

УДК 581.144.2

АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЯ РОСТОВЫХ ПАРАМЕТРОВ И АРХИТЕКТУРЫ ГЛАВНОГО КОРНЯ *ARABIDOPSIS THALIANA* ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДОВ МЕДИ И ЖЕЛЕЗА

М. И. АЛЕКСЕЕВА¹⁾, А. О. МУРАВИЦКАЯ¹⁾,
В. С. МАЦКЕВИЧ¹⁾, В. В. САМОХИНА¹⁾, В. В. ТАРИМА¹⁾,
П. О. МУЧИНСКАЯ¹⁾, Н. Л. ПШИБЫТКО¹⁾, В. В. ДЕМИДЧИК²⁾

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

²⁾Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларусь,
ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь

Аннотация. Наночастицы, содержащие оксиды меди и железа, все более активно используются в сельском хозяйстве в качестве наноудобрений. Несмотря на это, остается нерешенным вопрос об их токсичности для растительного организма. Для ответа на него необходимо проводить исследования на модельных объектах в стандартизованных ростовых условиях. В настоящей работе представлены результаты экспериментов по влиянию наночастиц оксидов меди (далее – CuO-НЧ) и железа (далее – Fe₃O₄-НЧ) на ростовые параметры и архитектуру главного корня *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. в вертикальной культуре *in vitro*. Обработка CuO-НЧ в концентрациях 10 и 30 мг/л и Fe₃O₄-НЧ в концентрациях 30; 100 и 300 мг/л стимулировала рост главного корня *A. thaliana*, в то время как нанесение CuO-НЧ в концентрациях выше 100 мг/л и Fe₃O₄-НЧ в концентрациях выше 300 мг/л вызвало ингибирование данного процесса. Обнаружено, что CuO-НЧ имеют более низкую токсичность, чем ионная форма Cu²⁺ (CuCl₂), введенная в среду культивирования в таких же концентрациях, как и названные наночастицы. Обработка изучаемыми наночастицами привела к модификации архитектуры главного корня: диаметр главного корня в зоне зрелого эпидермиса, длина зоны роста растяжением этого органа и его диаметр в зоне деления уменьшились после нанесения CuO-НЧ и увеличились после обработки Fe₃O₄-НЧ. Сделан вывод о том,

Образец цитирования:

Алексеева МИ, Муравицкая АО, Мацкевич ВС, Самохина ВВ, Тарима ВВ, Мучинская ПО, Пшибытко НЛ, Демидчик ВВ. Анализ изменения ростовых параметров и архитектуры главного корня *Arabidopsis thaliana* при воздействии наночастиц оксидов меди и железа. Экспериментальная биология и биотехнология. 2025;2:25–35.

EDN: JEAXZC

For citation:

Aliakseyeva MI, Muravitskaya AO, Mackievic VS, Samokhina VV, Tarima VV, Muchinskaya PA, Pshybytko NL, Demidchik VV. Analysis of changes in growth parameters and primary root architecture of *Arabidopsis thaliana* under the influence of copper and iron oxide nanoparticles. Experimental Biology and Biotechnology. 2025;2:25–35. Russian.
EDN: JEAXZC

Авторы:

Мария Игоревна Алексеева – аспирантка кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета. Научный руководитель – В. В. Демидчик.

Анна Олеговна Муравицкая – аспирантка кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета. Научный руководитель – В. В. Демидчик.

Вера Сергеевна Мацкевич – старший преподаватель кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета.

Вероника Валерьевна Самохина – старший преподаватель кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета.

Вероника Витальевна Тарима – студентка биологического факультета. Научный руководитель – В. В. Самохина.

Полина Олеговна Мучинская – студентка биологического факультета. Научный руководитель – В. В. Самохина.

Наталья Лёггиновна Пшибытко – кандидат биологических наук, доцент; заместитель декана по научной работе биологического факультета.

Вадим Викторович Демидчик – доктор биологических наук, член-корреспондент НАН Беларусь, профессор; главный научный сотрудник лаборатории роста и развития растений.

Authors:

Maryia I. Aliakseyeva, postgraduate student at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology. aliakseyevami@bsu.by

Anna O. Muravitskaya, postgraduate student at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology. muravitskayaao@bsu.by

Viera S. Mackievic, senior lecturer at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology. mackievic@bsu.by

Veranika V. Samokhina, senior lecturer at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology. samokhina@bsu.by

Veranika V. Tarima, student at the faculty of biology.

Palina A. Muchinskaya, student at the faculty of biology.

Natalia L. Pshybytko, PhD (biology), docent; deputy dean for scientific work, faculty of biology. pshybytko@bsu.by

Vadim V. Demidchik, doctor of science (biology), corresponding member of the National Academy of Sciences of Belarus, full professor; chief researcher at the laboratory of plant growth and development. demidchik@botany.by



что CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ, используемые для производства наноудобрений, обладают относительно низкой токсичностью, при этом Fe₃O₄-НЧ проявляют выраженное корнестимулирующее действие при обработке в широком диапазоне концентраций.

Ключевые слова: наночастицы оксида меди; наночастицы оксида железа; *Arabidopsis thaliana*; рост и развитие растений; главный корень растения; наноудобрения.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований в рамках проектов Б25КИ-086 и Б24-060-1, а также задания 2.04.5 «Установление закономерностей токсического воздействия металлсодержащих нанополлютантов атмосферы на физиологические процессы у высших растений» государственной программы научных исследований «Природные ресурсы и окружающая среда» на 2021–2025 гг. (№ гос. регистрации 20211705).

ANALYSIS OF CHANGES IN GROWTH PARAMETERS AND PRIMARY ROOT ARCHITECTURE OF ARABIDOPSIS THALIANA UNDER THE INFLUENCE OF COPPER AND IRON OXIDE NANOPARTICLES

M. I. ALIAKSEYEVA^a, A. O. MURAVITSKAYA^a,
V. S. MACKIEVIC^a, V. V. SAMOKHINA^a, V. V. TARIMA^a,
P. A. MUCHINSKAYA^a, N. L. PSHYBYTKO^a, V. V. DEMIDCHIK^b

^aBelarusian State University, 4 Niezaliezhnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

^bV. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany, National Academy of Sciences of Belarus,
27 Akademichnaja Street, Minsk 220072, Belarus

Corresponding author: M. I. Aliakseyeva (aliakseyevami@bsu.by)

Abstract. Nanoparticles containing copper and iron oxides are increasingly used in agriculture as nanofertilisers. Despite this, the question of their toxicity for plant organism remains unresolved. To address this, it is necessary to conduct researches on model objects under standardised conditions. This paper presented the results of experiments on the effect of copper oxide nanoparticles (here and further – CuO-NPs) and iron oxide nanoparticles (here and further – Fe₃O₄-NPs) on the growth parameters and primary root architecture of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. in vertical culture *in vitro*. Treatment with CuO-NPs at concentrations of 10 and 30 mg/L and Fe₃O₄-NPs at concentrations of 30, 100 and 300 mg/L stimulated the primary root growth of *A. thaliana*, while application of CuO-NPs at concentrations above 100 mg/L and Fe₃O₄-NPs at concentrations above 300 mg/L inhibited this process. It was found that CuO-NPs exhibit lower toxicity than the ionic form Cu²⁺ (CuCl₂) introduced into the gel medium at the same concentrations as the mentioned nanoparticles. Treatment with the studied nanoparticles led to a modification of the primary root architecture: the diameter of the primary root in the mature epidermis zone, the length of the elongation zone of this organ and its diameter in the division zone decreased after the application of CuO-NPs and increased after treatment with Fe₃O₄-NPs. It was concluded that CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs used for the production of nanofertilisers exhibit relatively low toxicity, while Fe₃O₄-NPs demonstrate a strong root-stimulating effect under the treatment at a wide range of concentrations.

