pт}}$ , а в его изменении (88—82 %) проявлялась обратная зависимость от дозы  $\text{HЧ}_{\text{Pт}}$ .

В данных условиях эксперимента  $\text{HЧ}_{\text{Pт}}$  воздействуют уже на стадии прорастания семян, когда только начинают оформляться гормонально-метаболические связи, запускающие весь цикл процессов роста и развития. Оказалось, что у растений, выращенных в условиях максимальной

концентрации  $\text{НЧ}_{\text{Pt}}$ , соотношение масс надземной и подземной частей значительно (в 1,8 раза) ниже, чем у контрольных проростков (см. табл. 1). Более того, ранее нами было установлено, что органы проростков пшеницы в аналогичных условиях накапливают  $\text{НЧ}_{\text{Pt}}$  в разных количествах [6]. Особенно значительная их аккумуляция наблюдалась в корнях ( $42,96 \pm 8,69$  мг/г сырой ткани), что почти в 100 раз превышало их количество в надземной части ( $0,44 \pm 0,08$  мг/г сырой ткани). Очевидно, что аномальный рост корней обусловлен непосредственным участием наночастиц в дискоординации процессов регуляции роста и общего метаболизма.

Таким образом, модифицирующее воздействие наночастиц платины в диапазоне концентраций 0,01–10,0 мг/л на изучаемые показатели неоднозначно, нелинейно, однако  $\text{НЧ}_{\text{Pt}}$  специфично влияют при их концентрациях 0,1 и 10,0 мг/л. Наблюдаемые изменения ростовых и массовых параметров, состояния пигментного аппарата свидетельствует о том, что  $\text{НЧ}_{\text{Pt}}$ , по-видимому, воздействуют на сложный механизм регуляции роста и развития растений.

1. Дыкман Л.А., Хлебцов Н.Г. Золотые наночастицы в биологии и медицине: достижения последних лет и перспективы // *Acta Naturae*. — 2011. — 3, № 2 (9). — С. 36–58.
2. Егорова Е.М. Наночастицы металлов в растворах: биохимический синтез и применение // *Нанотехника*. — 2004. — № 1. — С. 15–26.
3. Ершов Б.Г. Наночастицы платины и палладия в водных растворах: оптические и каталитические свойства // *Современные проблемы физической химии наноматериалов*. — М.: Граница, 2008. — С. 243–255.
4. Мокроносов А.Т. Интеграция функций роста и фотосинтеза // *Физиология растений*. — 1983. — 30, № 5. — С. 868–880.
5. Моргалев Ю.Н., Астафурова Т.П., Боровикова Г.В. и др. Аккумуляция наночастиц платины в растениях пшеницы и гороха и особенности их морфологических изменений // *Нанотехника*. — 2012. — № 31. — С. 81–86.
6. Моргалев Ю.Н., Хоч Н.С., Моргалева Т.Г. и др. Биотестирование наноматериалов: о возможности транслокации наночастиц в пищевые сети // *Российские нанотехнологии*. — 2010. — 5, № 11–12. — С. 131–135.
7. Ничик М.Н., Войтехович С.В., Лесникович А.И., Ивашкевич О.А. 5-Меркаптотетразолы в качестве стабилизаторов наночастиц палладия и платины // *Докл. НАН Беларуси*. — 2011. — 55, № 4. — С. 60–65.
8. Сарбаева Е.В., Воскресенская О.Л. Некоторые аспекты устойчивости туи западной в городских экосистемах [Электронный ресурс] <http://www.marsu.ru/bhf/ecology/thuja>, 2008.
9. Степанов С.А., Даштоян Ю.В. Ярусная изменчивость содержания хлорофилла листьев пшеницы. Современная физиология растений: от молекул до экосистем // *Материалы докл. междунар. конф. Часть 3*. — Сыктывкар, 2007. — С. 418–419.
10. Чузунов А.Н. Невидимая граница: где сталкиваются «нано» и «био» // *Косметика и медицина*. — 2010. — № 1. — С. 12–24.
11. Шлык А.А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев: Биохимические методы в физиологии растений. — М.: Наука, 1971. — С. 154–170.
12. Lesniak W., Bielinska A., Sun K. et al. Silver/Dendrimer nanocomposites as biomarkers: fabrication, characterization, in vitro toxicity and intracellular detection // *Nanoletters*. — 2005. — 5, Is. 11. — P. 2123–2130.

Получено 05.02.2013

ОСОБЛИВОСТІ КОНЦЕНТРАЦІЙНОЇ ЗАЛЕЖНОСТІ РОЗВИТКУ ПРОРОСТКІВ ПШЕНИЦІ У ВОДНИХ ДИСПЕРСНИХ СИСТЕМАХ НАНОЧАСТИНОК ПЛАТИНИ

*Т.П. Астафурова, Ю.М. Моргалев, Г.В. Боровикова, А.П. Зотикова, Г.С. Верхотурова, Т.А. Зайцева, В.М. Постовалова, Т.А. Моргалева*

Федеральный державный бюджетный образовательный заклад вищої професійної освіти  
«Національний дослідний Томський державний університет»

Вивчали вплив наночастинок платини на ріст коренів, надземної частини, а також на вміст хлорофілів *a*, *b* і каротиноїдів у проростках пшениці за їх вирощування впродовж 10 діб у водній дисперсній системі за концентрації наночастинок платини 0,01; 0,1; 1,0 і 10,0 мг/л. Показано, що модифікувальний ефект наночастинок у досліджених концентраціях на показники росту, маси і вміст фотосинтетичних пігментів у 10-добових проростків пшениці неоднозначний, нелінійний, але специфічно впливає за концентрацій 0,1 і 10,0 мг/л.

FEATURES OF THE CONCENTRATION DEPENDENCE OF THE DEVELOPMENT OF WHEAT SEEDLINGS IN AQUEOUS DISPERSION SYSTEMS OF PLATINUM NANOPARTICLES

*T.P. Astafurova, Yu.N. Morgalev, G.V. Borovikova, A.P. Zotikova, G.S. Verhoturova, T.A. Zaytseva, V.M. Postovalova, T.G. Morgaleva*

National Research Tomsk State University  
36 Lenina pr., Tomsk, 634035, Russia

The effects of platinum nanoparticles ( $\Delta_{50} = 5$  nm) on the growth of roots and above-ground part, as well as on the content of chlorophyll *a*, *b* and carotenoids in wheat seedlings grown for 10 days in aqueous dispersion system at concentrations of nanoparticles 0,01; 0,1; 1,0 and 10,0 mg/l were studied. It is shown that the modifying effect of platinum nanoparticles in the investigated concentrations on growth, weight parameters and content of photosynthetic pigments in the 10-day-old wheat seedlings is ambiguous, nonlinear, but reveals the specificity of their influence at concentrations of 0,1 and 10,0 mg/l.

*Key words:* *Triticum aestivum* L., platinum nanoparticles, concentration, morphometric indices, photosynthetic pigments.