

**Физиология адаптации**

УДК 633.11:581.1:57.044:546.74:541.18

doi: 10.15389/agrobiology.2018.3.578rus

**МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ (*Triticum aestivum* L.) ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НАНОЧАСТИЦ НИКЕЛЯ\***А.П. ЗОТИКОВА, Т.П. АСТАФУРОВА, А.А. БУРЕНИНА, С.А. СУЧКОВА,  
Ю.Н. МОРГАЛЕВ

Интенсивное развитие нанотехнологий обуславливает актуальность исследований по выявлению закономерностей воздействия техногенных наноматериалов на биообъекты. Степень проявления токсичности наносоединений при их воздействии на растения зависит от физических свойств наночастиц (размерность, форма, каталитическая активность, концентрация). При этом мало изучены их взаимодействие с растительной клеткой и концентрационная зависимость эффектов для наночастиц разной химической природы и различных биообъектов. Цель настоящей работы состояла в комплексном изучении воздействия наночастиц никеля (НЧ Ni<sup>0</sup>) размером  $\Delta_{50} = 5$  нм в разной концентрации на рост, содержание пигментов, флавоноидов и пролина, интенсивность фотосинтеза и транспирации у проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Откалиброванные семена мягкой яровой пшеницы сорта Новосибирская 29 предварительно проращивали в течение 2-3 сут (до появления корешков) в чашках Петри на фильтровальной бумаге, пропитанной суспензиями наночастиц Ni<sup>0</sup> в концентрациях 0,01; 0,1; 1 и 10 мг/л. В контрольном варианте семена проращивали на дистиллированной воде. Затем проростки перемещали в вегетационные сосуды объемом 500 мл для выращивания в водных дисперсных системах НЧ Ni<sup>0</sup> в указанных концентрациях в климатической камере до 10-суточного возраста. Морфометрические параметры оценивали по длине проростков и корневой системы, массе корневой и надземной частей растений. Для определения содержания фотосинтетических пигментов, флавоноидов и пролина формировали среднюю пробу из листьев 10 растений. Исследуемые параметры проростков зависели от дозы наночастиц никеля в дисперсионной среде. НЧ Ni<sup>0</sup> в низких концентрациях (0,01 и 0,1 мг/л) не изменяли или стимулировали ростовые процессы, в более высоких дозах (1 и 10 мг/л) — значительно угнетали рост корней и надземной части. Длина корня при концентрации НЧ Ni<sup>0</sup> 1 мг/л уменьшалась в 2 раза, при концентрации 10 мг/л — в 3 раза, сырая масса — соответственно в 1,9 и 2,7 раза, длина проростков — в 1,3 и 1,9 раза. Содержание хлорофиллов а и б достоверно уменьшалось только при концентрации 10 мг/л, количество каротиноидов при возрастании концентрации НЧ Ni<sup>0</sup> постепенно снижалось. Исследование фотосинтеза и транспирации также выявило эффект дозы: НЧ Ni<sup>0</sup> в концентрации 0,01 и 0,1 мг/л достоверно повышали интенсивность фотосинтеза и транспирации, 1 мг/л — не изменяли интенсивность этих процессов, 10 мг/л — снижали показатели. Сумма флавоноидов с повышением концентрации НЧ Ni<sup>0</sup> уменьшалась, однако дозовой зависимости не наблюдалось. В то же время воздействие НЧ Ni<sup>0</sup> на проростки пшеницы привело к повышению содержания пролина, наблюдалась четкая зависимость этого показателя от концентрации наночастиц. Масс-спектрометрические исследования выявили значительное накопление наночастиц в органах растений, особенно в корневой системе: в опытном варианте содержание никеля составляло  $50,89 \pm 1,67$  мкг/г сухой массы, в контроле —  $3,8 \pm 0,15$  мкг/г сухой массы. В надземной части содержание никеля было на порядок ниже: в опыте —  $14,20 \pm 2,38$ , в контроле —  $0,87 \pm 0,025$  мкг/г сухой массы. Таким образом, проведенные исследования выявили морфофизиологические особенности проростков пшеницы при их выращивании на водных дисперсных системах НЧ Ni<sup>0</sup> размером 5 нм, при этом для большинства показателей наблюдалась зависимость исследованных процессов от концентрации наночастиц.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., наночастицы никеля, накопление наночастиц, фотосинтетические пигменты, фотосинтез, транспирация, флавоноиды, пролин.

Нанотехнологии находят широкое применение в промышленности, медицине и сельском хозяйстве. Однако некоторые компоненты нанотехнологических производств потенциально опасны для окружающей среды, а их влияние на биологические объекты недостаточно изучено (1). Вопрос о воздействии наночастиц на живые организмы связан с исследованием механизмов их токсического эффекта и круговорота в природе. По

\* Результаты были получены в рамках выполнения государственного задания Минобрнауки России, проект № 37.7810.2017/8.9.

современным представлениям, сложность взаимодействия зависит как от физико-химических свойств, способа получения, размеров, структуры наночастиц, так и от особенностей биологических объектов, в том числе видов растений (2).

