

ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК ЦИНК ЦИТРАТУ НА МОРФОГЕНЕЗ І ЦИТОГЕНЕЗ РОСЛИННОГО ТЕСТ-ОБ'ЄКТУ *ALLIUM SERA*

Пігут О.Д.

Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка

Науковий керівник – Клепач Г.М., кандидат біологічних наук,
доцент кафедри біології та хімії Дрогобицького державного педагогічного університету
імені Івана Франка

Останніми роками у зв'язку з активним розвитком та впровадженням нанотехнологій не тільки у біологію й медицину [11], але й народне господарство [2], дослідження впливу наночастинок деяких біогенних металів на морфогенез рослин є актуальною темою, оскільки відкриває нові перспективи для їх практичного застосування у рослинництві [1-3].

Прикладів композиційних фітозасобів на ринку біопрепаратів, що містять наночастинок біогенних елементів є чимало. Серед них, запатентовані біокомпозитні засоби для підвищення стійкості рослин до стресових умов, їх продуктивності, якості сільськогосподарської продукції [4; 5]. Особливу увагу заслуговують ті фітопрепарати, які додатково компонуються наночастинками металів, які, на відміну від їх солей, що звично застосовуються у складі мінеральних добрив, на думку розробників, є більш функціональними й біодоступними для рослин завдяки кращій проникності і, до того ж, розцінюються як екологічно безпечні для довкілля [3]. Особлива увага дослідників останніми роками сконцентрована на фітоксичності чи нетоксичності новосинтезованих нанопрепаратів, залежно від природи їх походження та визначенні їх фізіологічно активних концентрацій стосовно різних сільськогосподарських рослин [12].

До низки новосинтезованих наночастинок методами акватехнологій відносяться цитрати деяких біогенних металів, які виявляють позитивний вплив на серцево-судинну та імунну системи організмів, антиоксидантну й радіопротекторну дії [6]. Тому дослідження впливу наночастинок, зокрема цинк цитрату, що містить біогенний метал, важливий для нормального перебігу морфогенетичних процесів рослин, може мати перспективу використання у рослинництві як біодобавка чи бути складником фітопрепаратів, а тому є актуальним питанням.

Метою роботи є дослідити вплив наночастинок цинк цитрату на морфо- й цитогенез рослинного тест-об'єкту *Allium sera*.

У роботі використовували наночастинок цинк цитрату, люб'язно надані ТОВ «Наноматеріали і нанотехнології» (м. Київ). Наночастинок цинк цитрату авторами патенту були синтезовані двоетапно методом аквананотехнології [7].

Для виконання поставленої мети було: по-перше, визначено вплив наночастинок цинк цитрату на ростову й мітототичну активність корінців цибулин рослинного тест-об'єкту *Allium sera* та, по-друге, визначено здатність

досліджуваних наночастинок індукувати хромосомні мутації та мікроядра у клітинах меристеми корінців *A. сера* ана-телофазним методом у поєднанні з мікроядерним тестом.

Оцінку впливу розчинів наночастинок цинк цитрату у діапазоні концентрацій 0,01-0,5 мг/л здійснювали модифікованим варіантом *Allium*-тесту, у якому рослинний об'єкт (цибулини *A. сера* сорту Штутгарт) поміщали у водні розчини досліджуваних наночастинок без попереднього пророщування корінців [10].

Загальну токсичність наночастинок цинк цитрату та їх фітотоксичність визначали ростовим тестом, використовуючи стандартну рослинну тест-систему *A. сера*. Після закінчення часу експозиції (через 5 діб росту корінців) у контрольних (дистильована вода) і дослідних варіантах аналізували тургесценцію, зміну кольору та форми кінчиків корінців цибулин *A. сера* та вимірювали їх довжину (у мм) [9], обраховували середнє значення (М) і його похибку (m).

Фітотоксичність наночастинок цинк цитрату оцінювали індексом фітотоксичності (IFT_%), який обчислювали за формулою:

$$\text{IFT}_{\%} = (\text{M}_\text{к} - \text{M}_\text{Е}) / \text{M}_\text{к} \cdot 100\%,$$

де $\text{M}_\text{к}$ – середнє значення довжини корінців цибулин *A. сера* контрольного варіанту; $\text{M}_\text{Е}$ – середнє значення довжини корінців цибулин дослідного варіанту.

Цитотоксичність розчинів наночастинок цинк цитрату оцінювали мітотичним індексом (МІ,%) та індексом цитотоксичності (ІЦТ_%) [9]. МІ – показник клітин меристеми корінців цибулин *A. сера*, що діляться (сума клітин, які перебувають на стадії про-, мета-, ана- й телофази) до загального числа усіх клітин. ІЦТ визначали за формулою:

$$\text{ІЦТ}_{\%} = (\text{МІ}_\text{д} - \text{МІ}_\text{к}) / \text{МІ}_\text{к} \cdot 100\%,$$

де $\text{МІ}_\text{д}$ – середнє значення мітотичного індексу корінців цибулин *A. сера* дослідного варіанта; $\text{МІ}_\text{к}$ – середнє значення мітотичного індексу корінців контролю. Генотоксичність розчинів наночастинок цинк цитрату різних концентрацій (0,01-0,5 мг/л) оцінювали частотою хромосомних мутацій, яку визначали у ана-телофазному методі (у поєднанні з мікроядерним тестом) згідно з методикою Прохорової і співав. (2003), яка ураховує усі ана- й телофази на препаратах, серед яких відмічаються аберантні [10]. На цитопрепаратах меристем корінців цибулин *A. сера*, вирощених на розчинах наночастинок цинк цитрату, аналізували ана- й телофази з різними типами аберацій, а також інтерфазні клітини з додатковими ядрами. Частоту мутацій (ЧМ_%) (хромосомних аберацій, відставань, мікроядра) обчислювали за формулою:

$$\text{ЧМ}_{\%} = (\text{АБ} + \text{відс.} + \text{мкя}) / (\text{N}(\text{А} + \text{Т}) \times 100\%,$$

де $\text{АБ} + \text{відс.} + \text{мкя}$ – сума аберантних клітин на стадіях ана- й телофази; $\text{N}(\text{А} + \text{Т})$ – загальна кількість проаналізованих ана- й телофаз на препаратах.

