
ВЛИЯНИЕ НАНОПОРОШКОВ МЕДИ И ОКСИДА МЕДИ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ, ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ВИКИ ОЗИМОЙ

М.А. Фомина¹, Ю.Н. Иванычева²,
Г.И. Чурилов²

¹Лечебный факультет

²Фармацевтический факультет

Рязанский государственный медицинский университет
им. академика И.П. Павлова

Высоковольтная, 9, Рязань, Россия, 390026

Рассматриваются физико-химические свойства нанопорошков, их влияние на морфофизиологические характеристики растения и изменение активности окислительного и антиоксидантного ферментов вики озимой.

Ключевые слова: вика озимая, нанопорошки меди, оксида меди, морфофизиологические данные, белки, углеводы.

Бурное развитие нанотехнологий неизбежно влечет все более широкое применение их достижений в различных сферах жизнедеятельности. Однако прежде чем говорить о внедрении подобных технологий в практику, необходимо убедиться в безопасности наноматериалов как для человека, так и для всех членов природных сообществ, которые столкнутся с появлением в экосистемах новых ксенобиотиков в ходе производства, использования и утилизации продукции наноиндустрии.

В настоящее время актуальны исследования фитотоксичности наночастиц. Растения, как важнейшие продуценты, находятся в основании множества пищевых цепей. Появление в тканях растений промышленных наночастиц может привести к возрастающему бионакоплению их в расположенных на верхних ступенях пищевых пирамид организмах, включая человека, что способно привести к самым негативным последствиям [1].

С этой точки зрения особую значимость приобретают исследования влияния наночастиц промышленного происхождения на сельскохозяйственные растения, используемые для производства продуктов питания и в качестве кормовых культур [2].

Материалы и методы исследования

В качестве объекта исследования использовали семена и проростки вики озимой (*Vicia villosa*) — одной из наиболее ценных бобовых культур для кормопроизводства [3].

Нанопорошки оксида меди размером 25—30 нм и меди размером 25 нм и 200 нм были произведены в Московском институте стали и сплавов. Суспензию готовили согласно ТУ 931800-4270760-96 в ультразвуковой ванне (модель ПСБ-

5735-5). Изучалось действие нанопорошков в интервале концентраций 0,001—1000 г порошка на гектарную норму посева семян.

Для анализа воздействия наноматериалов на объект исследования в лабораторных условиях в качестве субстрата использовали гелеобразные (на основе полисахаридов) культивационные среды. Гелеобразующим компонентом для получения агаризованных сред выбран полисахарид, полученный из морских водорослей (агар Difco или микробиологический агар отечественного производства). Некоторые химические параметры микробиологического агара: сульфаты $\leq 1\%$; кальций $\leq 0,4\%$; магний $0,2\%$; общий азот $\leq 0,25\%$; температура застывания $\geq 36\text{ }^\circ\text{C}$; температура плавления 1,2-процентного геля $\leq 5\text{ }^\circ\text{C}$; pH (1,2-процентного геля) меняется от 6,1 до $\geq 5,7$ после автоклавирования. Семена проращивали в условиях, предусмотренных ГОСТ 12038-84, с помощью термостата, обогреваемого ТСО-1М с диапазоном температур от $0\text{ }^\circ\text{C}$ до $60\text{ }^\circ\text{C}$; допустимые колебания температуры $\pm 1\text{ }^\circ\text{C}$.

Чашки Петри заполнялись питательной средой на 20% их объема. Семена раскладывались вручную на расстоянии не менее 0,5—1,5 см друг от друга. Повторность опыта четырехкратная для каждого варианта обработки.

Оценка морфологических показателей включала измерение длины и массы надземной и подземной части 3-дневных ростков. Для биохимических исследований использовали 7-дневные ростки вики, выращенные на полисахаридной среде.

Результаты и их обсуждение

Метрические показатели проростков семян культур вики при взаимодействии с различными концентрациями нанопорошков меди на гелеобразной культивационной среде представлены в табл. 1. Под действием нанопорошков меди длина надземных и подземных частей вики возрастает в интервале концентраций 0,01 г/га — 1000 г/га: длина надземных частей максимально увеличивается на 31% (Cu 1,0 г/га) и подземных частей на 30% (Cu 1,0 г/га). Нанопорошок оксида меди способствует росту надземных и подземных частей вики при низких концентрациях, но при концентрациях оксида больше 10 г/га длина надземных и подземных частей незначительно уменьшаются.