Показано, что вещества в форме наночастиц имеют иные свойства и способность проникновения в растения, чем те же вещества в ионной форме (3). Наночастицы металлов характеризуются избыточной поверхностной энергией и высокой реакционной способностью, активно вступают в процессы агрегации и реакции с другими химическими соединениями (4). Кроме того, взаимодействуя с различными структурами клетки и обладая пролонгированным действием, наночастицы могут выступать в роли катализаторов в реакциях с образованием как стимуляторов роста и развития, так и ингибиторов (5, 6). То есть растительные организмы дают возможность оценить специфичность воздействия наночастиц и их дозозависимые эффекты.

К настоящему времени в большей степени изучено влияние на растительные объекты наночастиц Ag, TiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, ZnO и CeO<sub>2</sub> (7). Сведений о действии наночастиц никеля существенно меньше (8-10). Вместе с тем имеется достаточное количество публикаций по влиянию ионов никеля на рост, развитие и физиолого-биохимические параметры растений (11, 12). По объему производства однородных порошков металлов с высокой степенью чистоты, наряду с наночастицами железа, алюминия, меди и титана, к пятерке лидеров относятся наночастицы никеля (13). Они широко используются в медицине и биологии (14, 15), входят в состав магнитных жидкостей и катализаторов, применяются для создания высокоскоростных оптических устройств (16, 17), а также могут попадать в окружающую среду в процессе производства, использования и утилизации (18).

Никель считают необходимым для высших растений ультрамикрорелементом, поскольку от его содержания зависит активность ферментов различных путей метаболизма, например уреазы. Низкие концентрации солей никеля, внесенные в питательный раствор, оказывают положительное влияние на рост и развитие растений, в том числе пшеницы (19). Среди тяжелых металлов никель выделяется высокой токсичностью и вызывает значительные нарушения структуры и функционирования клеток (20).

В настоящей работе впервые показано, что действие даже низких концентраций наночастиц никеля ( $\Delta_{50} = 5$  нм) в диапазоне 0,01-10 мг/л вызывает заметные изменения структурных и функциональных показателей проростков пшеницы и имеет в основном дозозависимость.

Цель нашей работы состояла в выявлении морфологических и физиолого-биохимических особенностей у проростков пшеницы под влиянием наночастиц никеля (НЧ Ni<sup>0</sup>) разной концентрации.

**Методика.** В качестве объекта исследования использовали 10-суточные проростки мягкой яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Новосибирская 29. Растения выращивали в лабораторных условиях в климатической камере («Labline Scientific Instruments», Польша) при 12-часовом фотопериоде, температуре 23-24 °С и освещенности 60 Вт/м<sup>2</sup>. В опыте использовали семена, всхожесть которых была определена предварительно по ГОСТ 12038-84 и составляла не менее 95 %. Откалиброванные семена предварительно проращивали в течение 2-3 сут (до появления корешков) в одноразовых пластмассовых чашках Петри с двумя слоями увлажненной фильтровальной бумаги, в опыте использовали суспензии наночастиц Ni<sup>0</sup> в концентрации 0,01; 0,1; 1 и 10 мг/л, в контрольном варианте — дистилли-

рованную воду. Проросшие семена переносили в вегетационные сосуды объемом 500 мл, которые помещали в климатическую камеру, где проростки выращивали до 10-суточного возраста. В опытных вариантах для выращивания использовали суспензии наночастиц никеля указанных выше концентраций, в контроле — дистиллированную воду. В связи с агрегацией наночастиц и снижением их концентрации в свободной форме ежедневно заменяли все дисперсные системы в сосудах. В каждом сосуде было 25 растений, эксперимент проводили в 4 повторностях для каждого варианта опыта.

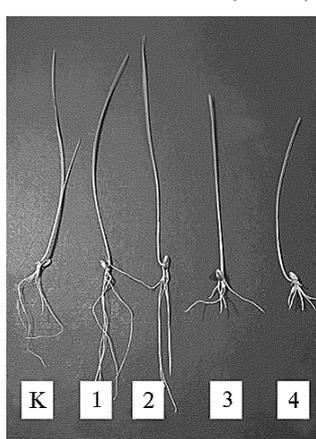
Наночастицы Ni<sup>0</sup> получали методом лазерной абляции в дистиллированной воде из брусков никеля (чистота 99,95 мас.%, марка Ni 3N5) («Гирмет», Россия). При воздействии на брусок излучением импульсного Nd-YAG-лазера LS-2134UTF («Lotis Tii», Белоруссия, Япония) происходила абляция и разбрызгивание материала мишени в окружающую среду. Толщина удаляемого за импульс слоя была мала и не превышала нескольких десятков нанометров. Вне мишени удаляемый материал организовывался в наночастицы (21). По данным просвечивающей электронной микроскопии (Philips CM-12, «Koninklijke Philips N.V.», Нидерланды), диаметр частиц составлял 2-12 нм со средним размером  $\Delta_{50} = 5$  нм и удельной поверхностью 30 м<sup>2</sup>/г. Необходимые концентрации дисперсных систем НЧ Ni<sup>0</sup> получали разведением исходной дисперсионной среды (ДС) дистиллированной водой и последующей 45-минутной обработкой ультразвуком с частотой 35 кГц в ультразвуковой ванне (УЗВ-5,7/1 ТТЦ, ЗАО ПКФ «Сапфир», Россия). Количественные характеристики поглощения наночастиц из ДС определяли методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой по содержанию Ni в образцах тканей из корней и надземной части (листья + стебель) растений (22). Корни перед высушиванием дважды промывали 0,01 % раствором Na-EDTA, затем трижды дистиллированной водой для удаления частиц, сорбированных на поверхности. Образцы корней и листьев, высушенные до постоянной массы, растирали в фарфоровой ступке, для анализа брали навеску массой 0,1 г. Пробы озоляли в микроволновой системе разложения Speedwave TM MWS-3+ («BERGHOF Products + Instruments GmbH», Германия) и анализировали на масс-спектрометре ELAN DRC-e («PerkinElmer, Inc.», США).