Keywords: iron oxide nanoparticles; copper oxide nanoparticles; *Arabidopsis thaliana*; plant growth and development; plant root; nanofertilisers.

Acknowledgements. This work was carried out with financial support from the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research within the framework of projects B25KИ-086 and B24-060-1, as well as assignment 2.04.5 «Establishing the patterns of toxic effects of metal-containing atmospheric nanopollutants on physiological processes in higher plants» of the state programme of scientific research «Natural resources and environment» for 2021–2025 (state registration No. 20211705).

Введение

Нанотехнология представляет собой перспективную и быстро развивающуюся отрасль знаний, достижения которой находят все большее применение в биологии и связанных с ней практических областях, таких как сельское и лесное хозяйство, медицина, пищевая промышленность, биотехнология и экология. В сфере нанотехнологий ключевым материалом (наноматериалом) являются наночастицы (НЧ). К ним относятся твердофазные объекты, один из физических размеров которых не превышает 100 нм [1]. В последние годы НЧ размером менее 10 нм называют квантовыми точками, а НЧ размером менее 2 нм – клас-

терами. НЧ обладают уникальными физико-химическими характеристиками: исключительно высоким отношением площади поверхности к объему, особыми спектральными свойствами, высокой катализической активностью, повышенной адсорбционной емкостью, способностью легче других твердых объектов проникать через гидрофобные барьеры, например биомембранны и органические полимеры [2]. По происхождению НЧ можно разделить на природные и синтетические НЧ, по химической природе – на органические, неорганические, углеродные и композитные НЧ [3].

Наиболее значимой по применению в практических целях группой НЧ являются металлсодержащие НЧ, в том числе НЧ чистых металлов (Ag, Ti, Cu, Zn, Au и др.), оксидов металлов (CuO , ZnO , Al_2O_3 , TiO_2 , Fe_3O_4), а также сульфидов, теллуридов и селенидов металлов [4]. Они входят в состав около 75 % зарегистрированных коммерческих нанопродуктов [4]. Самыми используемыми в нанотехнологии металлсодержащими НЧ являются НЧ серебра, называемые наносеребром (около 20 % зарегистрированных в мире нанопродуктов) [5]. Однако в последние годы все больший интерес приобретает возможность практического применения НЧ экологически безопасных металлов (Cu, Fe, Zn, Mn и др.) [6]. Уделение значительного внимания данным наноматериалам связано с их использованием в качестве агрохимических средств, в частности наноудобрений [7].

В случае необходимости масштабного применения НЧ как удобрений важна оценка их потенциальной токсичности [8–11]. Ее выполнение возможно только на основе использования стандартизованных подходов и модельных видов, что позволяет экстраполировать полученные данные на другие растительные объекты. Следует отметить, что в последние годы при помощи металлсодержащих НЧ, являющихся носителями и одновременно источниками микроэлементов, разрабатываются методы адресной доставки и контролируемого высвобождения некоторых пестицидов и регуляторов роста растений, что требует адекватного контроля их биосовместимости и токсичности [8–10].

Существует значительное количество научных работ, посвященных изучению влияния металлсодержащих НЧ на рост, развитие и физиологические процессы растений. Установлено, что некоторые НЧ могут проникать в ткани корней и побегов, активно воздействуя на организм на морфологическом, физиологическом и молекулярном уровнях [12]. Начальным этапом поступления НЧ в ткани корней является их адсорбция на ризодерме. На поглощение НЧ корнями существенно влияют такие факторы, как размер, химический состав и поверхностный заряд НЧ. Общепризнано, что эпидермис апексов корней и корневые волоски отличаются высокой проницаемостью для различных соединений, в том числе для металлсодержащих НЧ [13]. В этих тканях происходит усиленный везикулярный перенос клеточного материала, а клеточная стенка имеет исключительно рыхлую структуру, которая, по-видимому, более проницаема для НЧ. Мембранный транспорт НЧ не осуществляется через ионные каналы и транспортеры, однако он, вероятно, может выполняться при помощи эндоцитоза и (или) прямого прохождения через липидный бислой клеточной мембранны [14].

Влияние НЧ металлов может отражаться на протекании множества внутриклеточных процессов (от восприятия сигналов клеткой до регуляции экспрессии генов на уровнях транскрипции и трансляции) [15]. Некоторые НЧ, скорее всего, способны выступать в роли первичных посредников в системах клеточной сигнализации, воздействуя на Ca^{2+} - и редокс-сигнальные каскады [15]. Потенциально НЧ способны активировать сигнальные пути, участвующие в развитии реакций на стресс, недостаток элементов минерального питания и фитогормоны [14; 16]. Металлсодержащие НЧ могут функционировать как регуляторы экспрессии ряда генов (*CAT*, *POD*, *GST*, *ATPS*, *APR*, *CS*, *GCL*, *P5CSI*, *P5GS2*), отвечающих за возникновение защитных реакций на воздействие абиотических стрессоров и патогенных организмов [13; 17; 18]. В то же время в высоких дозах металлсодержащие НЧ, кроме регуляторных эффектов, вызывают токсическое действие, оказывая ингибирующее влияние на рост и развитие растений [19]. Они могут подавлять прорастание семян, фотосинтез, протекание метаболических реакций, что приводит к снижению продуктивности и пищевой ценности растений [19].

Одним из главных токсических эффектов, обусловленных высокой концентрацией металлсодержащих НЧ, является генерация избыточного количества активных форм кислорода (АФК), вызывающих окислительное повреждение клеточных структур, в частности карбонилирование белков и углеводов, истощение пула восстановленных тиолов, полифенолов и аскорбата [12]. Также воздействие НЧ может приводить к нарушению водного обмена, ингибиции ряда ферментов первичного метаболизма и накоплению токсических вторичных метаболитов [20–22].

Цель настоящей работы – анализ изменений ростовых процессов и параметров архитектуры главного корня высших растений при влиянии металлсодержащих НЧ. В качестве объектов исследования были использованы растения важнейшего в биологии растений модельного вида *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., а также НЧ оксидов меди (далее – CuO -НЧ) и железа (далее – Fe_3O_4 -НЧ), представляющие собой перспективную и, предположительно, малотоксическую группу НЧ.

Объект и методы исследования

Проростки *A. thaliana* экотипа Columbia-0 (Col-0) выращивались в стерильных условиях в течение 5–10 сут в зависимости от схемы опыта. Стерилизация семян проводилась гипохлоритом натрия (20 % водным раствором) в течение 15 мин. Культура целых растений *A. thaliana* инициировалась и поддерживалась в чашках Петри на поверхности стерильной среды Мурасиге и Скуга (*Duchefa Biochemie*, Нидерланды), содержащей стандартную смесь макро- и микроэлементов с добавлением 1,0 % сахарозы и 0,35 % геллановой камеди *Phytigel™* (*Sigma-Aldrich*, США), pH устанавливался на уровне 6,0. После посадки в чашки Петри семена стратифицировались в темноте в течение 2 сут при температуре 4 °C. Дальнейшее культивирование растений осуществлялось в ростовой камере (*Binder*, Германия) с контролируемыми условиями (световым циклом 16 ч света и 8 ч темноты при температуре 22 °C).