Таблица 1

Длина надземной и подземной части проростков вики при взаимодействии с нанопорошками меди на гелеобразной культивационной среде

Вика (3-дневные)					
Вариант	Надземная часть, мм	Подземная часть, мм	Вариант	Надземная часть, мм	Подземная часть, мм
Контроль	20,6 ± 0,05	22,1 ± 0,14	Контроль	20,6 ± 0,05	22,1 ± 0,14
Cu 0,01	23,0 ± 0,40*	28,8 ± 0,37*	CuO 0,01	20,2 ± 0,21	23,0 ± 0,19*
Cu 0,1	24,1 ± 0,32*	27,1 ± 0,07*	CuO 0,1	23,9 ± 0,19*	23,7 ± 0,08*
Cu 1,0	26,9 ± 0,12*	28,8 ± 0,21*	CuO 1,0	23,3 ± 0,22*	25,3 ± 0,01*
Cu 10,0	21,3 ± 0,41	22,7 ± 0,24	CuO 10	22,3 ± 0,27*	25,5 ± 0,24*
Cu 100	21,0 ± 0,14	22,4 ± 0,32	CuO 100	19,6 ± 0,32	22,0 ± 0,23
Cu 1000	21,9 ± 0,25	22,0 ± 0,34	CuO 1000	20,3 ± 0,41	20,2 ± 0,31

*P $\leq 0,05$.

Линейный рост растений является важным экологическим показателем, косвенно характеризующим интенсивность деления или растяжения клеток. С этим показателем тесно коррелирует масса (табл. 2) и объем органов растения. Оксид меди при содержании в питательной среде выше 10 г/га снижает весовые показатели ростков вики. Нанопорошки меди размером 20—25 нм значительно увеличивают массу ростков вики, вес корней на 19%, вес надземной части на 15%.

Таблица 2

Весовые показатели проростков вики при взаимодействии с нанопорошками меди и оксида меди (20—25 нм) на гелеобразной культивационной среде

Вика (3-дневные)					
Вариант	Надземная часть, мг	Подземная часть, мг	Вариант	Надземная часть, мг	Подземная часть, мг
Контроль	106,3 ± 2,3	82,5 ± 1,9	Контроль	106,3 ± 1,2	82,5 ± 1,1
Cu 0,01	112,8 ± 3,7	84,2 ± 1,2	CuO 0,01	106,4 ± 0,8	87,7 ± 1,9
Cu 0,1	110,1 ± 1,4	90,3 ± 2,3*	CuO 0,1	106,5 ± 1,5	86,1 ± 2,3
Cu 1,0	109,0 ± 1,9	97,8 ± 2,2*	CuO 1,0	108,3 ± 1,9	88,5 ± 3,1
Cu 10,0	111,2 ± 1,5*	85,7 ± 2,1	CuO 10	91,0 ± 1,4*	70,3 ± 1,4*
Cu 100	117,6 ± 2,9*	82,2 ± 2,4	CuO 100	91,7 ± 1,6*	69,1 ± 1,8*
Cu 1000	121,8 ± 2,2*	81,1 ± 1,3	CuO 1000	85,6 ± 1,7*	62,2 ± 2,1*

*P ≤ 0,05.

Нанопорошки меди (размером 20—30 нм) не угнетают рост растений, они активно включаются в ферментативные процессы по расщеплению запасных питательных веществ, обеспечивая их энергичное прорастание. Следует отметить, что более высокий уровень обменных процессов у проростков опытных вариантов способствовал достоверному повышению всхожести по сравнению с контролем. Нанопорошки оксида меди (размер частиц 25—30 нм) положительно влияют на рост и развитие вики только при концентрациях ниже 10 г/га.

Для установления зависимости активности нанопорошков от размера наночастиц изучалось действие нанопорошка меди размером 200 нм. Такие частицы в меньшей степени влияют на рост растений. Возможно, из-за больших размеров они проникают внутрь семян ограниченно и не взаимодействуют с органеллами клеток. Однако с увеличением их концентрации рост надземных частей возрастает на 12% по отношению к контролю, и подземных на 30%, т.е. подземные части растут быстрее, чем надземные.

Одним из важнейших критериев адаптивной устойчивости растения является его биохимический статус. Колебания активности важнейших антиоксидантных ферментов, а также фитогормонов способны отразить негативный эффект, оказываемый факторами среды на гомеостаз растительного организма, т.е. отклонение показателей биохимического статуса от нормы может служить сигналом о наличии токсического эффекта. В качестве одного из таких факторов могут рассматриваться наночастицы искусственного происхождения, способные попасть в среду обитания растений. В растительных образцах вики были определены ферменты пероксидазы и супероксиддисмутазы (табл. 3). Активность пероксидазы коррелирует с развитием устойчивости растений к стрессам. Неблагоприятные факторы внешней среды отрицательно влияют на рост и развитие растений, что проявляется в значительных изменениях пероксидазы, активность и спектр ко-

торой меняются под действием биологических и небιологических агентов. Результаты опыта показали, что активность пероксидазы различна в зависимости от вида наночастиц (медь и оксид меди). Различается активность пероксидазы и по месту нахождения: корни, ростки при одинаковой концентрации наночастиц. Однако изменения активности пероксидазы на присутствие нанопорошка меди относительно контроля в общем не превышают отклонения более 30%. И только в при высоких концентрациях нанопорошков меди отклонения составляют чуть более 30%. Однако для нанопорошков оксида меди при высоких концентрациях отклонения составляют более 30—45%, следовательно, данные концентрации 100 г/га и 1000 г/га могут быть опасны.

