



УДК 574.24

А.А. Асанова, В.И. Полонский

**ИЗМЕНЕНИЕ РОСТОВЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОВСА ПОСЕВНОГО AVENA SATIVA
ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА И КРЕМНИЯ**

A.A. Asanova, V.I. Polonsky

**THE CHANGE OF GROWTH INDICATORS OF THE OATS AVENA SATIVA UNDER
THE INFLUENCE OF TITANIUM DIOXIDE AND SILICON DIOXIDE NANOPARTICLES**

Асанова А.А. – заведующая Научно-исследовательской лабораторией сельскохозяйственной и экологической биотехнологии Института агроэкологических технологий Красноярского государственного аграрного университета, г. Красноярск.

E-mail: nastasia.asanova@gmail.com

Полонский В.И. – д-р биол. наук, проф. каф. ландшафтной архитектуры, ботаники, агроэкологии Красноярского государственного аграрного университета, г. Красноярск.

E-mail: vadim.polonskiy@mail.ru

Asanova A.A. – Head, Research Laboratory of Agricultural and Ecological Biotechnology, Institute of Agroecological Technologies, Krasnoyarsk State Agrarian University, Krasnoyarsk.

E-mail: nastasia.asanova@gmail.com

Polonsky V.I. – Dr. Biol. Sci., Prof., Chair of Landscape Architecture, Botany, Agroecology, Krasnoyarsk State Agrarian University, Krasnoyarsk.

E-mail: vadim.polonskiy@mail.ru

Цель исследования – оценка влияния наночастиц диоксида титана и диоксида кремния на ростовые показатели сельскохозяйственной культуры овса посевного. Материалами исследования послужили наночастицы (НЧ), наиболее часто используемые при производстве потребительских товаров: диоксида титана (TiO_2); диоксида кремния (SiO_2) производства «Plasmotherm» (Россия). Фитотоксичность НЧ определялась на семенах и проростках высшего растения *Avena sativa*, согласно методической рекомендации (МР 2.1.7.2297-07). В эксперимент отбирались неповрежденные семена овса, исходная всхожесть которых составляла не менее 80 %. Оценку воздействия наночастиц оценивали по энергии прорастания, массе корней и проростков, длине максимального корешка растений, культивируемых в чашках Петри 3–7 сут. Было определе-

но, что наиболее чувствительным параметром к НЧ диоксида титана является длина корешка, значение EC_{50} составило 90 мг/л, по массе корней и побегов удалось определить только значение EC_{20} – 11 и 12 мг/л соответственно. На энергию прорастания исследуемые наночастицы воздействия не оказали до 100 мг/л. Изучение влияния НЧ диоксида кремния размером 100–120 нм позволило выявить, что снижение параметров энергии прорастания, массы побегов и корней, длины корешка на 20 % установлено при концентрации НЧ выше 57, 39, 20 и 92 мг/л соответственно. При исследовании НЧ диоксида кремния размером 10–15 нм удалось зафиксировать только снижение массы корней на 20 % при концентрации около 14 мг/л. Таким образом, негативный эффект НЧ диоксида титана и диоксида кремния, заключающийся в снижении ростовых

процессов у сельскохозяйственной культуры овса посевного, проявляется при достаточно высоких, нехарактерных для почв агроценозов, концентрациях.

Ключевые слова: наночастицы диоксида титана, наночастицы диоксида кремния, биотестирование, сельскохозяйственные растения, овес посевной.

The research objective was the assessment of the influence of nanoparticles of titanium dioxide and silicon dioxide on growth indicators of the crop of oats. As materials of the research nanoparticles (NPs) which are most often used by production of consumer goods served: titanium dioxide (TiO₂); silicon dioxide (SiO₂) of production "Plasmotherm" (Russia). NPs phytotoxicity was defined on seeds and sprouts of the higher plant of Avena sativa, according to methodical recommendation (MP 2.1.7.2297-07). In the experiment intact seeds of oats which initial viability made not less than 80 % were selected. The assessment of the influence of nanoparticles was estimated on germination energy, mass of roots and sprouts, the length of the maximum back of the plants cultivated in Petri's cups for 3–7 days. It was defined that the most sensitive parameter to NPs of titanium dioxide was back length, EC₅₀ value made 90 mg/l, it was succeeded to determine by the mass of roots and shoots only EC₂₀ value – 11 and 12 mg/l, respectively. The studied nanoparticles of influence did not render on the energy of germination to 100 mg/l. Studying of influence of NPs of silicon dioxide of 100–120 nanometers in size allowed to reveal that the decrease in parameters of energy of germination, mass of shoots and roots, back lengths for 20 % was established at the concentration of NPs over 57, 39, 20 and 92 mg/l respectively. At the research NPs of silicon dioxide of 10–15 nanometers in size it was succeeded to record only the decrease in mass of roots by 20 % at concentration about 14 mg/l. Thus, negative effect of NPs of titanium dioxide and silicon dioxide consisting in decrease in growth processes at a crop of oats sowing, was shown at rather high, uncharacteristic for soils of agrocenosis concentration.