Морфометрические параметры оценивали по длине корневой системы и проростков, массе корневой и надземной частей растений. Сырую массу определяли стандартным весовым методом. Для оценки содержания фотосинтетических пигментов формировали среднюю пробу из 10 растений (масса навески 0,4 г). Количество хлорофиллов и каротиноидов определяли спектрофотометрически (спектрометр UV-1601PC, «Shimadzu Corp.», Япония) в спиртовых вытяжках (23). Для измерения интенсивности фотосинтеза и транспирации использовали портативный инфракрасный газоанализатор Li-6400 («LI-COR Biosciences», США) с открытой системой, где в качестве искусственного источника света применяли систему фотодиодов (6400-02B LED), обеспечивающую освещенность 1000 мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>. В листовой камере поддерживалась температура 24 °С, скорость потока CO<sub>2</sub> составляла 400 мкмоль/с, его содержание — 400 мкмоль/моль. Интенсивность фотосинтеза и транспирации измеряли в листьях 10-суточных проростков. Содержание флавоноидов оценивали спектрофотометрическим методом по реакции с хлоридом алюминия. Оптическую плотность раствора определяли при  $\lambda = 415$  нм на спектрофотометре UV-1601PC («Shimadzu Corp.», Япония). Количество флавоноидов рассчитывали по калибровочной кривой, построенной по рутину («Sigma», Великобритания) (24).

Содержание свободного пролина в побегах оценивали с помощью кислого нингидринового реактива по методу L.S. Bates с соавт. (25).

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета Statistica 8 («StatSoft, Inc.», США). В таблицах и на рисунках представлены средние арифметические значения ( $M$ ) и их стандартные ошибки ( $\pm SEM$ ) по морфологическим параметрам из 100, по физиолого-биохимическим показателям и накоплению никеля — из 4 биологических повторностей. Достоверными считали различия с вероятностью ошибки  $p \leq 0,05$ .

**Результаты.** При 10-суточном выращивании пшеницы на дисперсионной среде, содержащей НЧ Ni<sup>0</sup> в концентрации 10 мг/л, происходило значительное накопление наночастиц в органах растений, особенно в корневой системе. Так, в опытном варианте содержание никеля в корнях составляло  $50,89 \pm 1,67$  мкг/г сухой массы, в контроле — всего  $3,8 \pm 0,15$  мкг/г сухой массы. В надземной части содержание никеля было на порядок ниже: в опыте —  $14,20 \pm 2,38$ , в контроле —  $0,87 \pm 0,025$  мкг/г сухой массы.



**Рис. 1.** 10-Суточные проростки мягкой яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Новосибирская 29 при действии наночастиц Ni<sup>0</sup> в разной концентрации: К — контроль; 1 — 0,01; 2 — 0,1; 3 — 1; 4 — 10 мг/л в дисперсионной среде (лабораторный опыт).

Аккумулированные наночастицы вызывали видимые изменения морфометрических параметров корневой системы и надземной части проростков пшеницы (рис. 1). Если НЧ Ni<sup>0</sup> в концентрациях 0,01 и 0,1 мг/л не изменяли или даже стимулировали ростовые процессы, то НЧ Ni<sup>0</sup> в более высоких дозах (1 мг/л и особенно 10 мг/л) значительно угнетали рост корней и надземной части (табл. 1). Так, длина корневой системы при концентрации НЧ Ni<sup>0</sup> 1 мг/л уменьшилась примерно в 2 раза, а при 10 мг/л — в 3 раза, сырая масса — соответственно в 1,9 и 2,7 раза, длина проростков — в 1,3 и 1,9 раза.

D.F. Piccini с соавт. (11) также показали, что внесение в почву наночастиц никеля размером менее 100 нм в концентрации 100 мг/кг оказывало токсическое влияние на рост корней *Lepidium sativum* L. В опытах на *Solanum lycopersicum* L. выявлено, что наночастицы никеля размером 28 и 62 нм накапливаются в основном в корнях, уменьшают надземную сухую массу и влияют на содержание Ca и K в листьях (9).