В рамках работы были проведены две серии экспериментов, позволившие оценить влияние CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ на рост и архитектуру главного корня *A. thaliana*. В качестве тест-растворов использовались суспензии CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ (*Sigma-Aldrich*) размером 40–50 нм, супернатанты этих НЧ и CuCl₂ в концентрациях 10; 30; 100; 300 и 1000 мг/л, которые были приготовлены на основе низкосолевого рабочего раствора, содержащего 0,1 ммоль/л CaCl₂ и 0,1 ммоль/л KCl (уровень pH 6,0 фиксировался с помощью буферов Tris и MES (1 и 2 ммоль/л соответственно)). В первом случае производилась однократная обработка апексов корней пятидневных проростков путем нанесения на них тест-раствора (5 мкл на один корень). Во втором случае осуществлялась пятикратная обработка апексов корней пятидневных проростков: тест-раствор в том же количестве наносили на корни раз в сутки на протяжении пяти дней. Контрольная группа растений обрабатывалась стерильным низкосолевым рабочим раствором таким же образом, как и растения, на которые наносились НЧ. Регистрация ростовых и морфометрических параметров корней проводилась на пятые сутки. Определялись и количественно описывались следующие параметры: диаметр главного корня в зоне зрелого эпидермиса, длина зоны роста растяжением главного корня и диаметр главного корня в зоне деления. Измерения проводились с использованием программы *ImageJ* (США). Микроскопия апексов корней проростков *A. thaliana* осуществлялась с помощью инвертированного светового микроскопа Nikon Eclipse TS100F (*Nikon*, США).

Для обработки полученных результатов применялись стандартные методы вариационной статистики. Основными статистическими характеристиками послужили средняя арифметическая величина (X), среднее квадратичное отклонение (σ) и ошибка средней величины (Sx). Достоверность различий по отношению к контролю рассчитывалась при помощи теста ANOVA.

Результаты и их обсуждение

В ходе выполнения работы были получены данные о влиянии CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в концентрациях 10; 30; 100; 300 и 1000 мг/л на рост и архитектуру главного корня *A. thaliana* после однократной (рис. 1 и 2) и пятикратной (рис. 3 и 4) обработки.

Однократная обработка 10 и 30 мг/л CuO-НЧ оказала стимулирующее действие на рост главного корня (см. рис. 1, *a* и *b*). Максимальное действие CuO-НЧ было зарегистрировано после нанесения этих НЧ в концентрации 10 мг/л: на пятые сутки прирост главного корня был больше на 25–30 %, чем прирост главного корня у контрольных образцов. Достоверные различия между контрольной группой растений и растениями, обработанными CuO-НЧ в более высоких концентрациях, не были обнаружены, что, вероятно, связано с развитием эффектов, стимулирующих рост, и одновременно токсических эффектов.

Воздействие ионной формы меди (Cu²⁺) в концентрациях 30; 100; 300 и 1000 мг/л привело к угнетению роста главного корня (см. рис. 1, *c*). Полученные данные коррелируют с информацией из источников [12; 23–25], согласно которым довольно небольшое превышение порогового значения концентрации такого важного микроэлемента, как медь, вызывает в растениях резкое развитие токсичности, приводящее к торможению роста клеток и органов. В то же время количество выделившихся из CuO-НЧ ионов Cu²⁺, вероятно, не превышает порогового значения и не вызывает токсических реакций. Ранее нами было показано, что по токсичности НЧ чистой меди сопоставимы с ионной формой меди [26]. В этой связи низкая токсичность CuO-НЧ наряду с обнаруженным эффектом стимуляции роста может представлять большой интерес для создания минеральных наноудобрений.

Эффект стимуляции удлинения главного корня также вызвали Fe₃O₄-НЧ. Он проявился после однократной обработки этими НЧ в концентрациях 10; 30; 100 и 300 мг/л, что привело к 20 % приросту (см. рис. 1, *d*). Рост главного корня также ускорился после однократного нанесения супернатанта Fe₃O₄-НЧ в любой концентрации, что свидетельствует о появлении пула водорастворимых, стимулирующих рост факторов при сусpenзировании Fe₃O₄-НЧ (см. рис. 1, *e*). Так, при воздействии данного супернатанта в концентрациях 10; 30; 100; 300 и 1000 мг/л произошло удлинение главного корня на 40; 24; 28; 33 и 27 % соответственно.

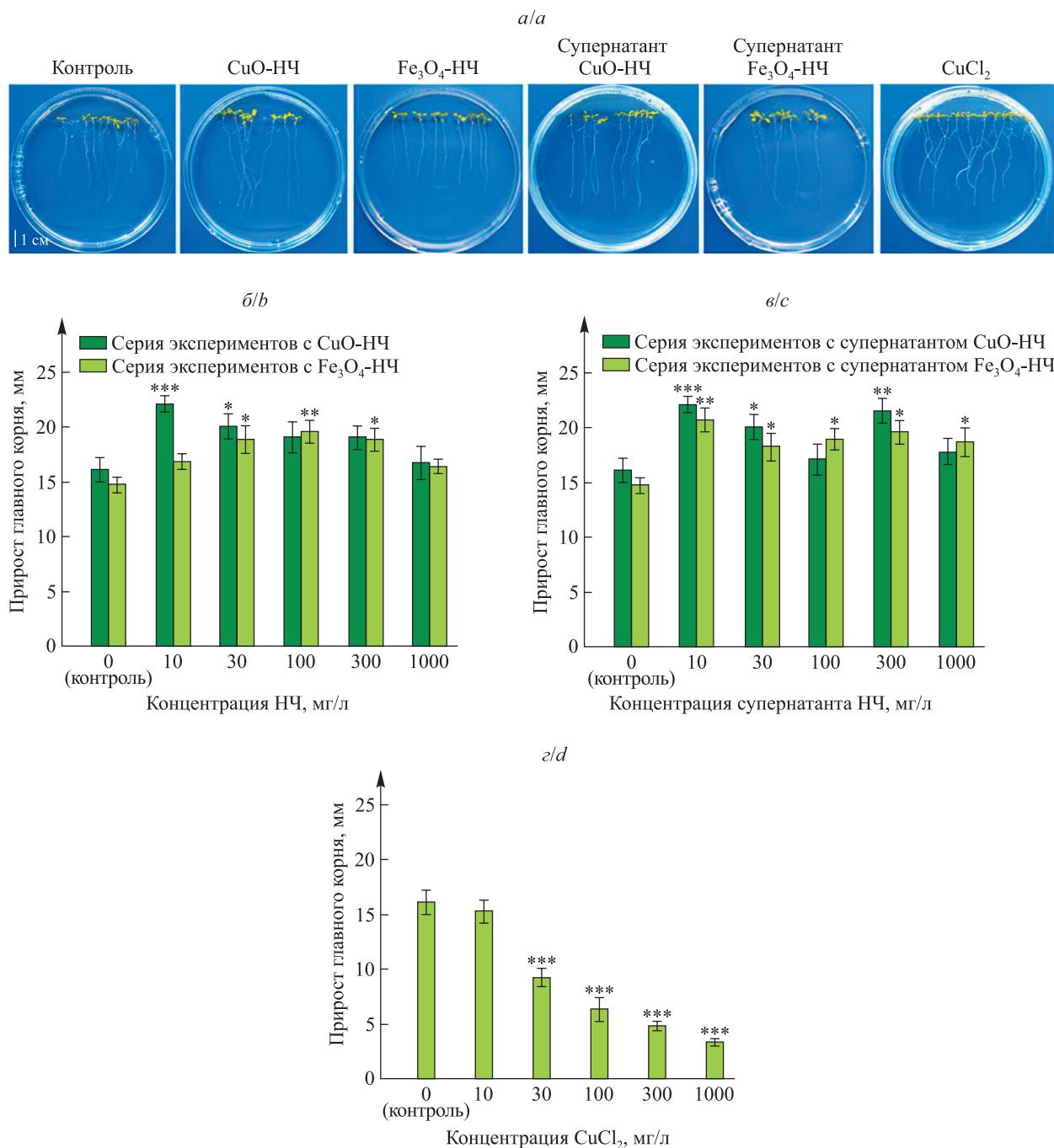


Рис. 1. Влияние однократной обработки CuO-НЧ, Fe_3O_4 -НЧ и CuCl_2 на рост главного корня *A. thaliana* в вертикальной культуре *in vitro*:

