

УДК 581.1:546.824-31

DOI 10.5281/ZENODO.20795196

РЕАКЦИЯ ОВСА ПОСЕВНОГО НА ПРИСУТСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА В ПИТАТЕЛЬНОМ СУБСТРАТЕ

Сытников Д. М., Мусса А., Косовская М. А, Губарев Ф. А.

Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия
E-mail: sytnikov@list.ru

В вегетационном эксперименте изучали реакцию овса посевного (*Avena sativa* L.) на присутствие в песчаном питательном субстрате наночастиц диоксида титана (TiO_2). Показано, что наночастицы в концентрациях 10, 100 и 1000 мг/кг могут стимулировать ризогенез овса, а также снижать содержание хлорофиллов *a* и *b* в листьях растений при сохранении компенсированной работы фотосинтетического аппарата. Повышенное содержание наночастиц в питательной среде (100 и 1000 мг/кг) приводит к снижению активности каталазы и росту активности пероксидазы в корнях и листьях, что служит показателем развития окислительного стресса и запуска адаптационных механизмов у растений. В этих условиях также наблюдалось увеличение числа зёрен в соцветиях овса, однако при максимальной дозе (1000 мг/кг) отмечалось снижение массы тысячи зёрен на 70 %. Воздействие наночастиц диоксида титана носит дозозависимый характер: от стимуляции отдельных ростовых показателей при низких концентрациях до выраженного фитотоксического эффекта при высоких.

Ключевые слова: *Avena sativa* L., наночастицы диоксида титана, фотосинтетические пигменты, антиоксидантные ферменты, структура урожая, продуктивность растений.

ВВЕДЕНИЕ

Широкое применение наночастиц металлов и их оксидов в промышленности, сельском хозяйстве и медицине, обусловленное их уникальными физико-химическими свойствами (высокая удельная поверхность и химическая активность), сопряжено с рисками загрязнения окружающей среды и негативного воздействия на живые организмы [1–4]. Проникновение наночастиц в клетки зависит от ряда характеристик – размера и формы частиц, их химического состава, поверхностного заряда (дзета-потенциала) и концентрации в суспензии. Важную роль также играют модификации поверхности (покрытие полиэтиленгликолем, целевыми лигандами и т.д.), которые могут целенаправленно регулировать клеточное поглощение. Следует отметить, что наноматериалы размером 1–100 нм проявляют биологическую активность, отличную от свойств того же вещества в макродисперсной форме [4, 5].

Последние исследования подтверждают эффективность использования наночастиц отдельных металлов в отношении растений [6] и животных [7]. Наночастицы диоксида титана (TiO_2) характеризуются рядом достоинств, среди которых фотокаталитическая активность, высокая химическая и термическая стабильность [8], а также сравнительно невысокая стоимость. Тем не менее,

требуется дальнейшее изучение биосовместимости наночастиц с живыми организмами. В частности, необходимо исследовать механизмы их поглощения и накопления, вызываемый у различных организмов окислительный стресс и токсическое действие, а также оценить потенциальные риски для экосистем в целом [2].

Необходимо исследовать отрицательное воздействие наночастиц металлов и их оксидов на различных уровнях биологической организации [9]. По имеющимся данным [10] наночастицы диоксида титана в высоких концентрациях не оказывают токсического действия на некоторые виды бактерий и низших ракообразных, однако их длительное воздействие может негативно сказываться на водных организмах, способствуя биоаккумуляции этих частиц [9]. Известно [2, 11] также, что проникновение наночастиц диоксида титана и других металлов в организм млекопитающих индуцирует токсические эффекты, опосредованные развитием окислительного стресса, запуском воспалительной реакции и последующим повреждением клеток. Единого установленного механизма действия для всех типов наночастиц нет.

Влияние наночастиц диоксида титана на растительные организмы зависит от их концентрации и вида растения. Показаны как положительные (стимуляция прорастания и роста, повышение содержания хлорофилла, фитопротекторные свойства), так и отрицательные (подавление ростовых реакций высокими концентрациями, окислительное повреждение тканей) эффекты [2, 12, 13]. Получены также результаты [14], указывающие на синергическое воздействие наночастиц диоксида титана и нанопластика, пагубно отражающееся на растениях.