Таблица 3

Активность пероксидазы (ед. опт. пл/г сырой ткани·сек) и супероксиддисмутазы (усл. ед. акт./г сырой ткани) корнях и ростках вики под воздействием нанопорошков меди и оксида меди

Вариант	Пероксидаза				Супероксиддисмутаза			
	Корни		Ростки		Корни		Ростки	
	абс. знач.	%	абс. знач.	%	абс. знач.	%	абс. знач.	%
Контроль	7,87 ± ±0,010		3,98 ± ±0,032		47,31 ± ±0,016	—	109,06 ± ±0,034	—
Cu 0,01	8,08 ± ±0,015	+2,6	4,10 ± ±0,071	+10,3	48,87 ± ±0,04	+3,3	100,65 ± ±0,071	-7,7
Cu 0,10	8,40 ± ±0,009*	+6,7	4,41 ± ±0,062*	+10,8	49,24 ± ±0,078	+4,1	98,23 ± ±0,069	-9,9
Cu 1,00	9,00 ± ±0,064*	+14,4	4,30 ± ±0,012*	+8,5	51,20 ± ±0,089*	+8,2	106,08 ± ±0,027	-2,7
Cu 10	9,29 ± ±0,053*	+18,0	3,85 ± ±0,033	-3,2	52,13 ± ±0,056*	+10,2	108,29 ± ±0,100	-0,7
Cu 100	7,38 ± ±0,088	-6,2	3,66 ± ±0,036	-8,0	53,36 ± ±0,079*	+12,8	110,47 ± ±0,094	+1,3
Cu 1000	6,04 ± ±0,031*	-23,2	3,42 ± ±0,023*	-14,0	58,82 ± ±0,048*	+24,3	122,23 ± ±0,078*	+12,1
CuO 0,01	8,50 ± ±0,043*	+10,8	4,50 ± ±0,042*	+13,1	46,40 ± ±0,037	-1,9	108,10 ± ±0,087	-0,9
CuO 0,10	9,10 ± ±0,074*	+15,6	4,20 ± ±0,038*	+10,6	49,60 ± ±0,076	+4,8	112,20 ± ±0,069	+2,9
CuO 1,00	10,00 ± ±0,012*	+27,0	4,80 ± ±0,051*	+20,6	53,36 ± ±0,087*	+12,8	118,50 ± ±0,083*	+8,7
CuO 10,0	11,17 ± ±0,043*	+41,9	4,14 ± ±0,043	-4,0	62,67 ± ±0,029*	+32,5	122,92 ± ±0,079*	+12,7
CuO 100	9,95 ± ±0,051*	+26,4	3,07 ± ±0,029*	-22,9	66,90 ± ±0,064*	+41,4	141,04 ± ±0,058*	+29,3
CuO 1000	7,45 ± ±0,081	-5,3	2,99 ± ±0,034*	-24,9	84,51 ± ±0,086*	+78,6	47,18 ± ±0,011*	-56,7

*P ≤ 0,05.

Супероксиддисмутаза (СОД) относится к группе антиоксидантных ферментов. При действии неблагоприятных факторов увеличивается образование активных форм кислорода, в том числе и радикалов. Активность СОД при этом изменяется разнонаправленно; в одних случаях отмечено ее увеличение, в других снижение, что зависит от напряженности действия стрессового фактора (интенсивности и длительности воздействия), а также от восприимчивости организма, стадии развития растений и др.

Отклонения активности супероксиддисмутазы для нанопорошка меди разных размеров составляют менее 30%, и он безопасен для роста и развития растений. Нанопорошки оксида меди вызывает отклонения активности супероксиддисмутазы более 30%, при концентрациях 100 г/га и 1000 г/га. Поэтому необходимо строго контролировать содержание и накопление нанопорошка оксида меди в окружающей среде. При обработке вики суспензией нанопорошка меди с размером частиц 200 нм изменения активности ферментов практически не отличается от контроля. Для определения влияния химического состава нанопорошков изучалось действие нанопорошков меди и оксида меди в полевых условиях при предпосевной обработке семян вики в концентрации 0,05г на гектарную норму высева семян. Установлено положительное влияние предпосевной обработки семян вики на полевую всхожесть, энергию прорастания и активизацию линейного роста растений, что согласуется с нашими предыдущими данными [4].