а – внешний вид контрольных образцов и растений, обработанных CuO-НЧ, Fe_3O_4 -НЧ, их супернатантами и CuCl_2 в концентрации 10 мг/л, на пятые сутки; б – прирост главного корня на пятые сутки после обработки CuO-НЧ и Fe_3O_4 -НЧ в различных концентрациях; в – прирост главного корня на пятые сутки после обработки супернатантами CuO-НЧ и Fe_3O_4 -НЧ в различных концентрациях; г – прирост главного корня на пятые сутки после обработки CuCl_2 в различных концентрациях.

Данные представлены в виде $X \pm Sx$. Количество образцов в каждой серии экспериментов составляло величину $n = 25–30$. Знаками *, ** и *** отмечены достоверные различия по отношению к контролю ($p < 0,01$, $p < 0,001$ и $p < 0,0001$ соответственно)

Fig. 1. The effect of single treatment with copper oxide nanoparticles (here and further – CuO-NPs), iron oxide nanoparticles (here and further – Fe_3O_4 -NPs) and CuCl_2 on the primary root growth of *A. thaliana* in vertical culture *in vitro*:
a – appearance of control samples and plants treated with CuO-NPs, Fe_3O_4 -NPs, their supernatants and CuCl_2 at a concentration of 10 mg/L on the fifth day; b – primary root growth on the fifth day after treatment with CuO-NPs and Fe_3O_4 -NPs at various concentrations; c – primary root growth on the fifth day after treatment with supernatants of CuO-NPs and Fe_3O_4 -NPs at various concentrations; d – primary root growth on the fifth day after treatment with CuCl_2 at various concentrations. Data are presented as $X \pm Sx$. The number of samples in each series of experiments was $n = 25–30$. Signs *, ** and *** marked significant differences in relation to control ($p < 0.01$, $p < 0.001$ and $p < 0.0001$ respectively)

Однократная обработка CuO-НЧ и Fe_3O_4 -НЧ повлияла на изменение архитектуры главного корня *A. thaliana*, однако чувствительность разных зон корня по отношению к одним и тем же концентрациям НЧ отличалась (см. рис. 2). Воздействие CuO-НЧ в концентрациях 100; 300 и 1000 мг/л проявилось в уменьшении диаметра главного корня в зоне зрелого эпидермиса на 15; 17 и 20 % соответственно (см. рис. 2, б). Диаметр главного корня в зоне деления на уровне клеток ниши (меристем покоящегося центра) уменьшился после нанесения CuO-НЧ в концентрациях 30; 100; 300 и 1000 мг/л на 18; 19; 19 и 22 % соответственно (см. рис. 2, г). Зона роста растяжением главного корня оказалась невосприимчивой к однократной обработке CuO-НЧ: статистически достоверные различия между длинами данной зоны у контрольной группы растений и растений, на которые наносились НЧ, не были обнаружены (см. рис. 2, в).

После однократной обработки растений Fe_3O_4 -НЧ в различных концентрациях диаметр главного корня в зоне зрелого эпидермиса увеличился (до 23 % по сравнению с данным параметром у контрольных образцов), что свидетельствует о высокой отзывчивости этой зоны на названные НЧ (см. рис. 2, б). Зона роста растяжением главного корня и его диаметр в зоне деления увеличились в ответ на обработку образцов Fe_3O_4 -НЧ в концентрациях 100; 300 и 1000 мг/л (см. рис. 2, в и г).

Пятикратная обработка CuO-НЧ в концентрации 10 мг/л стимулировала рост главного корня *A. thaliana* (см. рис. 3, а и б). Аналогичный результат был получен после нанесения CuCl_2 в концентрации 10 мг/л (см. рис. 3, г). Более высокие концентрации либо не повлияли на рост главного корня (30; 100; 300 и 1000 мг/л CuO-НЧ, 30 мг/л CuCl_2), либо приводили к угнетению роста (100; 300 и 1000 мг/л CuCl_2). Нанесение супернатанта CuO-НЧ в концентрациях 10 и 30 мг/л ускорило рост главного корня (см. рис. 3, в). Статистически значимые различия между контрольной группой проростков и проростками, на которые наносился этот супернатант в других концентрациях, не были выявлены. Пятикратная обработка Fe_3O_4 -НЧ вызвала эффект, похожий на эффект после однократной обработки этими НЧ (см. рис. 1, б, и рис. 3, б).

При анализе влияния пятикратной обработки CuO-НЧ на архитектуру главного корня *A. thaliana* было обнаружено, что нанесение этих НЧ в концентрациях 10; 30; 100; 300 и 1000 мг/л привело к уменьшению диаметра главного корня в зоне зрелого эпидермиса (см. рис. 4, б). Уменьшение длины зоны роста растяжением главного корня на 20; 21 и 24 % наблюдалось после воздействия 100; 300 и 1000 мг/л CuO-НЧ соответственно (см. рис. 4, в). Зона деления проявила меньшую чувствительность к CuO-НЧ: уменьшение диаметра главного корня в этой зоне было установлено после нанесения названных НЧ в концентрации 1000 мг/л (см. рис. 4, г).

Достоверные различия между такими параметрами, как диаметр главного корня в зоне зрелого эпидермиса и длина зоны роста растяжением главного корня, у контрольной группы растений и растений, пятикратно обработанных Fe_3O_4 -НЧ, не были обнаружены (см. рис. 4, б и в). В то же время однократное нанесение этих НЧ, особенно в случае с высокими концентрациями (100; 300 и 1000 мг/л), привело к изменению данных параметров (см. рис. 2, б и в). Обе серии экспериментов, предполагающие обработку Fe_3O_4 -НЧ, показали проявление противоположного действия на диаметр главного корня в зоне деления: после однократной обработки этот параметр увеличился, а после пятикратной обработки произошло его уменьшение. Полученные результаты могут свидетельствовать как о постепенном снижении чувствительности главного корня к Fe_3O_4 -НЧ, так и о возрастании токсического эффекта по мере накопления этих НЧ в тканях растений, подавлении положительного действия на ростовые процессы.