Keywords: titanium dioxide nanoparticles, silicon dioxide nanoparticles, biotesting, agricultural plants, oat.

Введение. Наночастицы (НЧ), благодаря их уникальным свойствам, все чаще находят применение при производстве коммерческих товаров. Наночастицы диоксида титана входят в состав огнеупорных материалов, оптических элементов, солнцезащитных кремов, красок, пластмасс, бумаги, применяются в водоочистке, пищевой промышленности и др. Наночастицы диоксида кремния имеют широкое применение в медицинском и биотехнологическом направлении, микроэлектронике и оптоэлектронике, а также в пищевой промышленности [1].

Попадая в окружающую среду на всех этапах жизни от изготовления до утилизации, НЧ создают особый беспрецедентный класс промышленных загрязнений, негативно воздействующих на все живые организмы [2, 3], в зоне риска которых – сельскохозяйственные культуры агроэкосистем. Вследствие старения материалов, содержащих НЧ, в результате сжигания отходов происходят техногенные выбросы НЧ в атмосферу. Они оседают на надземной части сельскохозяйственных растений, а также становятся контаминантами поверхностного слоя почвы. В составе потребительских продуктов, лабораторной и промышленной деятельности, связанной с нанопродукцией, НЧ попадают в канализацию, где в осадке сточных вод наночастицы диоксида титана и диоксида кремния могут достигать концентрации 6 и 100 г/кг соответственно. Далее они могут попадать в почву в качестве биозолидов [4, 5]. По оценке А. Келлер и А. Лазаревой (2014), наночастицы диоксида титана при концентрации 5–15 мкг/л преодолевают очистные сооружения, а также частично вымываются из атмосферы посредством дождей и снега, и, попадая в природные водоемы с помощью ирригационных систем, достигают сельскохозяйственных полей. Кроме того, НЧ могут намеренно вноситься в почву сельскохозяйственных угодий в составе наноагрохимических веществ [6]. Так, согласно оценке, проведенной в 2010 г. [4], на всю почву планеты приходится около 80 400 метрических тонн наноразмерных частиц в год, половину из которых занимают наночастицы диоксида титана, и почти 15 % приходится на наночастицы диоксида кремния.

Литературными данными с использованием различных методов подтверждается, что НЧ

могут аккумулироваться в теле растений [7–9]. При этом было обнаружено, что поступление и транслокацию НЧ способны осуществлять как корни, так и листья растений [8]. Установлено, что НЧ могут взаимодействовать с клеточными органеллами и нарушать обменные процессы, вызывать окислительный стресс и генетические модификации [10]. Попадая в почву, НЧ, по-видимому, способны оказывать прямое влияние на выращиваемые в ней сельскохозяйственные культуры. Проблема влияния НЧ на высшие растения стоит достаточно остро в силу их способности, во-первых, вовлекаться в метаболизм и передвигаться по трофическим цепям в составе растительной пищи для человека и корма для животных; во-вторых, снижать функциональные показатели растений.

Данных о воздействии НЧ на сельскохозяйственные культуры недостаточно, в нашей предыдущей работе мы оценили негативный эффект наночастиц серебра на овес посевной [11].

Цель исследования: оценка влияния наночастиц диоксида титана и диоксида кремния на ростовые показатели овса посевного.

Материалы и методы исследования. В качестве материалов исследования были выбраны НЧ, наиболее часто используемые при производстве потребительских товаров. Наночастицы диоксида титана (TiO_2) производства «Plasmotherm» (Россия), представленные порошкообразной смесью двух форм – анатаза и рутила шаровидной формы размером 100–190 нм. Наночастицы диоксида кремния (SiO_2) производства «Plasmotherm» (Россия), которые были представлены двумя видами НЧ, различающимися по размеру – 10–15 и 100–190 нм. В последних препаратах НЧ имеют шаровидную форму и находятся в порошкообразном состоянии.