Механизмы морфологических, клеточных и молекулярных изменений у растений под влиянием различных концентраций наночастиц металлов, а также сама направленность их воздействия на рост и развитие остаются недостаточно изученными. Цель данного исследования – изучить физиолого-биохимические изменения в развитии овса посевного (*Avena sativa* L.) в условиях присутствия различных концентраций наночастиц диоксида титана в питательном субстрате.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования был выбран овёс посевной (*Avena sativa* L.), сорт Скакун. Данный выбор обусловлен высокой устойчивостью сорта к абиотическим стрессам, таким как засуха, и биотическим факторам, включая корончатую ржавчину (*Puccinia coronata*) и пыльную головню (*Ustilago nuda*). Овёс является эффективным индикатором токсических воздействий благодаря своей чувствительности [15]. Он широко применяется в фитотестировании из-за стабильности и воспроизводимости получаемых результатов, рекомендован [16] для оценки уровня загрязнения почв тяжёлыми металлами и прочими веществами антропогенной природы.

Вегетационный опыт проводился в условиях фитотрона при постоянной влажности субстрата выращивания (60 %), контролируемой температуре (22–25 °С) и относительной влажности воздуха около 70 %. Уровень освещения от 20 000 люксов (lx), фотопериод – 24 ч (1–8 сут от посева) или 16 ч (с 9 сут). Семена

высевали в промытый речной песок из расчёта 35 шт. / сосуд (объём сосудов Вагнера – 7 кг). После прореживания в каждом вегетационном сосуде оставляли по 25 растений. Песчаный субстрат перед посевом обогащали питательной смесью Гельригеля [17], содержащей комплекс микроэлементов: H_3BO_3 , MoO_3 , MnSO_4 , CuSO_4 . В состав смеси входила *полная норма азота* (1,0) в виде нитрата кальция – 708 мг $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ на 1 кг песка.

Растения культивировали на песчаном питательном субстрате с добавлением наночастиц диоксида титана (TiO_2) в трёх концентрациях: 10, 100 и 1000 мг/кг. Характеристики наночастиц: размер – 49 нм, насыпная плотность – 0,5–2,0 г/см³ (согласно ТУ 1791-002-36280340-2005). В качестве контроля использовали растения, выращенные на субстрате, не содержащем наночастиц.

Отбор образцов для изучения физиолого-биохимических параметров осуществляли с наступлением следующих фаз развития растений: 1) двух листьев (8-е сут после всходов), 2) кущения (22-е сут), 3) начала колошения (48-е сут) и 4) твёрдой спелости зерна (70-е сут). Исследовали корни и листья растений среднего яруса, без признаков увядания; анализировалась структура урожая.

Содержание хлорофилла и каротиноидов определяли на фотометре КФК-3-01 («ЗОМЗ», Россия). Экстракцию проб растительного материала (0,1 г) проводили в диметилсульфоксиде (ДМСО) согласно методу Веллбёрна в течение 120 мин при 40 °С. Оптическую плотность измеряли при длинах волн 465, 649 и 665 нм (толщина кюветы – 1 см).

Для *оценки антиоксидантных свойств* растительных тканей анализировали активность ферментов пероксидазы (КФ 1.11.1.7) и каталазы (КФ 1.11.1.6). Анализ проводили в экстрактах, полученных путём гомогенизации сырого растительного материала в дистиллированной воде с последующим фильтрованием. Определение *пероксидазной активности* проводилось согласно методике [19], где фиксировалось время, необходимое для достижения определенной степени оптической плотности растворов вследствие реакции окисления бензидина с образованием окрашенных соединений. Определения проводили с красным светофильтром при длине волны 670 нм на фотометре марки КФК-3-01 («ЗОМЗ», Россия). При обработке результатов оптическую плотность пересчитывали на 1 г исходного растительного материала и 1 с, используя выражение $\Delta D_{670} \text{ г}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$. Для оценки *каталазной активности* применяли газометрический способ [19], фиксируя объём выделившегося кислорода, нормируя данные на массу пробы и временной интервал ($\text{мл O}_2 \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$).

Полученные экспериментальные данные обрабатывались *методами статистики*, изложенными в руководстве Доспехова [20]. Данные в таблицах представлены как среднее значение $\pm$ стандартная ошибка (SE). Различия между выборками считались статистически достоверными при $p \leq 0,05$ (по критерию НСР).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В вегетационном опыте изучали, как разные концентрации наночастиц диоксида титана (TiO_2) влияют на рост и развитие овса посевного (*Avena sativa* L.). Эксперимент заключался во внесении наночастиц в песчаный субстрат,

предварительно обогащённый питательными веществами, – в трёх тестовых дозировках: 10, 100, 1000 мг/кг.