Негативное влияние CuO-НЧ и Fe_3O_4 -НЧ на рост главного корня *A. thaliana*, проявившееся после обработки этими НЧ в высоких концентрациях, может быть связано с высвобождением ионов меди и железа в среду культивирования. Многие лабораторные исследования демонстрируют дозозависимую фитотоксичность CuO-НЧ [12; 27–29]. Укорочение корней после воздействия НЧ отмечалось для ряда растений при их выращивании в гидропонике, песке и почве [27]. Как указывалось выше, медь вызывает острую токсическую реакцию в растениях после ее применения в концентрациях, превышающих пороговое значение [28; 29]. В работах некоторых авторов показано, что обработка CuO-НЧ способна усиливать генерацию АФК и развитие окислительного стресса, приводя к окислительной дисфункции биомолекул [17; 23]. Также имеются данные о том, что эти НЧ могут быть токсическими для ряда растительных систем уже в концентрации 0,2 мг/л [27]. Согласно исследованиям [30; 31] в ответ на воздействие CuO-НЧ может наблюдаться резкое увеличение концентрации антиоксидантов, что указывает на активацию защитных механизмов от избытка АФК и развитие окислительного стресса.

Влияние Fe_3O_4 -НЧ на рост и развитие растений было изучено в работах [32–34] на примере широкого диапазона модельных объектов. Железо является основным микроэлементом для высших растений, на получение которого из почвы они могут затрачивать до 50–60 % всей метаболической энергии [27; 35; 36]. Применение Fe_3O_4 -НЧ в концентрации 10–40 мг/л способно стимулировать рост высших растений, как показано в исследовании [32] на примере риса, огурцов и пшеницы. Аналогичные результаты (усиленный рост, развитие корней и побегов) были получены на *A. thaliana* при размягчении клеточной стенки [37]. Некоторые исследователи связывают стимулирующий эффект от Fe_3O_4 -НЧ с легкостью их поглощения и транспорта в клетках корня [34; 38]. Полученные в настоящей работе данные демонстрируют, что обработка Fe_3O_4 -НЧ в довольно высоких концентрациях (100 и 300 мг/л) не вызывает токсического эффекта, данные НЧ могут быть использованы в качестве наноудобрений для стимуляции роста высших растений.

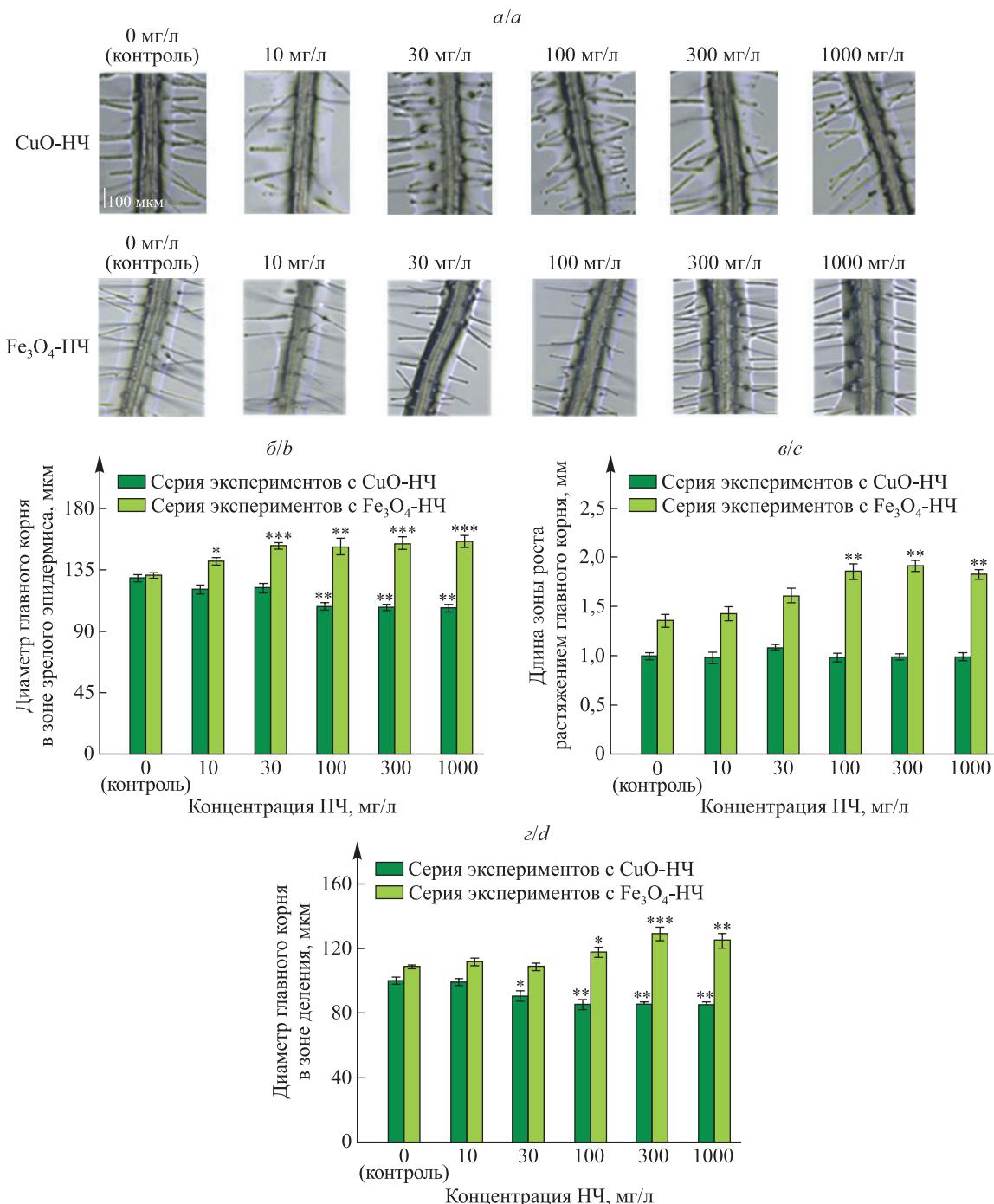


Рис. 2. Влияние однократной обработки CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ на архитектуру главного корня *A. thaliana* в вертикальной культуре *in vitro*: а – микрографии главного корня в зоне зрелого эпидермиса у контрольных образцов и растений, обработанных CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях, на пятые сутки (увеличение ×100); б – диаметр главного корня в зоне зрелого эпидермиса на пятые сутки после обработки CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях; в – длина зоны роста растяжением главного корня на пятые сутки после обработки CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях; г – диаметр главного корня в зоне деления на пятые сутки после обработки CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях. Данные представлены в виде $X \pm Sx$. Количество образцов в каждой серии экспериментов составляло величину $n = 10–15$. Знаками *, ** и *** отмечены достоверные различия по отношению к контролю ($p < 0,01$, $p < 0,001$ и $p < 0,0001$ соответственно)

Fig. 2. The effect of single treatment with copper oxide nanoparticles CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs on the primary root architecture of *A. thaliana* in vertical culture *in vitro*: a – microphotographs of the primary root in the mature epidermis zone of control samples and plants treated with CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs at various concentrations on the fifth day (magnification ×100); b – diameter of the primary root in the mature epidermis zone on the fifth day after treatment with CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs at various concentrations; c – length of the elongation zone of the primary root on the fifth day after treatment with CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs at various concentrations; d – diameter of the primary root in the division zone on the fifth day after treatment with CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs at various concentrations. Data are presented as $X \pm Sx$. The number of samples in each series of experiments was $n = 10–15$. Signs *, ** and *** marked significant differences in relation to control ($p < 0,01$, $p < 0,001$ and $p < 0,0001$ respectively)