Фитотоксичность НЧ определялась на семенах и проростках высшего растения *Avena sativa*, согласно методической рекомендации (МР 2.1.7.2297-07). В эксперимент отбирались неповрежденные семена овса, исходная всхожесть которых составляла не менее 80 %. Для проведения эксперимента в чашках Петри раскладывали по 25 сухих семян. Далее в чашку

вносили суспензию исследуемых НЧ или отстоянную водопроводную воду в качестве контроля в объеме 5 мл. Закрытые чашки термостатировались при температуре 20–23 °С в течение 3 сут. После подсчета числа проросших семян все образцы возвращались в термостат, так что общее время инкубации составило 7 сут. Каждый из вариантов эксперимента одновременно проводился в 3 параллелях (повторностях). По истечении срока экспозиции измеряли массу корней, массу проростков и длину максимально развитого корешка в контрольных и опытных образцах. Каждая серия экспериментов выполнялась три раза. Изменение исследуемых ростовых показателей, а именно энергии прорастания семян овса, массы корней и проростков, длины корешка, в опытных вариантах по отношению к контролю рассчитывали по формуле:

$$I = \cdot [(\overline{X}_K - \overline{X}_0) / \overline{X}_K] \times 100 \%,$$

где \overline{X}_K и \overline{X}_0 – средние значения исследуемых показателей в контроле и опыте соответственно.

В качестве критерия токсичности использовались показатели EC_{20} и EC_{50} – концентрации НЧ, при которых исследуемые показатели снижались по отношению к контролю на 20 и 50 % соответственно.

Результаты исследования и их обсуждение. В результате выполненного исследования было найдено, что присутствие НЧ диоксида титана оказывает слабое воздействие на массу корней и массу побегов овса. Значения EC_{50} в эксперименте достичь не удалось, однако 20 % снижение этих показателей регистрировалось при концентрации, превышающей 10 мг/л (EC_{20}). Наиболее чувствительным параметром оказалась длина корешка, 50 %-е уменьшение которой было установлено при относительно высокой концентрации НЧ, равной 90 мг/л. Энергия прорастания семян овса в диапазоне концентраций наночастиц диоксида титана до 100 мг/л относительно контрольных образцов уменьшалась в очень небольшой степени (рис. 1).