### 1. Морфометрические параметры проростков мягкой яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Новосибирская 29, выращенных на дисперсионной среде, которая содержала наночастицы никеля в различной концентрации ( $M \pm m$ ; лабораторный опыт)

Концентрация наночастиц, мг/л	Корень		Надземная часть	
	длина, см	сырая масса, мг	высота, см	сырая масса, мг
Контроль	7,79±0,22	98,6±4,2	16,83±0,39	221,5±8,5
0,01	9,73±0,23*	129,7±6,4*	17,35±0,21	255,1±7,3*
0,1	8,33±0,16	112,6±8,2	17,02±0,19	233,1±10,2
1	4,12±0,07*	52,8±5,1*	12,89±0,28*	171,8±9,3*
10	2,56±0,07*	36,0±7,2*	8,03±0,34*	121,6±10,3*

\* $p \leq 0,05$  по сравнению с контролем.

Ингибирование роста корня — одна из наиболее ранних ответных реакций на действие тяжелых металлов (26). Эта особенность широко используется для оценки степени их токсичности в различных концентрациях (27). Защитные механизмы и барьеры, функционирующие на уровне клеток и тканей корня, уменьшают попадание тяжелых металлов в побеги,

в результате чего корни накапливают их в значительных количествах, что сказывается на развитии и формировании корневой системы (28, 29).

Аккумулированные НЧ Ni<sup>0</sup> оказывали влияние не только на ростовые параметры, но и на физиолого-биохимические показатели листового аппарата проростков пшеницы. В частности, при культивировании проростков на дисперсионной среде, содержащей НЧ Ni<sup>0</sup>, количество хлорофиллов а и b при концентрации НЧ Ni<sup>0</sup> 0,01 мг/л незначительно увеличилось. С повышением концентрации наночастиц наблюдали снижение этого показателя. Статистически достоверно ( $p < 0,05$ ) содержание хлорофиллов уменьшалось только при концентрации НЧ Ni<sup>0</sup> 10 мг/л: — на 30 % относительно контроля (рис. 2). Подобные изменения были обнаружены нами ранее при воздействии на пигментный комплекс пшеницы наночастиц платины (30). Количество каротиноидов при дозах НЧ Ni<sup>0</sup> 0,1 и 1 мг/л снижалось на 19-20 %, при 10 мг/л — на 35 % (см. рис. 2).

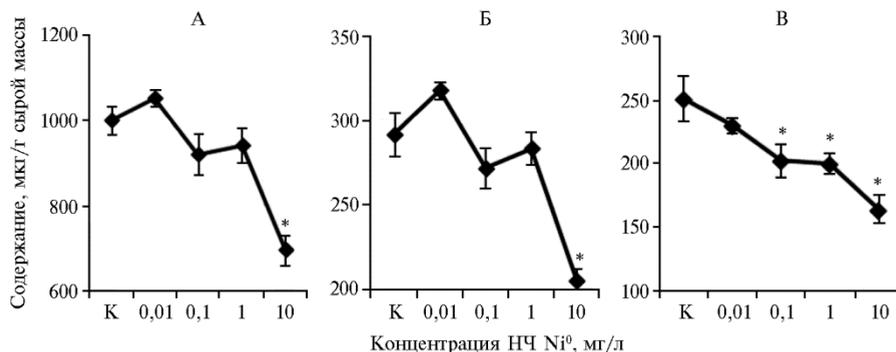


Рис. 2. Содержание хлорофиллов а (А) и б (Б), а также суммы каротиноидов (В) в листьях мягкой яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Новосибирская 29 в зависимости от концентрации наночастиц (НЧ) Ni<sup>0</sup> в дисперсионной среде (лабораторный опыт).

\* Различия с контролем статистически значимы при  $p \leq 0,05$ .

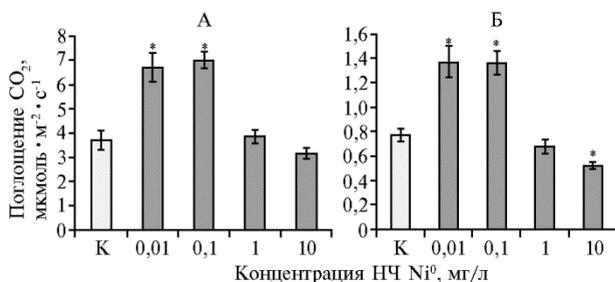


Рис. 3. Интенсивность фотосинтеза (А) и транспирации (Б) листьев у мягкой яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Новосибирская 29 в зависимости от концентрации наночастиц (НЧ) Ni<sup>0</sup> в дисперсионной среде (лабораторный опыт).

\* Различия с контролем статистически значимы при  $p \leq 0,05$ .

Показано, что содержание фотосинтетических пигментов уменьшается при действии большинства стрессовых факторов (19, 31). Например, обработка семян *T. vulgare* L. наночастицами никеля диаметром 57 нм и последующая 48-часовая инкубация с использованием их растворов в концентрациях 0,0125–1 М вызывали резкое уменьшение количества хлорофилла b в листьях и приводили к увеличению содержания малонового диальдегида в корневой системе растений. Это свидетельствует о развитии цитогенетических повреждений за счет окисления липидов клеточных мембран. Наблюдалась также дозовая зависимость (10).