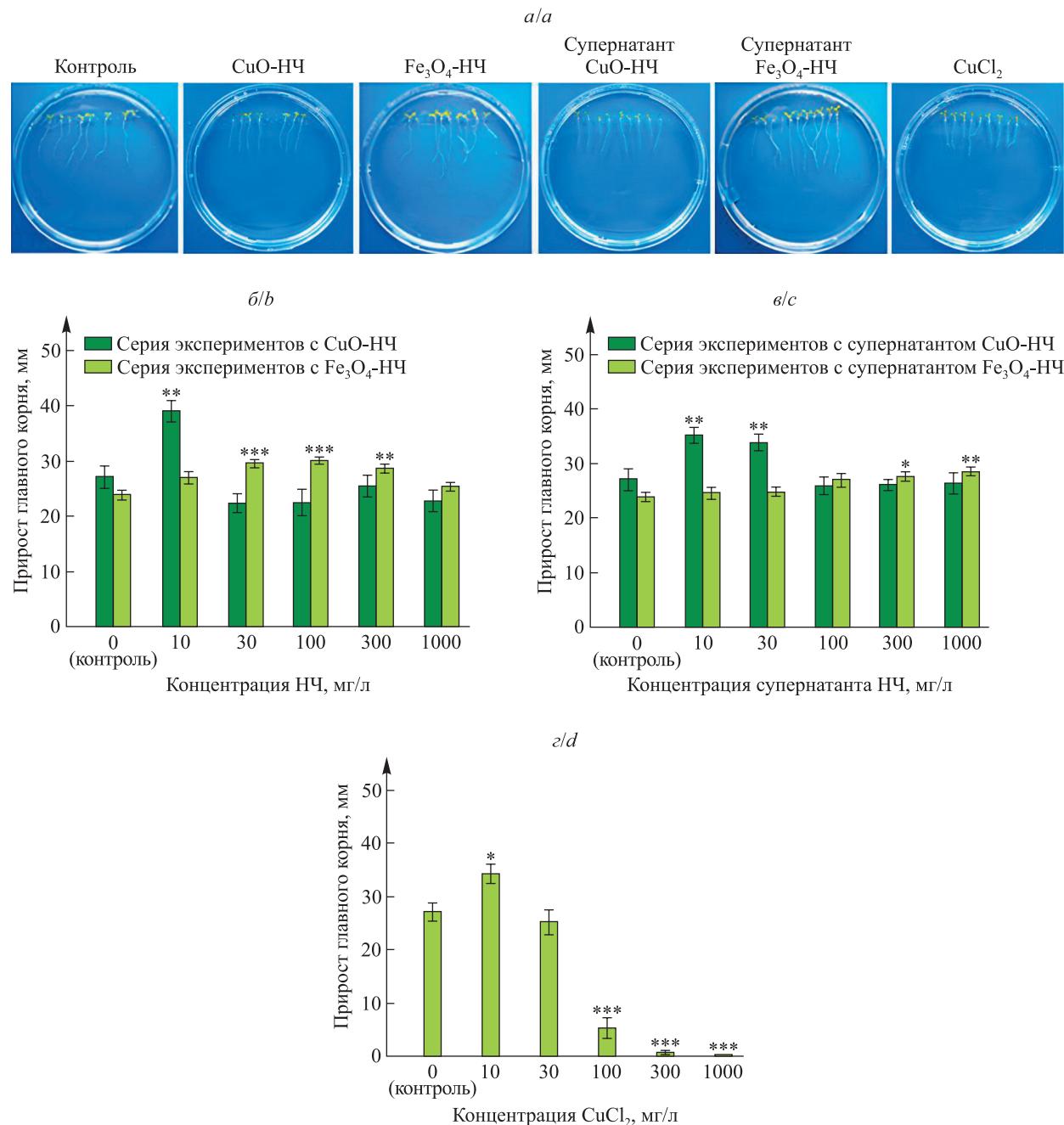


Рис. 3. Влияние пятикратной обработки CuO-НЧ, Fe₃O₄-НЧ и CuCl₂ на рост главного корня *A. thaliana* в вертикальной культуре *in vitro*:

a – внешний вид контролльных образцов и растений, обработанных CuO-НЧ, Fe₃O₄-НЧ, их супернатантами и CuCl₂ в концентрации 10 мг/л, на пятые сутки; *б* – прирост главного корня на пятые сутки после обработки CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях; *в* – прирост главного корня на пятые сутки после обработки супернатантами CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях;

г – прирост главного корня на пятые сутки после обработки CuCl₂ в различных концентрациях.

Данные представлены в виде $X \pm Sx$. Количество образцов в каждой серии экспериментов составляло величину $n = 25–30$. Знаками *, ** и *** отмечены достоверные различия по отношению к контролю ($p < 0,01$, $p < 0,001$ и $p < 0,0001$ соответственно)

*Fig. 3. The effect of fivefold treatment with copper oxide nanoparticles CuO-NPs, Fe₃O₄-NPs and CuCl₂ on the primary root growth of *A. thaliana* in vertical culture *in vitro*:*

a – appearance of control samples and plants treated with CuO-NPs, Fe₃O₄-NPs, their supernatants and CuCl₂ at a concentration of 10 mg/L on the fifth day; *b* – primary root growth on the fifth day after treatment with CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs at various concentrations; *c* – primary root growth on the fifth day after treatment with supernatants of CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs at various concentrations;

d – primary root growth on the fifth day after treatment with CuCl₂ at various concentrations.

Data are presented as $X \pm Sx$. The number of samples in each series of experiments was $n = 25–30$.

Signs *, ** and *** marked significant differences in relation to control ($p < 0.01$, $p < 0.001$ and $p < 0.0001$ respectively)