Определение динамики накопления зеленой массы вики (2009—2010 гг.) в фазу цветения выявило, что максимальное накопление зеленой массы вики отмечалось в варианте с нанопорошками меди и превышало контроль на 32,1%. Нанопорошки способствовали изменению химического состава растений, в частности увеличению протеина на 25—30%. Максимальное содержание протеина было при обработке семян вики нанопорошками меди 0,05 г/га. Следовательно, химический состав имеет значение для использования наноматериалов в качестве микроудобрений. Оксид меди не угнетает рост растений при концентрациях 0,05 г/га: в фазу цветения накопления зеленой массы увеличилась на 37%, а количество протеина на 35%.

При обработке нанопорошками меди и оксида меди возросло содержание полисахаридов в семенах вики по сравнению с контролем на 34% и 25% соответственно. Выделенные из семян вики водорастворимые полисахариды имели величину удельного вращения $+120^{\circ}$... $+129^{\circ}$ и количество уруновых кислот до 40%, что позволяет отнести их к гликуроногликанам. В состав выделенных полисахаридов входят Д-галактуриновая кислота, галактоза, глюкоза, манноза, арабиноза и рамноза, ксилоза и их количество зависит от обработки нанопорошками.

При этом содержание в растениях тех микроэлементов, которые использовались для обработки семян, практически не изменилось. Так, абсолютное содержание меди в опыте и контроле не выходило за пределы 7,4—8,0 мг/кг (в контроле 7,9 мг/кг сухого вещества) при обработке нанопорошками меди и оксида меди в дозе 0,05 г.

Выводы

Нанопорошки меди размером 20—25 нм значительно увеличивают массу ростков вики, вес корней (на 19%), надземной части (на 15%). При действии нанопорошков оксида меди вес ростков возрастает при низких концентрациях для вики на 2%. При более высоком содержании нанопорошков оксида меди в питательных средах вес надземных и подземных частей ростков растений уменьшается, оставаясь на уровне контроля, и, следовательно, резкого угнетения растений не происходит.

Активность ферментов пероксидазы и супероксиддисмутазы изменяется в присутствии нанопорошка меди и оксида меди; различается активность и по месту определения: корни, ростки при одинаковой концентрации наночастиц. Изменения активности ферментов на присутствие нанопорошка меди в вике относительно контроля не превышают отклонения более 30%. Для нанопорошков оксида меди при концентрациях 100 г/га и 1000 г/га отклонения составляют более 40—45%, следовательно, данные концентрации могут быть опасны.

Обработка вика суспензией нанопорошка меди с размером частиц 200 нм не изменяет витальные и морфофизиологические показатели растений, практически не влияет на активность ферментов по сравнению с контролем. Следовательно, размер частиц нанопорошков влияет на биологическую активность наноматериалов.

При обработке семян вика нанопорошками меди разной концентрации в полевых опытах (размером 20—25 нм) установлено, что они обладают биологической активностью и могут быть использованы как экологически безопасные биодобавки, причем оптимальными являются концентрации 0,01 г/га — 0,10 г/га.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Чурилов Г.И., Амлеева Л.Е.* Биологическое действие наноразмерных металлов на различные группы растений: Монография. — Рязань, 2010.
- [2] *Астафурова Т.П., Моргалёв Ю.Н., Зотикова А.П.* и др. Влияние наночастиц диоксида титана и оксида алюминия на морфофизиологические параметры растений // *Экология*. — 2004. — № 3. — С. 114—121.
- [3] *Антоний А.К., Пылов А.П.* Зернобобовые культуры на корм и семена. — М.: Колос, Ленинградское отделение, 1980.
- [4] *Чурилов Г.И.* Действие нанокристаллических металлов на эколого-биологическое состояние почвы и накопление биологически активных соединений в растениях // *Вестник РУДН. Серия «Экология и безопасность жизнедеятельности»*. — 2010. — № 1. — С. 18—23.

EFFECT OF COPPER POWDERS AND OXIDE COPPER ON MORPHOLOGICAL INDICATORS CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT PROTECTION OF VETCH

M.A. Fomina¹, J.N. Ivanycheva²,
G.I. Churilov²

¹Medical Faculty

²Faculty of Pharmacy

Ryazan State Medical University of

I.P. Pavlov's by name

Visokovoltnay str., 9, Ryazan, Russia, 3900026

Depending on the physic-chemical properties of the powders examined their effect on the morphological characteristics of the plant and changes in the activity of oxidative and antioxidant enzymes of vetch.

Key words: vetch, nano-powders of copper, copper oxide, morphological data, proteins, carbohydrates.