Анализ данных таблицы 1 показывает, что достоверное влияние наночастиц диоксида титана (TiO_2) на накопление вегетативной массы овса по сравнению с контролем проявилось в фазу кущения. Внесение TiO_2 во всех исследованных концентрациях (10, 100 и 1000 мг/кг) стимулировало ризогенез, что выражалось в увеличении прироста корневой массы. Наиболее значительное увеличение надземной биомассы было зафиксировано при максимальной дозе (1000 мг/кг) также в фазу кущения. С наступлением начала колошения положительный эффект от использования диоксида титана в отношении надземной массы нивелировался. Полученные данные частично согласуются с сообщениями [12, 13] о положительном влиянии диоксида титана на рост растений, включая стимуляцию прорастания семян и увеличение содержания хлорофилла.

Таблица 1

Изменение показателей вегетативной массы (г/растение) овса посевного (*Avena sativa* L.), выращенного на субстрате с содержанием различных концентраций наночастиц диоксида титана

Концентрация наночастиц, мг/кг	Фаза развития растений				
	Двух листьев		Кущение		Начало колошения
	надземная масса	длина стебля, см	надземная масса	масса корня	надземная масса
0 (контроль)	$0,22 \pm 0,04$	$20,57 \pm 1,74$	$0,95 \pm 0,16$	$0,27 \pm 0,04$	$2,35 \pm 0,51$
10	$0,21 \pm 0,03$	$19,87 \pm 2,03$	$1,17 \pm 0,19$	$0,59 \pm 0,15^*$	$2,77 \pm 0,58$
100	$0,22 \pm 0,03$	$21,27 \pm 1,49$	$1,18 \pm 0,17$	$0,47 \pm 0,09^*$	$2,15 \pm 0,48$
1000	$0,22 \pm 0,04$	$21,43 \pm 1,57$	$1,28 \pm 0,13^*$	$0,57 \pm 0,14^*$	$2,67 \pm 0,37$

Примечание: «*» – разница достоверна в сравнении с контролем.

Физиологические возможности растений зависят от биохимической организации пигментного комплекса, качественный и количественный состав которого рассматривают [21] как один из возможных показателей адаптированности растений к условиям существования. В ходе исследований установлено, что внесение наночастиц диоксида титана в питательный субстрат приводит к достоверному снижению содержания хлорофиллов *a* и *b* в листьях овса посевного (фазы двух настоящих листьев и кущения), что отражено в таблице 2. Необходимо отметить, что выявленный эффект не зависел от использованных доз (10, 100 и 1000 мг/кг) наночастиц в субстрате, а в фазу колошения также нивелировался вместе с изменениями в нарастании надземной массы растений.

В норме соотношение хлорофиллов *a* и *b* ($\text{Chl } a / \text{Chl } b$) у большинства наземных растений колеблется в пределах 2,0–3,5. Отклонения от этого диапазона могут свидетельствовать об адаптивных перестройках пигментного комплекса [22]. Данный показатель может меняться под воздействием антропогенных факторов и в силу видовых особенностей растений, что отражает

либо преимущественное разрушение одного из пигментов, либо активацию синтеза другого.

Таблица 2

Фотосинтетические пигменты (мг/г сырой массы) в листьях овса посевного (*Avena sativa* L.) при различных концентрациях наночастиц диоксида титана в субстрате выращивания

Концентрация наночастиц, мг/кг	Фаза развития растений								
	Двух листьев			Кущение			Начало колошения		
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>car</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>car</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>car</i>
0 (контроль)	2,08 ± 0,02	0,81 ± 0,02	0,33 ± 0,02	2,64 ± 0,06	1,33 ± 0,09	0,34 ± 0,02	1,50 ± 0,27	0,61 ± 0,15	0,20 ± 0,02
10	1,76 ± 0,16*	0,80 ± 0,16	0,26 ± 0,03	2,10 ± 0,11*	0,86 ± 0,06*	0,30 ± 0,02	2,01 ± 0,23	0,71 ± 0,01	0,22 ± 0,01
100	1,84 ± 0,04*	0,75 ± 0,01*	0,27 ± 0,08	2,10 ± 0,30*	0,88 ± 0,12*	0,29 ± 0,03	1,93 ± 0,23	0,79 ± 0,23	0,21 ± 0,01
1000	1,75 ± 0,12*	0,65 ± 0,07*	0,29 ± 0,02	2,38 ± 0,07*	0,95 ± 0,04*	0,35 ± 0,01	2,02 ± 0,25	0,94 ± 0,19	0,19 ± 0,01

Примечание: «*» – разница достоверна в сравнении с контролем.