Особенности накопления фотосинтетических пигментов под воздействием НЧ Ni<sup>0</sup> в целом были сходны с закономерностями роста проростков (см. табл. 1). Это, вероятно, обусловлено тесной взаимосвязью между фотосинтезом и ростовыми процессами, которые регулируются метаболическими и гормональными механизмами (32).

Исследование интегральных функциональных характеристик листового аппарата — фотосинтеза и транспирации также выявило дозозависимый эффект. Наночастицы никеля в низкой концентрации (0,01 и 0,1 мг/л) достоверно ( $p < 0,001$ ) повышали интенсивность фотосинтеза, в концентрации 1 мг/л не изменяли этот показатель, и только при 10 мг/л он снижался на 15 % относительно контроля (рис. 3, А). При измерении интенсивности транспирации обнаружили аналогичную зависимость (см. рис. 3, Б).

**2. Биохимические показатели у проростков мягкой яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Новосибирская 29, выращенных на дисперсионной среде, содержащей наночастицы никеля в разной концентрации ( $M \pm SEM$ ; лабораторный опыт)**

Концентрация наночастиц, мг/л	Сумма флавоноидов		Содержание пролина	
	мкг/г сухой массы	к контролю, %	мг/г сухой массы	к контролю, %
Контроль	28,11±0,11	100	0,77±0,12	100
0,01	17,24±0,13*	61	0,95±0,09*	123
0,1	7,03±0,01*	25	1,15±0,21*	149
1	21,22±0,01*	75	1,28±0,25*	166
10	10,17±0,03*	36	1,79±0,26*	232

\* Различия с контролем статистически значимы при  $p \leq 0,05$ .

Известно, что при неблагоприятных воздействиях стресс-протекторную функцию выполняют флавоноиды (33) и пролин (34, 35), которые способны связывать ионы металлов с переменной валентностью и тем самым ограничивать неферментативные свободнорадикальные процессы. В наших экспериментах сумма флавоноидов снижалась с повышением концентрации НЧ Ni<sup>0</sup>, однако четкой дозовой зависимости не наблюдалось (табл. 2). Данные литературы относительно изменения содержания флавоноидов при воздействии наночастиц на растения довольно противоречивы. Так, при выращивании *Raphanus sativus* L. в почве, обработанной наночастицами оксида цезия разной концентрации, отмечали значительный разброс данных в вариантах опыта, поэтому различия были недостоверны (36). Под влиянием наночастиц серебра у *Calendula officinalis* L. обнаружено снижение количества флавоноидов в разных органах (37). В работе С. Krishnaraj (38), наоборот, показан сдвиг в сторону вторичного метаболизма и увеличение содержания флавоноидов у растений *Vasopa monnieri* L. под влиянием наночастиц серебра.

В то же время воздействие наночастиц никеля обусловило повышение ( $p < 0,05$ ) количества пролина в листьях пшеницы относительно контроля, при этом наблюдалась дозовая зависимость от концентрации наночастиц (см. табл. 2), что согласуется с существующими представлениями о протекторной роли пролина при стрессе (34).

Таким образом, выявлены морфофизиологические особенности проростков пшеницы при их выращивании на водных дисперсных системах, содержащих наночастицы никеля ( $\Delta_{50} = 5$  нм). При этом для большинства изученных показателей (морфометрических параметров, содержания хлорофиллов, интенсивности фотосинтеза и транспирации) наблюдалась сходная зависимость: увеличение при малых и отчетливое снижение при более высоких концентрациях НЧ Ni<sup>0</sup>. Среди соединений, выполняющих защитную функцию, прямо пропорциональное увеличение содержания при возрастании концентрации НЧ Ni<sup>0</sup> наблюдалось только по пролину, в то время как для каротиноидов и флавоноидов было показано уменьшение количества. Это позволяет предположить, что в зависимости от концентрации НЧ Ni<sup>0</sup> оказывают избирательное действие на различные звенья метаболизма. Полученные результаты могут дополнить данные об обосновании допустимых уровней загрязнения наночастицами металлов растительных организмов и агроценозов, а также использоваться