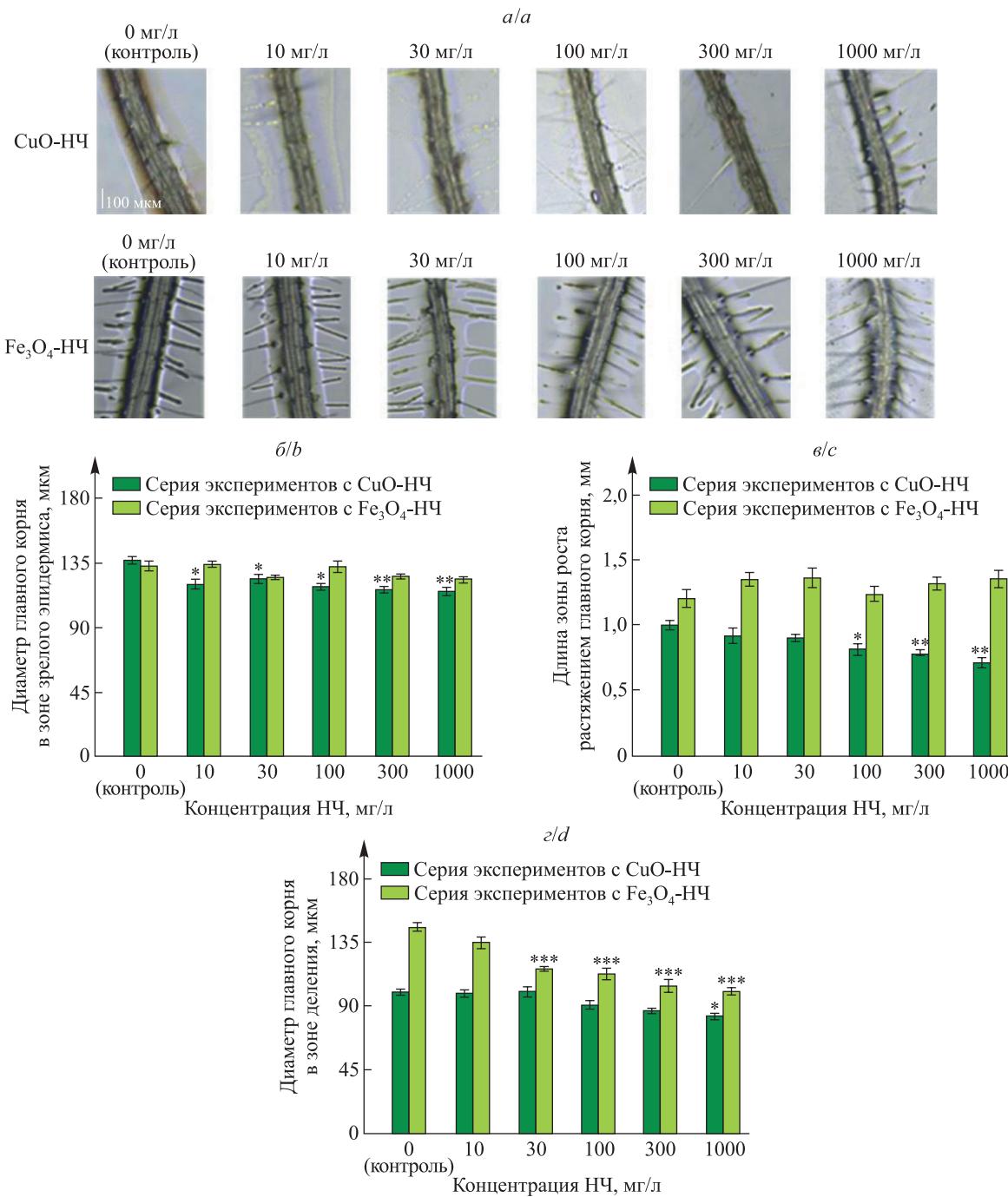


Рис. 4. Влияние пятикратной обработки CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ на архитектуру главного корня *A. thaliana* в вертикальной культуре *in vitro*: а – микрофотографии главного корня в зоне зрелого эпидермиса у контрольных образцов и растений, обработанных CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях, на пятые сутки (увеличение ×100); б – диаметр главного корня в зоне зрелого эпидермиса на пятые сутки после обработки CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях; в – длина зоны роста растяжением главного корня на пятые сутки после обработки CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях; г – диаметр главного корня в зоне деления на пятые сутки после обработки CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ в различных концентрациях. Данные представлены в виде $X \pm Sx$. Количество образцов в каждой серии экспериментов составляло величину $n = 10–15$. Знаками *, ** и *** отмечены достоверные различия по отношению к контролю ($p < 0,01$, $p < 0,001$ и $p < 0,0001$ соответственно)

Fig. 4. The effect of fivefold treatment with copper oxide nanoparticles CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs on the primary root architecture of *A. thaliana* in vertical culture *in vitro*: a – microphotographs of the primary root in the mature epidermis zone of control samples and plants treated with CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs at various concentrations on the fifth day (magnification ×100); b – diameter of the primary root in the mature epidermis zone on the fifth day after treatment with CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs at various concentrations; c – length of the elongation zone of the primary root on the fifth day after treatment with CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs at various concentrations; d – diameter of the primary root in the division zone on the fifth day after treatment with CuO-NPs and Fe₃O₄-NPs at various concentrations. Data are presented as $X \pm Sx$. The number of samples in each series of experiments was $n = 10–15$. Signs *, ** and *** marked significant differences in relation to control ($p < 0,01$, $p < 0,001$ and $p < 0,0001$ respectively)

Заключение

Проанализирована модификация роста и архитектуры главного корня *A. thaliana* после однократной и пятикратной (раз в сутки) обработки CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ, обладающими значительным потенциалом для использования их в качестве наноудобрений. Установлено, что эффект стимуляции роста проявляется после нанесения CuO-НЧ в концентрации 30 мг/л и Fe₃O₄-НЧ в концентрации 300 мг/л. Более высокие концентрации названных НЧ либо не изменяют рост главного корня, либо ингибируют его. Влияние CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ на архитектуру главного корня проявляется в уменьшении его диаметра в зоне зрелого эпидермиса и зоне деления, а также длины зоны роста растяжением этого органа в присутствии CuO-НЧ и увеличении данных параметров на фоне обработки Fe₃O₄-НЧ (до 1000 мг/л). Таким образом, на примере модельного объекта при соблюдении стандартизованных условий выращивания продемонстрировано, что CuO-НЧ и Fe₃O₄-НЧ, используемые для производства наноудобрений, обладают низкой фитотоксичностью, при этом Fe₃O₄-НЧ проявляют выраженное корнестимулирующее действие при обработке в концентрациях 10; 30; 100 и 300 мг/л.