Внесение наночастиц диоксида титана в субстрат не оказывало статистически значимого влияния на соотношение фотосинтетических пигментов в листьях овса посевного (см. табл. 2). На протяжении исследованных фаз развития растений (фаза двух листьев, кущения и начала колошения) соотношение хлорофиллов *a/b* оставалось в диапазоне 2,0–2,8, что свидетельствует о сохранении компенсированной работы их фотосинтетического аппарата.

Важными компонентами антиоксидантной системы растений, помимо их роли в фотосинтезе, являются каротиноиды. Эти соединения выполняют защитную функцию, нейтрализуя свободные радикалы, которые образуются в клетках листьев и других органов в ходе метаболических процессов [23]. Согласно полученным данным, содержание каротиноидов у *Avena sativa* L. не претерпевало существенных изменений под влиянием наночастиц диоксида титана в питательном субстрате (см. табл. 2).

Ключевую роль в регуляции окислительных процессов клетки играют ферменты пероксидаза и каталаза, обеспечивающие утилизацию пероксида водорода и поддержание окислительно-восстановительного гомеостаза. Изменения в качестве и активности этих ферментов могут служить индикатором реакции растений на неблагоприятные условия окружающей среды и использоваться для оценки их способности адаптироваться к этим условиям [24].

В листьях овса посевного, выращенного на субстрате с добавлением наночастиц диоксида титана в концентрациях 100 и 1000 мг/кг, было зафиксировано достоверное снижение активности каталазы по сравнению с контрольным вариантом на всех фазах развития (табл. 3). В то же время отмечено достоверное повышение активности пероксидазы листьев в фазах кущения и начала колошения.

Так, в фазу начала колошения у растений овса, выращенных на субстрате с максимальной концентрацией наночастиц диоксида титана (1000 мг/кг), зафиксировано статистически значимое снижение активности каталазы до минимального значения – $8,20 \pm 0,09$ мл $O_2 \cdot г^{-1} \cdot мин^{-1}$. Этот эффект может являться биохимическим маркером развития окислительного стресса в ответ на токсическое воздействие наночастиц, что отражает адаптационные возможности растительного организма в неблагоприятных условиях.

Таблица 3

Влияние различных концентраций наночастиц диоксида титана в субстрате выращивания на активность антиоксидантных ферментов листьев овса посевного (*Avena sativa* L.)

Концентрация наночастиц, мг/кг	Фаза развития растений					
	Двух листьев		Кушение		Начало колошения	
	каталаза, мл $O_2 \cdot г^{-1} \cdot мин^{-1}$	пероксидаз а, $\Delta D_{670} г^{-1} \cdot с^{-1}$	каталаза, мл $O_2 \cdot г^{-1} \cdot мин^{-1}$	пероксидаз а, $\Delta D_{670} г^{-1} \cdot с^{-1}$	каталаза, мл $O_2 \cdot г^{-1} \cdot мин^{-1}$	пероксидаз а, $\Delta D_{670} г^{-1} \cdot с^{-1}$
0 (контроль)	$13,89 \pm 0,96$	$0,86 \pm 0,02$	$14,97 \pm 0,68$	$0,73 \pm 0,02$	$13,42 \pm 0,11$	$0,51 \pm 0,01$
10	$13,87 \pm 0,49$	$0,85 \pm 0,02$	$13,87 \pm 0,49$	$0,77 \pm 0,02$	$13,20 \pm 0,11$	$0,61 \pm 0,01^*$
100	$11,11 \pm 0,48^*$	$0,89 \pm 0,01$	$12,32 \pm 0,43^*$	$0,81 \pm 0,02^*$	$11,66 \pm 0,82^*$	$0,67 \pm 0,01^*$
1000	$8,87 \pm 0,49^*$	$0,86 \pm 0,01$	$9,99 \pm 0,84^*$	$0,83 \pm 0,01^*$	$8,20 \pm 0,09^*$	$0,70 \pm 0,01^*$

Примечание: «*» – разница достоверна в сравнении с контролем.

Анализ данных, представленных в таблице 4, показывает, что активность антиоксидантных ферментов была распределена неравномерно между органами растения. В корнях овса посевного наблюдался более низкий уровень активности каталазы и пероксидазы по сравнению с листьями надземной части (см. табл. 3). При внесении наночастиц диоксида титана в концентрациях 100 и 1000 мг/кг наблюдались достоверные изменения активности изученных ферментов: активность каталазы уменьшалась, а активность пероксидазы увеличивалась. Обнаруженные эффекты в изменении активности антиоксидантных ферментов в корнях овса посевного в целом соответствовали данным по особенностям их активности в листьях растений (см. табл. 3).