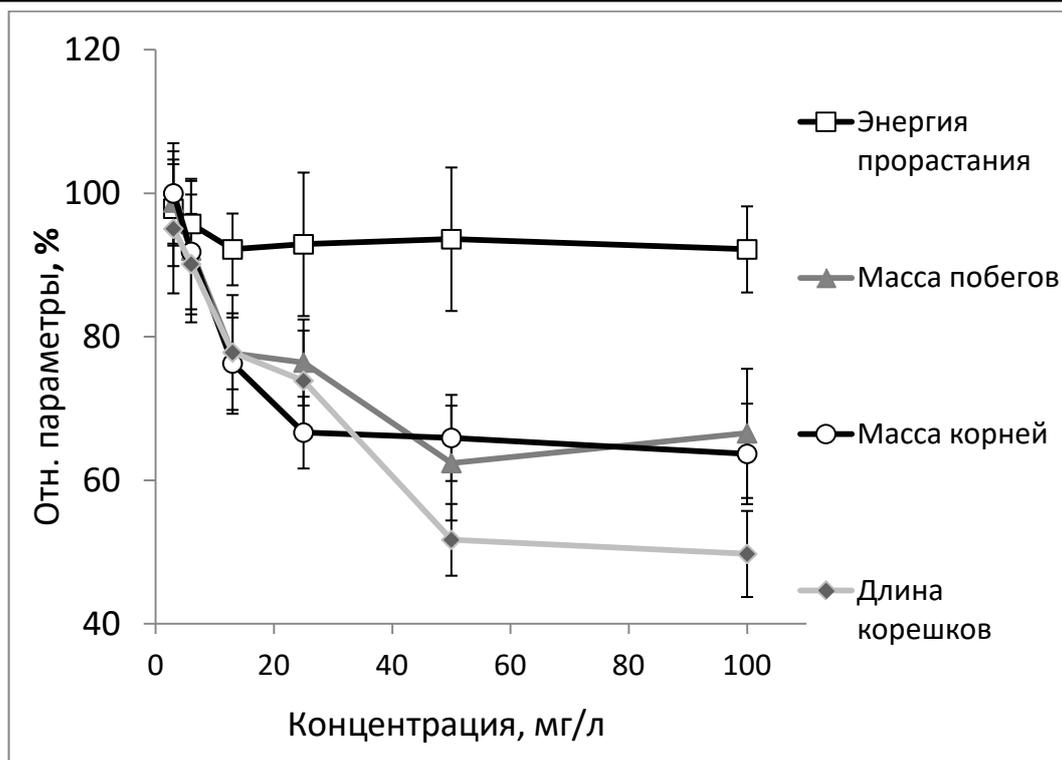


Рис. 1. Зависимость энергии прорастания семян овса посевного на 3-и сут, массы побегов и корней, длины корешков на 7-е сут от концентрации наноразмерного диоксида титана (по отношению к контролю)

Изучение влияния наночастиц диоксида кремния размером 100–120 нм на семена и проростки овса позволило выявить, что самым чувствительным параметром является масса корней. Уменьшение этого показателя на 20 % было отмечено при концентрации НЧ, превышающей 20 мг/л, однако показатель EC_{50} в эксперименте определить не удалось (рис. 2). Снижение параметров массы побегов, энергии прорастания и длины корешка на 20 % установлено при концентрации крупных НЧ свыше 39, 57 и 100 мг/л соответственно. При этом показатель EC_{50} определить не удалось в диапазоне концентраций до 100 мг/л.

Наночастицы диоксида кремния размером 10–15 нм проявили более слабое влияние на семена и проростки овса. Наиболее чувствительным параметром также выступала масса корней, снижение величины которой на 20 % зафиксировано при концентрации НЧ около 14 мг/л. Реакция других ростовых показателей овса в ответ на введение в среду НЧ меньшего размера оказалась выраженной слабее, чем на присутствие в ней крупных НЧ.

Энергия прорастания семян в присутствии мелких НЧ уменьшалась относительно контрольного образца незначительно. В ответ на введение наночастиц диоксида кремния размером 10–15 нм энергия прорастания, длина корешка и масса побегов в диапазоне концентраций до 100 мг/л не изменялись.

В присутствии наночастиц диоксида титана был зарегистрирован самый сильный негативный эффект, который выражался в 50 %-м уменьшении длины корешка овса (табл.). Для массы корней и побегов удалось определить только показатель EC_{20} , на энергию прорастания семян эффекта обнаружено не было при концентрации НЧ до 100 мг/л.

Согласно полученным результатам, на диоксиде кремния эффект НЧ зависел не только от химической природы вещества, но и от размера частиц. Так, наночастицы диоксида кремния размером 100–120 нм оказали влияние на все исследуемые тест-функции, а такие же частицы размером 10–15 нм воздействовали только на массу корней. Вследствие слабого влияния наночастиц диоксида кремния обоих размеров показателей EC_{50} достичь не удалось.