для разработки практических рекомендаций по диагностированию негативного воздействия НЧ Ni<sup>0</sup> на растения.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Viswanath B., Kim S. Influence of nanotoxicity on human health and environment: The alternative strategies. In: *Reviews of environmental contamination and toxicology*. Vol. 242 /P. de Voogt (ed.). Springer, Cham, 2016 (doi: 10.1007/398\_2016\_12).
2. Chichiricò G., Poma A. Penetration and toxicity of nanomaterials in higher plants. *Nanomaterials*, 2015, 5(2): 851-873 (doi: 10.3390/nano5020851).
3. Jiang J., Oberdörster G., Elder A., Gelein R., Mercer P., Biswas P. Does nanoparticle activity depend upon size and crystal phase? *Nanotoxicology*, 2008, 2(1): 33-42 (doi: 10.1080/17435390701882478).
4. Altavilla C., Ciliberto E. Inorganic nanoparticles: synthesis, applications and perspectives — an overview. In: *Inorganic nanoparticles: synthesis, applications and perspectives* /C. Altavilla, E. Ciliberto (eds). CRC Press, Boca Raton, 2011: 1-17.
5. Райкова А.П., Паничкин Л.А., Райкова Н.Н. Исследование влияния ультрадисперсных порошков металлов, полученных различными способами, на рост и развитие растений. *Мат. Межд. науч.-прак. конф. «Нанотехнологии и информационные технологии — технологии XXI века»*. М., 2006: 108-111.
6. Lin D., Xing B. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environ. Pollut.*, 2007, 150(2): 243-250 (doi: 10.1016/j.envpol.2007.01.016).
7. Aslani F., Bagheri S., Julkapli N.M., Juraimi A.S., Hashemi F.S.G., Baghdadi A. Effects of engineered nanomaterials on plants growth: an overview. *The Scientific World Journal*, 2014, 2014: article ID 641759 (doi: 10.1155/2014/641759).
8. Josko I., Oleszczuk P. Phytotoxicity of nanoparticles — problems with bioassay choosing and sample preparation. *Environ. Sci. Pollut. R.*, 2014, 21: 10215-10224 (doi: 10.1007/s11356-014-2865-0).
9. Antisari L.V., Carbona S., Gatti A., Vionello G., Nannipieri P. Uptake and translocation of metals and nutrients in tomato grown in soil polluted with metal oxide (CeO<sub>2</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, SnO<sub>2</sub>, TiO<sub>2</sub>) or metallic (Ag, Co, Ni) engineered nanoparticles. *Environ. Sci. Pollut. R.*, 2015, 22(3): 1841-1853 (doi: 10.1007/s11356-014-3509-0).
10. Короткова А.М., Лебедев С.В., Каюмов Ф.Г., Сизова Е.А. Морфофизиологические изменения у пшеницы (*Triticum vulgare* L.) под влиянием наночастиц металлов (Fe, Cu, Ni) и их оксидов (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, CuO, NiO). *Сельскохозяйственная биология*, 2017, 52(1): 172-182 (doi: 10.15389/agrobiology.2017.1.172rus).
11. Piccini D.F., Malavolta E. Effect of nickel on two common bean cultivars. *J. Plant Nutr.*, 1992, 15: 2343-2350 (doi: 10.1080/01904169209364478).
12. Shevyakova N.I., Il'ina E.N., Stetsenko L.A., Kyznetsov V.I. Nickel accumulation in rape shoots (*Brassica napus* L.) increased by putrescine. *Int. J. Phytoremediat.*, 2011, 13: 345-356.
13. Фельдблюм В. «Нано» на стыке наук: нанообъекты, нанотехнологии, нанобудущее. Ярославль, 2013. Режим доступа: <http://narfu.ru/university/library/books/0706.pdf>. Дата обращения 12.06.2017.
14. Rui H., Xing R., Xu Z., Hou Y., Goo S., Sun S. Synthesis, functionalization, and biomedical applications of multifunctional magnetic nanoparticles. *Adv. Mater.*, 2010, 22(25): 2729-2742 (doi: 10.1002/adma.201000260).
15. Tee B.C.-K., Wang C., Allen R., Bao Z. An electrically and mechanically self-healing composite with pressure- and flexion-sensitive properties for electronic skin applications. *Nat. Nanotechnol.*, 2012, 7: 825-832 (doi: 10.1038/nnano.2012.192).
16. Aleshin A.N., Shcherbakov I.P., Fedichkin F.S. Photosensitive field-effect transistor based on a composite film of polyvinylcarbazole with nickel nanoparticles. *Physics of the Solid State*, 2012, 54: 1693-1698 (doi: 10.1134/S1063783412080033).
17. Osipova I.V., Vnukova N.G., Glushchenko G.A., Krylov A.S., Tomashevich E.V., Zharkov S.M., Churilov G.N. Nickel-containing carbon nanotubes and nanoparticles prepared in a high-frequency arc plasma. *Physics of the Solid State*, 2009, 51: 1972-1975 (doi: 10.1134/S1063783409090339).
18. Моргалев Ю.Н., Хоч Н.С., Моргалева Т.Г. Анализ безопасности нанопродукции для здоровья человека с позиций экотоксикологии: проблемы и перспективы. *Нанотехника*, 2010, 4: 74-79.
19. Серегин И.В., Кожевникова А.Д. Физиологическая роль никеля и его токсическое действие на высшие растения. *Физиология растений*, 2006, 53: 285-308.
20. Демченко Н.П., Калимова И.Б. Динамика роста, пролиферация и дифференциация клеток корней пшеницы под воздействием никеля в высокой концентрации. *Физиология растений*, 2008, 55: 874-885.
21. Светличный В.А., Изаак Т.И., Бабкина О.В., Шабалина А.В. Синтез наночастиц металлов