Одним из ключевых механизмов фитотоксического действия наночастиц является индукция окислительного стресса, сопряжённая с избыточным накоплением в растительных тканях активных форм кислорода (АФК). При этом описана [24] двойственная роль наночастиц: они могут сами выступать как триггеры окислительного стресса или как факторы-адаптогены, способствующие подавлению стресса и повышению эффективности антиоксидантной системы растений при действии других негативных факторов. Снижение активности каталазы при одновременном повышении активности пероксидазы в листьях *Avena sativa* L. свидетельствует о развитии окислительного стресса и запуске адаптационных механизмов растения в ответ на токсическое действие повышенных концентраций диоксида титана в питательном субстрате.

Таблица 4

Влияние различных концентраций наночастиц диоксида титана в субстрате выращивания (фаза кушения) на активность антиоксидантных ферментов корней овса посевного (*Avena sativa* L.)

Концентрация наночастиц, мг/кг	Каталаза, мл ($O_2 \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$)	Пероксидаза ($\Delta D_{670} g^{-1} \cdot c^{-1}$)
0 (контроль)	$5,56 \pm 0,48$	$0,19 \pm 0,01$
10	$5,10 \pm 0,09$	$0,21 \pm 0,01$
100	$4,11 \pm 0,25^*$	$0,25 \pm 0,01^*$
1000	$3,11 \pm 0,20^*$	$0,25 \pm 0,01^*$

Примечание: «*» – разница достоверна в сравнении с контролем.

Согласно данным, представленным в таблице 5, внесение в питательный субстрат наночастиц TiO_2 в изучаемом диапазоне концентраций (10–1000 мг/кг) не привело к статистически значимым изменениям основных элементов структуры урожая овса посевного. В частности, высота растений и длина их соцветий оставались на уровне контрольных значений. В то же время концентрации 100 и 1000 мг/кг вызывали достоверное увеличение количества зёрен в метёлке. Однако данный эффект не приводил к увеличению урожайности, поскольку масса тысячи зёрен оставалась сопоставимой с контролем или статистически значимо снижалась.

Таблица 5

Оценка влияния различных концентраций наночастиц диоксида титана, внесённых в питательный субстрат, на элементы структуры урожая овса посевного (*Avena sativa* L.)

Концентрация наночастиц, мг/кг	Высота растения, см	Длина соцветия, см	Зерно		
			шт./соцветие	г/сосуд	масса 1000 шт., г
0 (контроль)	$82,17 \pm 5,71$	$13,14 \pm 1,24$	$8,37 \pm 1,18$	$6,52 \pm 0,59$	$31,16 \pm 2,82$
10	$86,45 \pm 6,71$	$13,06 \pm 1,68$	$8,56 \pm 1,87$	$6,03 \pm 0,84$	$28,18 \pm 3,92$
100	$84,92 \pm 5,38$	$14,50 \pm 1,68$	$16,20 \pm 2,13^*$	$11,30 \pm 0,14^*$	$27,90 \pm 0,54$
1000	$86,65 \pm 6,35$	$13,71 \pm 1,38$	$13,70 \pm 2,14^*$	$7,51 \pm 0,19$	$21,93 \pm 0,55^*$

Примечание: «*» – разница достоверна в сравнении с контролем.

Масса тысячи зёрен овса обычно варьирует в зависимости от сорта, климатических условий и агротехнических приёмов, средние показатели колеблются в пределах от 25 до 45 г / 1000 шт. Выращивание овса на питательном субстрате, содержащем 1000 мг/кг наночастиц диоксида титана (см. табл. 5), приводило к снижению массы тысячи зёрен на 70 %. Это свидетельствует об отрицательном влиянии на продукционный процесс высоких доз наночастиц диоксида титана, вносимого в субстрат выращивания растений.