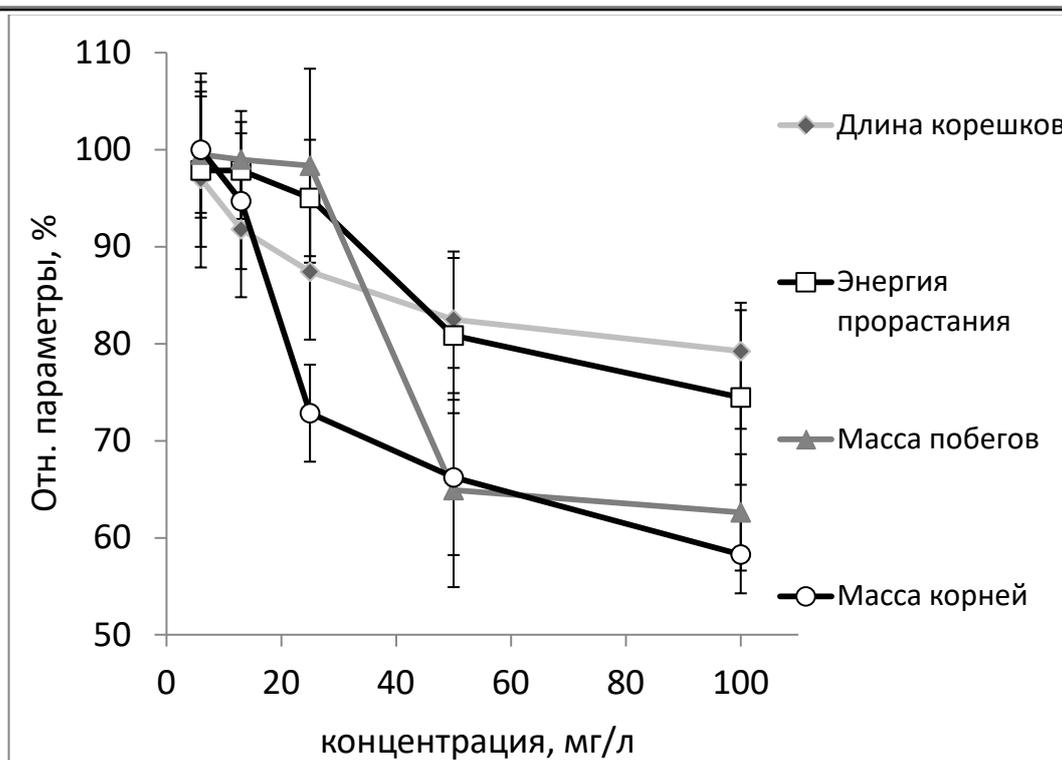


Рис. 2. Зависимость энергии прорастания семян овса посевного на 3-и сут, массы побегов и корней, длины корешков на 7-е сут от концентрации наночастиц диоксида кремния размером 100–120 нм (по отношению к контролю)

Показатели EC₅₀ и EC₂₀ исследуемых наночастиц по отношению к ростовым функциям овса посевного, мг/л

Тест-функция		Энергия прорастания		Масса побегов		Масса корней		Длина корешка	
НЧ	Размер	EC ₅₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₂₀	EC ₅₀	EC ₂₀
TiO ₂	100–190 нм	-	-	-	12	-	11	90	12
SiO ₂	100–120 нм	-	57	-	39	-	20	-	92
	10–15 нм	-	-	-	-	-	14	-	-

Так как диаметр пор клеточной стенки, специфичной для растений, находится в диапазоне от 5 до 20 нм, то исследуемые мелкие частицы диоксида кремния могли диффундировать сквозь нее и оказывать эффекты только в более длительной временной экспозиции. Как известно, преодоление клеточной мембраны возможно посредством образования комплексов с транспортными белками аквапоринами [12]. НЧ могли взаимодействовать с мембранными белками и, активируя сигнальные пути, приводить к ингибированию пролиферации клеток, как было показано в исследовании других авторов [13].

В то же время НЧ крупного размера могли проникнуть внутрь посредством гидатод, стигм и

устиц или нарушив целостность клеточной стенки и мембраны [14]. Так, в нашем эксперименте с крупными частицами диоксида кремния было продемонстрировано большее угнетение ростовых процессов овса посевного по сравнению с таковым в присутствии мелких НЧ. Кроме того, для крупных частиц диоксида титана на этом объекте также был показан токсический эффект. Механическое повреждение клеточной стенки и мембраны могло являться причиной изменения клеточной проницаемости, что имеет решающее значение для клеточного функционирования [15].

Наночастицы диоксида титана могли разрушать микрофиламенты цитоскелета, нарушая

работу плазмодесма, как было показано в исследовании [16]. Кроме того, они могли вызывать задержку или останавливать клеточный цикл в контрольной точке G0/G1, что в конечном итоге, вероятно, приводило к снижению скорости митоза, как было продемонстрировано в других работах [15, 17].

Заключение. Показано, что негативный эффект наночастиц диоксида титана и наночастиц диоксида кремния, заключающийся в снижении ростовых процессов у сельскохозяйственной культуры овса посевного, проявляется при достаточно высоких, нехарактерных для почв агроценозов, концентрациях. Однако в свете стремительного увеличения концентрации наночастиц в окружающей среде полученные данные свидетельствуют о необходимости разработки актуальных биотестов для токсикологического исследования наночастиц в почвах агроценозов и разработки приемов их ремедиации от наноразмерных поллютантов.