Досліди проводились не менш як у трьох біологічних та трьох аналітичних повторностях. Для кожної вибірки показників визначали середнє арифметичне (M), стандартну похибку середнього (m), коефіцієнт Стюдента (t) та достовірність (p). Дані вважали достовірними за рівня значущості $p \leq 0,05$.

У результаті проведених досліджень було з'ясовано, що водні розчини наночастинок цинк цитрату у діапазоні концентрацій 0,01-0,5 мг/л не спричиняють змін тургесценції, форми й кольору корінців *A. сера*, однак знижують їх ростову активність у 1,17-2,86 рази. Визначено, що водні розчини наночастинок цинк цитрату у діапазоні концентрацій 0,01-0,5 мг/л спричиняють фітотоксичність середнього й високого рівня ($IFT\%$ є у межах 15-65%) стосовно ростової активності корінців *A. сера*. Методом *Allium*-тесту встановлено, що водні розчини наночастинок цинк цитрату залежно від концентрації мають середню (0,05 мг/л) й слабку (0,5 мг/л) цитотоксичну дію на мітотичну активність клітин меристеми тест-об'єкту *A. сера*: їх мітотичні індекси (MI) знижуються до 42,4-23,6% (напротивагу контролю, MI якого 80,5%), а показники цитотоксичності ($ПЦТ$) – до 47,3-70,6%. Ана-телофазним аналізом у поєднанні з мікроядерним тестом встановлено, що розчини наночастинок цинк цитрату у діапазоні концентрацій 0,01-0,5 мг/л чинять слабку генотоксичну дію, індукуючи незначне зростання частоти хромосомних мутацій у 1,34-2,13 рази з відсутністю достовірного зростання частки клітин з мікроядерами (0-1,28%) у клітинах меристеми корінців тест-об'єкту *A. сера* порівняно з контролем.

Робота виконана на базі кафедри біології та хімії ДДПУ імені Івана Франка в рамках наукової теми.

Список використаних джерел:

1. Використання біологічних властивостей наночастинок металів при вирощуванні зернових / Н. Ю. Таран, Л. М. Бацманова, К. Г. Лопатько, С. М. Каленська // Фізика живого. 2011. Том 19. № 2. С. 54–58.
2. Использование биологических активных препаратов на основе наночастиц металлов в медицине и сельском хозяйстве / [И. П. Арсентьева, Н. Н. Глущенко, Г. В. Павлов и др.]. М.: Государственный Открытый Университет, 2000. С. 17.
3. Лопатько К. Г., Афтандіянц Є. Г., Зазимко О. В. Застосування наночастинок металів – екологічно безпечна технологія вирощування пшениці озимої // НУБіПУ. 2011. Т. 158. С. 119–125.
4. Опис до патенту на винахід UA54950. Засіб для передпосівної обробки насіння сільськогосподарських культур / В. Г. Каплуненко, М. В. Косінов. – Опубліковано: 25.11.2010.
5. Опис до патенту на винахід UA90510. Композиційний препарат для підвищення продуктивності сільськогосподарських культур / В. Є. Косих, С. М. Герасименко, П. Г. Дульнєв. – Опубліковано: 11.05.2010.
6. Оцінка токсичності цитратів біметалів, отриманих за нанотехнологією / М. П. Гуліч, Л. А. Томашевська, Н. Л. Емченко, О. О. Харченко // Інф. лист № 89-2013, Урмедпатентінформ МОЗ України. К., 2013. 4 с.
7. Патент України на корисну модель № 38391. Спосіб отримання карбоксилатів металів. Нанотехнологія отримання карбоксилатів металів / М. В. Косінов, В. Г. Каплуненко. Опубл. 12.01.2009. Бюл. № 1/2009.

8. Письменна Ю. М., Панюта О. О., Таран Н. Ю. Вплив передпосівної обробки насіння наночастками срібла та міді на ріст і водоутримуючу здатність проростків озимої пшениці // Чорноморський ботанічний журнал. 2018. №1(14). С. 26–31.
9. Прохорова И. М., Ковалева М. И., Фомичева А. Н. Оценка митотоксического и мутагенного действия факторов окружающей среды : метод. указания. Ярославль : Яросл. гос. ун-т., 2003. 32 с.
10. Прохорова И. М. Система тестов для оценки генотоксической активности факторов среды. Ярославль : Яросл. гос. ун-т., 2001. С. 56–61.
11. Трахтенберг І. М., Дмитруха Н. М. Наночастинки металів, методи отримання, сфери застосування, фізико-хімічні та токсичні властивості // *Український журнал з проблем медицини праці*. 2013. №4(37). С. 62–74.
12. Чекман І. С. Наночастинки: властивості та перспективи застосування // *Український біохімічний журнал*. 2009. № 1. С. 122–129.
13. Fiskesjo G. The *Allim test* as a standart in environmental monitoring. *Hereditas*. N102. 1985. P. 99–112.