Полученные данные свидетельствуют о том, что снижение урожайности овса посевного (*Avena sativa* L.) обусловлено комплексом физиолого-биохимических изменений. К ним относятся снижение содержания фотосинтетических пигментов на ранних этапах развития и модуляция активности антиоксидантных ферментов. Воздействие наночастиц диоксида титана носит дозозависимый характер: в определённом диапазоне концентраций оно может быть нейтральным или стимулировать ризогенез и формирование зерна, тогда как при высоких дозах проявляется фитотоксичность, ингибирующая продуктивность.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Наночастицы диоксида титана обладают преимуществами, такими как фотокаталитическая активность, стабильность и дешевизна получения, однако требуется изучение их биосовместимости с живыми организмами и возможного токсического влияния в экосистемах. Они могут как стимулировать рост растений, так и вызывать окислительный стресс и нежелательные эффекты. При этом механизмы их воздействия на растения и другие организмы остаются недостаточно изученными.
2. Внесённые в субстрат выращивания овса посевного (*Avena sativa* L.) наночастицы диоксида титана снижают содержание хлорофиллов *a* и *b* в листьях растений в фазах двух настоящих листьев и кущения, независимо от используемой концентрации (10, 100 и 1000 мг/кг). В фазу колошения этот эффект нивелировался. Стабильность соотношения хлорофиллов *a/b* в диапазоне 2,0–2,8 на всех этапах онтогенеза свидетельствует о сохранении компенсированной работы фотосинтетического аппарата, несмотря на снижение общего содержания пигментов.
3. Присутствие в питательном субстрате повышенных концентраций наночастиц диоксида титана (100 и 1000 мг/кг) снижает активность каталазы и повышает активность пероксидазы листьев и корней овса посевного, что указывает на проявление окислительного стресса и адаптацию растений к сложившимся условиям существования. Эти изменения могут быть связаны с накоплением активных форм кислорода и ролью наночастиц как триггеров стресса.
4. Содержание в субстрате выращивания овса посевного наночастиц диоксида титана может приводить к стимуляции ризогенеза. Повышенные концентрации наночастиц (100 и 1000 мг/кг) ведут к увеличению количества зёрен в соцветиях, в то же время высота растений и длина их соцветий остаются без изменений. Выращивание овса на питательном субстрате, содержащем 1000 мг/кг наночастиц диоксида титана, снижало массу тысячи зёрен на 70 %, что свидетельствует о токсическом воздействии высоких концентраций наночастиц на растения.

Список литературы

1. Negrescu A. M. Metal oxide nanoparticles: review of synthesis, characterization and biological effects / A. M. Negrescu, M. S. Killian, S. N. V. Raghu [et al.] // Journal of Functional Biomaterials. – 2022. – Vol. 13, Iss. 4. – P. 274. – DOI: 10.3390/jfb13040274.