Библиографические ссылки

1. Zhang P, Ma Y, Zhang Z. Interactions between engineered nanomaterials and plants phytotoxicity uptake translocation, and biotransformation. In: Siddiqui MH, Al-Whaibi MH, Mohammad F, editors. *Nanotechnology and plant sciences: nanoparticles and their impact on plants*. Berlin: Springer; 2015. p. 77–99. DOI: 10.1007/978-3-319-14502-0_5.
2. Wang P, Lombi E, Zhao F, Kopittke PM. Nanotechnology: a new opportunity in plant sciences. *Trends in Plant Science*. 2016; 21(8):699–712. DOI: 10.1016/j.tplants.2016.04.005.
3. Thiruvengadam M, Chi HY, Kim S-H. Impact of nanopollution on plant growth, photosynthesis, toxicity, and metabolism in the agricultural sector: an updated review. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2024;207:108370. DOI: 10.1016/j.plaphy.2024.108370.
4. Khan MU, Ullah H, Honey Sh, Talib Z, Abbas M, Umar A, et al. Metal nanoparticles: synthesis approach, types and applications – a mini review. *Nano-Horizons*. 2023;2:1–21. DOI: 10.25159/NanoHorizons.87a973477e35.
5. Duman H, Eker F, Akdaşçı E, Witkowska AM, Bechelany M, Karav S. Silver nanoparticles: a comprehensive review of synthesis methods and chemical and physical properties. *Nanomaterials*. 2024;14(18):1527. DOI: 10.3390/nano14181527.
6. Peters R, Brandhoff P, Weigel S, Marvin HJP, Bouwmeester H, Aschberger K, et al. Inventory of nanotechnology applications in the agricultural, feed and food sector. *EFSA Supporting Publications*. 2014;11(7):621E. DOI: 10.2903/sp.efsa.2014.EN-621.
7. Toksha BG, Sonawale VAM, Vanarase A, Bornare DT, Tonde Sh, Hazra Ch, et al. Nanofertilizers: a review on synthesis and impact of their use on crop yield and environment. *Environmental Technology & Innovation*. 2021;24:101986. DOI: 10.1016/j.eti.2021.101986.
8. Grillo R, Mattos BD, Antunes DR, Forini MML, Monikh FA, Rojas OJ. Foliation adhesion and interactions with particulate delivery systems for plant nanobionics and intelligent agriculture. *Nano Today*. 2024;37:101078. DOI: 10.1016/j.nantod.2021.101078.
9. Kah M, Tufenkji N, White JC. Nano-enabled strategies to enhance crop nutrition and protection. *Nature Nanotechnology*. 2019; 14(6):532–540. DOI: 10.1038/s41565-019-0439-5.
10. Vega-Vásquez P, Mosier NS, Irudayaraj J. Nanoscale drug delivery systems: from medicine to agriculture. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2020;8:79. DOI: 10.3389/fbioe.2020.00079.
11. Servin A, Elmer W, Mukherjee A, de la Torre-Roche R, Hamdi H, White JC, et al. A review of the use of engineered nanomaterials to suppress plant disease and enhance crop yield. *Journal of Nanoparticle Research*. 2015;17(2):92. DOI: 10.1007/s11051-015-2907-7.
12. Rastogi A, Zivcak M, Sytar O, Kalaji HM, He X, Mbarki S, et al. Impact of metal and metal oxide nanoparticles on plant: a critical review. *Frontiers in Chemistry*. 2017;5:10.3389/fchem.2017.00078.
13. Francis DV, Abdalla AK, Mahakham W, Sarmah AK, Ahmed ZFR. Interaction of plants and metal nanoparticles: exploring its molecular mechanisms for sustainable agriculture and crop improvement. *Environment International*. 2024;190(2):108859. DOI: 10.1016/j.envint.2024.108859.
14. Sosan A, Svistunenko D, Straltsova D, Tsiurkina K, Smolich I, Lawson T, et al. Engineered silver nanoparticles are sensed at the plasma membrane and dramatically modify the physiology of *Arabidopsis thaliana* plants. *Plant Journal*. 2016;85(2):245–257. DOI: 10.1111/tpj.13105.
15. Javaid A, Munir N, Abideen Z, Duarte B, Siddiqui ZSh, Haq R, et al. The potential effects of nanoparticles in gene regulation and expression in mammalian, bacterial and plant cells – a comprehensive review. *Plant Nano Biology*. 2025;11:100145. DOI: 10.1016/j.plana.2025.100145.
16. Zanella D, Bossi E, Gornati R, Faria N, Powell J, Bernardini G. The direct permeation of nanoparticles through the plasma membrane transiently modifies its properties. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 2019;1861(10):182997. DOI: 10.1016/j.bbamem.2019.05.019.
17. Nair PMG, Chung IM. Impact of copper oxide nanoparticles exposure on *Arabidopsis thaliana* growth, root system development, root lignification, and molecular level changes. *Environmental Science and Pollution Research*. 2014;21(22):12709–12722. DOI: 10.1007/s11356-014-3210-3.
18. Nair PMG, Chung IM. Evaluation of stress effects of copper oxide nanoparticles in *Brassica napus* L. seedlings. *3 Biotech*. 2017;7(5):293. DOI: 10.1007/s13205-017-0929-9.
19. Wang X, Xie H, Wang P, Yin H. Nanoparticles in plants: uptake, transport and physiological activity in leaf and root. *Materials*. 2023;16(8):3097. DOI: 10.3390/ma16083097.
20. Naz S, Gul A, Zia M. Toxicity of copper oxide nanoparticles: a review study. *IET Nanobiotechnology*. 2020;14(1):1–13. DOI: 10.1049/iet-nbt.2019.0176.
21. Chung IM, Venkidasamy B, Thiruvengadam M. Nickel oxide nanoparticles cause substantial physiological, phytochemical, and molecular-level changes in Chinese cabbage seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019;139:92–101. DOI: 10.1016/j.plaphy.2019.03.010.

22. Ali Sh, Mehmood A, Khan N. Uptake, translocation, and consequences of nanomaterials on plant growth and stress adaptation. *Journal of Nanomaterials*. 2021;1:1–17. DOI: 10.1155/2021/6677616.
23. Демидчик ВВ, Соколик АИ, Юрин ВМ. Токсичность избытка меди и толерантность к нему растений. *Успехи современной биологии*. 2001;121(5):511–525. EDN: YXZQIH.
24. Lequeux H, Hermans Ch, Lutts S, Verbruggen N. Response to copper excess in *Arabidopsis thaliana*: impact on the root system architecture, hormone distribution, lignin accumulation and mineral profile. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2010;48(8):673–682. DOI: 10.1016/j.plaphy.2010.05.005.
25. Xu E, Liu Y, Gu D, Zhan X, Li J, Zhou K, et al. Molecular mechanisms of plant responses to copper: from deficiency to excess. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(13):6993. DOI: 10.3390/ijms25136993.
26. Кирисюк ЮВ, Демидчик ВВ. Влияние наночастиц меди на рост каллусной культуры, полученной из незрелых зародышей *Triticum aestivum* L. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. 2017;1:23–30.
27. Feigl G. The impact of copper oxide nanoparticles on plant growth: a comprehensive review. *Journal of Plant Interactions*. 2023;18(1):2243098. DOI: 10.1080/17429145.2023.2243098.
28. Festa RA, Thiele DJ. Copper: an essential metal in biology. *Current Biology*. 2011;21(21):R877–R883. DOI: 10.1016/j.cub.2011.09.040.
29. Kopittke PM, Dart PJ, Menzies NW. Toxic effects of low concentrations of Cu on nodulation of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Environmental Pollution*. 2007;145(1):309–315. DOI: 10.1016/j.envpol.2006.03.007.
30. Shaw AK, Ghosh S, Kalaji HM, Bosa K, Brestic M, Ziveck M, et al. Nano-CuO stress induced modulation of antioxidative defense and photosynthetic performance of Syrian barley (*Hordeum vulgare* L.). *Environmental and Experimental Botany*. 2014;102:37–47. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2014.02.016.
31. Song G, Hou W, Gao Y, Wang Y, Lin L, Zhang Z, et al. Effects of CuO nanoparticles on *Lemna minor*. *Botanical Studies*. 2016;57:3. DOI: 10.1186/s40529-016-0118-x.
32. Rui M, Ma Ch, Hao Y, Guo J, Rui Y, Tang X, et al. Iron oxide nanoparticles as a potential iron fertilizer for peanut (*Arachis hypogaea*). *Section Plant Nutrition*. 2016;7:815. DOI: 10.3389/fpls.2016.00815.
33. Feng Y, Kreslavski VD, Shmarev AN, Ivanov AA, Zharmukhamedov SK, Kosobryukhov A, et al. Effects of iron oxide nanoparticles (Fe_3O_4) on growth, photosynthesis, antioxidant activity and distribution of mineral elements in wheat (*Triticum aestivum*) plants. *Plants*. 2022;11(14):1894. DOI: 10.3390/plants11141894.
34. Zia-ur-Rehman M, Naeem A, Khalid H, Rizwan M, Ali S, Azhar M. Responses of plants to iron oxide nanoparticles. *Nanomaterials in Plants, Algae, and Microorganisms*. 2018;1:221–238. DOI: 10.1016/B978-0-12-811487-2.00010-4.
35. Marschner H. Mineral nutrition of higher plants. London: Academic Press; 1995. XV, 889 p.
36. Bergmann W, editor. *Nutritional disorders of plants: development, visual and analytical diagnosis*. Jena: Gustav Fischer; 1992. 788 p.
37. Kim J-H, Lee Y, Kim E-J, Gu S, Sohn E, Seo YS, et al. Exposure of iron nanoparticles to *Arabidopsis thaliana* enhances root elongation by triggering cell wall loosening. *Environmental Science & Technology*. 2014;48(6):3477–3485. DOI: 10.1021/es4043462.
38. Bombin S, LeFebvre M, Sherwood J, Xu Y, Bao Y, Ramonell KM. Developmental and reproductive effects of iron oxide nanoparticles in *Arabidopsis thaliana*. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015;16(10):24174–24193. DOI: 10.3390/ijms161024174.

Получена 09.04.2025 / исправлена 05.05.2025 / принята 08.05.2025.
Received 09.04.2025 / revised 05.05.2025 / accepted 08.05.2025.