- при лазерной абляции твердых тел в жидкостях наносекундным излучением 2-й гармоники ND-YAG лазера. *Известия высших учебных заведений. Физика*, 2009, 12(2): 110-115.
22. Методика определения микроэлементов в диагностирующих биосубстратах атомной спектроскопией с индуктивно связанной аргоновой плазмой. *Методические рекомендации*. М., 2003.
  23. *Биохимические методы в физиологии растений* /Под ред. О.А. Павлиновой. М., 1971.
  24. *Государственная фармакопея XI. Вып. 2*. М., 1990.
  25. Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil*, 1973, 39: 205-207.
  26. Титов А.Ф., Таланова В.В., Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф. *Устойчивость растений к тяжёлым металлам*. Петрозаводск, 2007.
  27. Wilkins D.A. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth. *New Phytol.*, 1978, 86: 623-633.
  28. Wagner G.J. Accumulation of cadmium in crop plants and consequences to human health. *Adv. Agron.*, 1993, 51: 173-212.
  29. Grant C.A., Buckley W.T., Bailey L.D., Selles F. Cadmium accumulation in crops. *Can. J. Plant Sci.*, 1998, 78: 1-17.
  30. Астафурова Т.П., Моргалев Ю.Н., Боровикова Г.В., Зотикова А.П., Верхотурова Г.С., Зайцева Т.А., Постовалова В.М., Моргалева Т.А. Особенности концентрационной зависимости развития проростков пшеницы в водных дисперсных системах наночастиц платины. *Физиология растений и генетика*, 2013, 45(6): 544-549.
  31. Жиров В.К., Хаитбаев А.Х., Говорова А.Ф., Гонтарь О.Б. Взаимодействия структур различных уровней организации и адаптационные стратегии растений. *Вестник МГТУ*, 2006, 5: 725-728.
  32. Мокроносов А.Т. Интеграция функций роста и фотосинтеза. *Физиология растений*, 1983, 30(5): 868-880.
  33. Макаренко О.А., Левицкий А.П. Физиологические функции флавоноидов в растении. *Физиология и биохимия культурных растений*, 2013, 45(2): 100-112.
  34. Кузнецов В.В., Шевякова Н.И. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция. *Физиология растений*, 1999, 46(2): 321-336.
  35. Liang X., Zhang L., Natarajan S.K., Becker D.F. Proline mechanisms of stress survival. *Antioxid. Redox Signal*, 2013, 19(9): 998-1011 (doi: 10.1089/ars.2012.5074).
  36. Corral-Diaz B., Peralta-Videa J.R., Alvarez-Parrilla E., Rodrigo-García J., Morales M.I., Osuna-Avila P., Niu G., Hernandez-Viezcas J.A., Gardea-Torresdey J.L. Cerium oxide nanoparticles alter the antioxidant capacity but do not impact tuber ionome in *Raphanus sativus* (L). *Plant Physiol. Bioch.*, 2014, 84: 277-285 (doi: 10.1016/j.plaphy.2014.09.018).
  37. Ghanati F., Bakhtiarian S. Effect of methyl jasmonate and silver nanoparticles on production of secondary metabolites by *Calendula officinalis* L. (*Asteraceae*). *Trop. J. Pharm. Res.*, 2014, 13(11): 1783-1789 (doi: 10.4314/tjpr.v13i11.2).
  38. Krishnaraj C., Jagan E.G., Ramachandran R., Abirami S.M., Mohan N., Kalaichelvan P.T. Effect of biologically synthesized silver nanoparticles on *Vacopa monnieri* (Linn.) Wettst. plant growth metabolism. *Process Biochem.*, 2012, 47(4): 651-658 (doi: 10.1016/j.procbio.2012.01.006).

ФГАОУ ВО Национальный исследовательский  
Томский государственный университет,

634050 Россия, г. Томск, просп. Ленина, 36,  
e-mail: baa888@mail.ru ✉, zotik.05@mail.ru, garden-tsu@mail.ru,  
suchkova.s.a@mail.ru, yu.morgalev@gmail.com

Поступила в редакцию  
25 сентября 2017 года

*Sel'skokhozyaystvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2018, V. 53, № 3, pp. 578-586

## MORPHOPHYSIOLOGICAL FEATURES OF WHEAT (*Triticum aestivum* L.) SEEDLINGS UPON EXPOSURE TO NICKEL NANOPARTICLES

A.P. Zotikova, T.P. Astafurova, A.A. Burenina, S.A. Suchkova, Yu.N. Morgalev

National Research Tomsk State University, 36, prosp. Lenina, Tomsk, 634050 Russia, e-mail baa888@mail.ru (✉ corresponding author), zotik.05@mail.ru, garden-tsu@mail.ru, suchkova.s.a@mail.ru, yu.morgalev@gmail.com  
ORCID:

Zotikova A.P. orcid.org/0000-0001-6706-3821  
Burenina A.A. orcid.org/0000-0002-1225-5030  
Morgalev Yu.N. orcid.org/0000-0002-5646-8943

Astafurova T.P. orcid.org/0000-0003-0668-774X  
Suchkova S.A. orcid.org/0000-0001-7792-0372

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Supported within the framework of the state project № 37.7810.2017/8.9 of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation

Received September 25, 2017

doi: 10.15389/agrobiology.2018.3.578eng

## Abstract

The intensive development of nanotechnologies determines the need for the investigation on the patterns of biological impact of technogenic nanomaterials. The analysis of the researches reveals a wide range of toxicity manifestations when nanocompounds affect plants, which depends on the physical properties of the nanoparticles (dimensions, shape, catalytic activity, concentration). The relevance of the studies on the concentration effects of nanoparticles is due to the insufficient knowledge of their interaction with the plant cell, and, consequently, the need to determine the dose-effect relationship for each class of nanoparticles and various bio-objects. This paper presents the results of a comprehensive study of the effect of nickel nanoparticles (NP Ni<sup>0</sup>, Δ50 = 5 nm in size) when used at different concentrations on growth, content of pigments, flavonoids and proline, photosynthesis and transpiration intensity of ten-day-aged wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). The calibrated seeds were pre-germinated for 2-3 days, up to the appearance of rootlets, in Petri dishes on filter paper impregnated with aquatic disperse systems of NP Ni<sup>0</sup> in concentrations of 0.01, 0.1, 1 and 10 mg/l. In the control, the seeds were germinated on distilled water. The germinated seeds were put into 500-millilitre vegetative pots for further growing in the aquatic dispersed NP Ni<sup>0</sup> systems of the above mentioned concentrations in the climate box until the 10-day age. Morphometric parameters assessed were the root length, the seedling height, the weight of the root and above-ground parts of the plants. To determine the content of photosynthetic pigments, flavonoids and proline, an average sample was collected from the leaves of 10 plants. The morphometric parameters under study depended on the doses of nickel nanoparticles in a disperse medium. NP Ni<sup>0</sup> at low concentrations (0.01 and 0.1 mg/l) did not change or stimulated growth, whereas at larger doses (1 and 10 mg/l) they suppressed the growth of roots and aboveground part of seedlings considerably. The root length decreased 2 times at 1 mg/l NP Ni<sup>0</sup> and 3 times at 10 mg/l NP Ni<sup>0</sup>, the wet weight was 1.9 and 2.7 times lower, respectively, and the height declined 1.3 and 1.9 times. The content of chlorophyll a and b at 0.01 mg/l NP Ni<sup>0</sup> slightly increased and then decreased as the nanoparticle concentration increased, but no clear dose dependence was revealed. The amount of carotenoids gradually decreased with increasing NP Ni<sup>0</sup> concentration. The study of photosynthesis and transpiration showed a dose correlation of these indicators. NP Ni<sup>0</sup> at low concentrations (0.01 and 0.1 mg/l) increased the intensity of photosynthesis and transpiration significantly, at the concentration of 1 mg/l did not affect these processes, and at 10 mg/l concentration insignificantly suppressed these parameters. The amount of flavonoids decreased with increasing NP Ni<sup>0</sup> concentration; however, dose dependence was not observed. The lowest level of flavonoids, with a 75 % decrease, was at 0.1 mg/l NP Ni<sup>0</sup>, and at 10 mg/l NP Ni<sup>0</sup> the amount of flavonoids decreased by 64 % as compared to the control. At the same time, the impact of nickel nanoparticles on wheat caused a rise in the level of proline from 22 to 130 %, with clear dose dependence on the nanoparticle concentration. Mass spectrometric studies revealed a significant accumulation of nanoparticles in plant organs, especially in the root system. In the roots of the experimental plants the nickel concentration was 50.89±1.67 μg/g per dry weight, in the control plants this reached 3.8±0.15 μg/g. In the above-ground parts of plants the nickel concentration was an order of magnitude lower, 14.20±2.38 μg/g per dry weight for the test plants and 0.87±0.025 μg/g per dry weight for the control plants. Thus, our findings revealed the morphophysiological peculiarities of wheat seedlings grown on water dispersed systems of NP Ni<sup>0</sup> of 5 nm in size and showed a dependence of the majority of the studied parameters on NP Ni<sup>0</sup> concentration.

Keywords: *Triticum aestivum* L., nickel nanoparticles, accumulation, photosynthetic pigments, photosynthesis, transpiration, flavonoids, proline.

Адрес сайта журнала в Интернете — [www.agrobiology.ru](http://www.agrobiology.ru)  
Статьи, события, информация — 10500 просмотров за месяц

Российская академия сельскохозяйственных наук  
Научно-теоретический журнал

СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ  
**БИОЛОГИЯ**  
основан в 1966 году

НОВОСТИ

РУС ENG

ПОИСК

О ЖУРНАЛЕ  
РЕДКОМЕТ  
ПРАВИЛА

АНОНС  
АРХИВ

КНИГИ  
СОБЫТИЯ

УСЛУГИ  
РЕКВИЗИТЫ  
ПОДПИСКА

ПАРТНЕРЫ  
АВТОРЫ

КОНТАКТЫ

КАРТА САЙТА

Включен в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий в Российской Федерации, в которых должны быть опубликованы основные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук (Перечень ВАК) (по агрономии и лесному хозяйству, по зоотехническому и ветеринарному специальностям, а с 2007 года — также по биологическим наукам).

- В разделе "Архив" нашего сайта в открытом доступе представлены полнотекстовые версии статей с 2007 года.
- С 2010 года на нашем сайте размещаются англоязычные полнотекстовые версии основной части экспериментальных статей.

АРЗИ

РУКОНТ  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦИФРОВОЙ РЕСУРС

Scopus  
ULRICH'S  
PERIODICALS DIRECTORY