2. Авалдугубах М. Биологическая роль наночастиц металлов и их оксидов / М. Авалдугубах, Д. М. Сытников, Ф. А. Губарев // Экологический Вестник Северного Кавказа. – 2025. – Т. 21, № 4. – С. 13–28. – EDN AWXMUK.
3. Ahmad F. Unique properties of surface-functionalized nanoparticles for bio-application: functionalization mechanisms and importance in application / F. Ahmad, M. M. Salem-Bekhit, F. Khan [et al.] // Nanomaterials (Basel). – 2022. – Vol. 12, Iss. 8. – P. 1333. – DOI: 10.3390/nano12081333.
4. Дыкман Л. А. Взаимодействие растений с наночастицами благородных металлов / Л. А. Дыкман, С. Ю. Щёголев // Сельскохозяйственная биология. – 2017. – Т. 52, № 1. – С. 13–24. – DOI: 10.15389/agrobiology.2017.1.13rus.
5. Schwab F. Barriers, pathways and processes for uptake, translocation and accumulation of nanomaterials in plants – critical review / F. Schwab, G. Zhai, M. Kern [et al.] // Nanotoxicology. – 2016. – Vol. 10, Iss. 3. – DOI: 10.3109/17435390.2015.1048326.
6. Пономарёв Ю. О. Экономическое обоснование применения нанопорошков металлов и микроэлементов в кормопроизводстве и семеноводстве клевера в Нечернозёмной зоне России / Ю. О. Пономарёв, А. Г. Прудникова, А. Д. Прудников, С. В. Семченкова // Московский экономический журнал. – 2017. – № 1. – С. 109–119. – EDN YKMUCL.
7. Michalak I. The effect of metal-containing nanoparticles on the health, performance and production of livestock animals and poultry / I. Michalak, K. Dziergowska, M. Alagawany // Veterinary Quarterly. – 2022. – Vol. 42, № 1. – P. 68–94. – DOI: 10.1080/01652176.2022.2073399.
8. Структура, свойства и фитопротекторные функции нанопорошков диоксида титана и водных суспензий на их основе / О. А. Шилова, Г. Г. Панова, С. В. Мякин [и др.] // Журнал неорганической химии. – 2021. – Т. 66, № 5. – С. 669–677. – DOI: 10.31857/S0044457X21050184.
9. Токсическое действие наноматериалов на основе металлов на представителей морских экосистем / И. А. Васюкова, О. В. Захарова, В. В. Чайка [и др.] // Российские нанотехнологии. – 2021. – Т. 16, № 2. – С. 175–194. – DOI: 10.1134/S1992722321020175.
10. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus* / M. Heinlaan, A. Ivaska, I. Blinova [et al.] // Chemosphere. – 2008. – Vol. 71. – P. 1308–1316. – DOI: 10.1016/j.chemosphere.2007.11.047.
11. Шарафутдинова Л. А. Влияние наночастиц диоксида титана на структурные особенности гиппокампа крыс / Л. А. Шарафутдинова, В. В. Валиуллин // Морфологические ведомости – Morphological Newsletter. – 2018. – Т. 26, № 2. – С. 32–37. – DOI: 10.20340/mv-mn.18(26).02.32-37.
12. Полонский В. И. Оценка воздействия наночастиц диоксида титана на живые организмы / В. И. Полонский, А. А. Асанова // Теоретическая и прикладная экология. – 2018. – № 3. – С. 5–11. – DOI: 10.25750/1995-4301-2018-3-005-011.
13. Влияние наночастиц диоксида титана и оксида алюминия на морфофизиологические параметры растений / Т. П. Астафурова, Ю. Н. Моргалёв, А. П. Зотикова [и др.] // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2011. – № 1 (13). – С. 113–122. – EDN NGAZSR.
14. Titanium dioxide nanoparticles enhance the detrimental effect of polystyrene nanoplastics on cell and plant physiology of *Vicia lens* (L.) Coss. & Germ. seedlings / C. Spanò, L. Giorgetti, S. Bottega [et al.] // Front. Plant Sci. – 2024. – Vol. 15. – P. 1391751. – DOI: 10.3389/fpls.2024.1391751.
15. Сытников Д. М. Реакция овса посевного на присутствие наночастиц алюминия в питательном субстрате / Д. М. Сытников, А. Мусса, Ф. А. Губарев // Учёные записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия. – 2025. – Т. 11 (77), № 1. – С. 179–188. – DOI 10.29039/2413-1725-2025-11-1-179-188.
16. Методика выполнения измерений всхожести семян и длины корней проростков высших растений для определения токсичности техногенно-загрязнённых почв. ФР 1.39.2006.02264. – СПб, 2009.
17. Гельригель Г. Опыт с удобрением и вегетационный опыт / Г. Гельригель; Пер. с нем. [и предисл.] С.В. Щусев. – Одесса : «Славянская» тип. Н. Хрисогелос, 1898. – [2], II, 26 с.
18. Wellburn A. R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolutions / A. R. Wellburn // J. Plant Physiol. – 1994. – Vol. 144, N 3. – P. 307–313. – DOI: 10.1016/S0176-1617(11)81192-2.
19. Воскресенская О. Л. Большой практикум по биоэкологии. Ч. 1 : учеб. пособие / Мар. гос. ун-т; О. Л. Воскресенская, Е. А. Алябышева, М. Г. Половникова. – Йошкар-Ола, 2006. – 107 с. – ISBN 5-94808-239-3

20. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) : учебник [для студентов высших с.-х. учеб. заведений по агроном. спец.] / Б. А. Доспехов ; Б. А. Доспехов. – Изд. 6-е, стер., перепеч. с 5-го изд. 1985 г. – М.: Альянс, 2011. – 351 с. – ISBN 978-5-903034-96-3.
21. Зотикова А. П. Экофизиологические реакции листового аппарата кедр сибирского на изменение климата / А. П. Зотикова, О. Г. Бендер, Т. И. Рудник // Оптика атмосферы и океана. – 2006. – Т. 19, № 11. – С. 969–972. – EDN KVCENP.
22. Дымова О. В. Фотосинтетические пигменты в растениях природной флоры таёжной зоны европейского северо-востока России / О. В. Дымова, Т. К. Головкин // Физиология растений. – 2019. – Т. 66, № 3. – С. 198–206. – DOI: 10.1134/S0015330319030035.
23. Кавеленова Л. М. К методологии экофизиологических исследований листьев древесных растений / Л. М. Кавеленова, Е. В. Малыгина, С. А. Розно, Ю. В. Смирнов // Поволж. экол. журн. – 2008. – № 3. – С. 200–210. – EDN JWOQFX.
24. Венжик Ю. В. Участие наночастиц металлов и их оксидов в регуляции про- / антиоксидантного баланса у высших растений / Ю. В. Венжик, А. Н. Дерябин // Физиология растений. – 2023. – Т. 70, № 2. – С. 133–147. – DOI: 10.31857/S0015330322600371.