Литература

1. Juganson K., Ivask A., Blinova I., Mortimer M., Kahru A. NanoE-Tox: New and in-depth database concerning ecotoxicity of nanomaterials // *Beilstein journal of nanotechnology*. – 2015. – V. 6. – P. 1788.
2. Асанова А.А., Полонский В.И. Некоторые токсикологические характеристики наночастиц диоксида кремния // *Проблемы агрохимии и экологии*. – 2019. – № 2. – С. 40.
3. Полонский В.И., Асанова А.А. Оценка воздействия наночастиц диоксида титана на живые организмы // *Теоретическая и прикладная экология*. – 2018. – № 3. – С. 5–11.
4. Keller A., Lazareva A. Predicted releases of engineered nanomaterials: from global to regional to local // *Environmental Science & Technology Letters*. – 2014. – V. 1. – № 1. – P. 65–70.
5. Sun T.Y., Bornhöft N.A., Hungerbühler K., Nowack B. Dynamic probabilistic modeling of environmental emissions of engineered nanomaterials // *Environmental science & technology*. – 2016. – V. 50, № 9. – P. 4701–4711.
6. Thakur S., Kumar R. Bio-Nanotechnology and its Role in Agriculture and Food Industry // *J Mol Genet Med*. – 2018. – V. 12. – № 1. – P. 324.
7. Kurepa J., Paunesku T., Vogt S., Arora H., Rabatic B.M., Lu J., Wanzer M., Woloschak G., Smalle J. Uptake and distribution of ultrasmall anatase TiO₂ Alizarin red S nanoconjugates in *Arabidopsis thaliana* // *Nano letters*. – 2010. – V. 10, № 7. – P. 2296–2302.
8. Ma Y., He X., Zhang P., Zhang Z., Guo Z., Tai R., Xu Z., Zhang L., Ding Y., Zhao Y., Chai Z. Phytotoxicity and biotransformation of La₂O₃ nanoparticles in a terrestrial plant cucumber (*Cucumis sativus*) // *Nanotoxicology*. – 2011. – V. 5, № 4. – P. 743–753.
9. Zhu H., Han J., Xiao J., Jin Y. Uptake, translocation, and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants // *Journal of Environmental monitoring*. – 2008. – V. 10. – № 6. – P. 713–717.
10. Rafique R., Zahra Z., Virk N., Shahid M., Pinelli E., Park T., Arshad M. Dose-dependent physiological responses of *Triticum aestivum* L. to soil applied TiO₂ nanoparticles: Alterations in chlorophyll content, H₂O₂ production, and genotoxicity // *Agriculture, Ecosystems & Environment*. – 2018. – V. 255. – P. 95–101.
11. Асанова А.А., Полонский В.И. Воздействие наночастиц серебра на фотосинтезирующие организмы // *Достижения науки и техники АПК*. – 2017. – № 8. – С. 12–15.
12. Yadav T., Mungray A.A., Mungray A.K. Fabricated nanoparticles: current status and potential phytotoxic threats // *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology volume*. – Springer, Cham. – 2014. – P. 83–110.
13. Gopinath P., Gogoi S., Sanpui P., Paul A., Chattopadhyay A., Ghosh S. Signaling gene cascade in silver nanoparticle induced apoptosis // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2010. – V. 77, № 2. – P. 240–245.
14. Hossain Z., Mustafa G., Komatsu S. Plant responses to nanoparticle stress // *International journal of molecular sciences*. – 2015. – V. 16, № 11. – P. 26644–26653.
15. Silva S., Oliveira H., Craveiro S., Calado A., Santos C. Pure anatase and rutile+ anatase nanoparticles differently affect wheat seedlings // *Chemosphere*. – 2016. – V. 151. – P. 68–75.
16. Wang S., Kurepa J., Smalle J.A. Ultra-small TiO₂ nanoparticles disrupt microtubular networks in *Arabidopsis thaliana* // *Plant, cell & environment*. – 2011. – V. 34, № 5. – P. 811–820.

17. *Castiglione M., Giorgetti L., Geri C., Cremonini R.* The effects of nano-TiO₂ on seed germination, development and mitosis of root tip cells of *Vicia narbonensis* L. and *Zea mays* L. // Journal of Nanoparticle Research. – 2011. – V. 13. – № 6. – P. 2443–2449.

Literatura

1. *Juganson K., Ivask A., Blinova I., Mortimer M., Kahru A.* NanoE-Tox: New and in-depth database concerning ecotoxicity of nanomaterials // Beilstein journal of nanotechnology. – 2015. – V. 6. – P. 1788.
2. *Asanova A.A., Polonskij V.I.* Nekotorye toksikologicheskie harakteristiki nanochastic dioksida kremnija // Problemy agrohimii i jekologii. – 2019. – № 2. – S. 40.
3. *Polonskij V.I., Asanova A.A.* Ocenka vozdeystvija nanochastic dioksida titana na zhivye organizmy // Teoreticheskaja i prikladnaja jekologija. – 2018. – № 3. – S. 5–11.
4. *Keller A., Lazareva A.* Predicted releases of engineered nanomaterials: from global to regional to local // Environmental Science & Technology Letters. – 2014. – V. 1. – № 1. – P. 65–70.
5. *Sun T.Y., Bornhöft N.A., Hungerbühler K., Nowack B.* Dynamic probabilistic modeling of environmental emissions of engineered nanomaterials // Environmental science & technology. – 2016. – V. 50, № 9. – P. 4701–4711.
6. *Thakur S., Kumar R.* Bio-Nanotechnology and its Role in Agriculture and Food Industry // J Mol Genet Med. – 2018. – V. 12. – № 1. – P. 324.
7. *Kurepa J., Paunesku T., Vogt S., Arora H., Rabatic B.M., Lu J., Wanzer M., Woloschak G., Smalle J.* Uptake and distribution of ultrasmall anatase TiO₂ Alizarin red S nanoconjugates in *Arabidopsis thaliana* // Nano letters. – 2010. – V. 10, № 7. – P. 2296–2302.
8. *Ma Y., He X., Zhang P., Zhang Z., Guo Z., Tai R., Xu Z., Zhang L., Ding Y., Zhao Y., Chai Z.* Phytotoxicity and biotransformation of La₂O₃ nanoparticles in a terrestrial plant cucumber (*Cucumis sativus*) // Nanotoxicology. – 2011. – V. 5, № 4. – P. 743–753.
9. *Zhu H., Han J., Xiao J., Jin Y.* Uptake, translocation, and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants // Journal of Environmental monitoring. – 2008. – V. 10, № 6. – P. 713–717.
10. *Rafique R., Zahra Z., Virk N., Shahid M., Pinelli E., Park T., Arshad M.* Dose-dependent physiological responses of *Triticum aestivum* L. to soil applied TiO₂ nanoparticles: Alterations in chlorophyll content, H₂O₂ production, and genotoxicity // Agriculture, Ecosystems & Environment. – 2018. – V. 255. – P. 95–101.
11. *Asanova A.A., Polonskij V.I.* Vozdeystvie nanochastic serebra na fotosintezirujushhie organizmy // Dostizhenija nauki i tehniki APK. – 2017. – № 8. – S. 12–15.
12. *Yadav T., Mungray A.A., Mungray A.K.* Fabricated nanoparticles: current status and potential phytotoxic threats // Reviews of Environmental Contamination and Toxicology volume. – Springer, Cham. – 2014. – P. 83–110.
13. *Gopinath P., Gogoi S., Sanpui P., Paul A., Chattopadhyay A., Ghosh S.* Signaling gene cascade in silver nanoparticle induced apoptosis // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2010. – V. 77, № 2. – P. 240–245.
14. *Hossain Z., Mustafa G., Komatsu S.* Plant responses to nanoparticle stress // International journal of molecular sciences. – 2015. – V. 16, № 11. – P. 26644–26653.
15. *Silva S., Oliveira H., Craveiro S., Calado A., Santos C.* Pure anatase and rutile+ anatase nanoparticles differently affect wheat seedlings // Chemosphere. – 2016. – V. 151. – P. 68–75.
16. *Wang S., Kurepa J., Smalle J.A.* Ultra-small TiO₂ nanoparticles disrupt microtubular networks in *Arabidopsis thaliana* // Plant, cell & environment. – 2011. – V. 34, № 5. – P. 811–820.
17. *Castiglione M., Giorgetti L., Geri C., Cremonini R.* The effects of nano-TiO₂ on seed germination, development and mitosis of root tip cells of *Vicia narbonensis* L. and *Zea mays* L. // Journal of Nanoparticle Research. – 2011. – V. 13, № 6. – P. 2443–2449.