REACTION OF OAT PLANTS TO THE PRESENCE OF TITANIUM DIOXIDE NANOPARTICLES IN THE NUTRIENT SUBSTRATE

Sytников D. M., Moussa A., Kosovskaya M. A., Gubarev F. A.

*Sevastopol State University, Sevastopol, Russia
E-mail: sytnikov@list.ru*

Titanium dioxide nanoparticles have advantages such as photocatalytic activity, stability and low cost, but their biocompatibility with living organisms and toxic effects in ecosystems need to be studied. They can both stimulate plant growth and cause oxidative stress and undesirable effects. However, the mechanisms of their effects on plants and other organisms remain insufficiently studied.

The study was conducted on oat plants (*Avena sativa* L.). The Skakun variety used is resistant to drought, lodging, grain loss, and diseases, including crown rust and loose smut. The pot experiment was carried out in a phytotron at constant substrate moisture (60 %), controlled temperature (22–25 °C), and a relative air humidity of approximately 70 %. Illumination was at least 20,000 lux. Seeds were sown in washed river sand in Wagner vessels with a capacity of 7 kg. A Gelriegel mineral mixture was added to the sandy substrate before sowing. Plants grown on a sandy nutrient substrate containing nanotitanium oxide (TiO₂) at three different concentrations were studied: 10, 100, and 1000 mg/kg. Particle size was 49 nm.

Chlorophyll and carotenoid content were measured using the Wellburn method. Peroxidase activity was determined using a method that records the time required for solutions to reach a certain optical density following the oxidation of benzidine, resulting in the formation of colored compounds. Catalase activity was determined gasometrically and calculated based on the volume of oxygen released. The paper presents average values with standard errors; significant differences between samples were assessed using the least significant difference (LSD) at $p \leq 0,05$.

The reaction of oats to the presence of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles in the plant growing substrate was studied under conditions of vegetation experiments. Nanoparticles introduced into the substrate for growing oats reduce the content of chlorophylls *a* and *b* in plant leaves in the phases of two true leaves and tillering, regardless of the concentration used (10, 100 and 1000 mg/kg). During the heading phase, this effect was leveled out. The chlorophyll *a/b* ratio remained within the normal range (2,0–2,8) in all phases of plant development, which indicates a compensated operation of the photosynthetic apparatus.

The presence of increased concentrations of titanium dioxide nanoparticles (100 and 1000 mg/kg) in the nutrient substrate reduces the activity of catalase and increases the activity of peroxidase in the leaves and roots of oats, which indicates the manifestation of oxidative stress and adaptation of plants to living conditions. These changes are associated with the accumulation of reactive oxygen species and the role of nanoparticles as stress triggers.

The content of titanium dioxide nanoparticles in the oat growing substrate leads to stimulation of rhizogenesis. Increased concentrations of nanoparticles (100 and 1000 mg/kg) lead to an increase in the number of grains in inflorescences, while at the same time the height of plants and the length of their inflorescences remain unchanged. Growing oats on a nutrient substrate containing 1000 mg/kg titanium dioxide nanoparticles leads to a 70 % reduction in the weight of a thousand grains, which indicates a toxic effect on plants.

Keywords: *Avena sativa* L., titanium dioxide nanoparticles, photosynthetic pigments, antioxidant enzymes, crop structure, plant productivity.

References

1. Negrescu A. M., Killian M. S., Raghu S. N. V. Metal oxide nanoparticles: review of synthesis, characterization and biological effects, *Journal of Functional Biomaterials*. **13**, 4 (2022). DOI: 10.3390/jfb13040274.
2. Avaldugubakh M., Sytnikov D. M., Gubarev F. A. Biological role of nanoparticles of metals and their oxides, *Ekologicheskiy vestnik Severnogo Kavkaza [The North Caucasus Ecological Herald]*. **21**, 4 (2025). EDN AWXMUK. (in Russ.).
3. Ahmad F., Salem-Bekhit M. M., Khan F. [et al.] Unique properties of surface-functionalized nanoparticles for bio-application: functionalization mechanisms and importance in application, *Nanomaterials* (Basel). **12**, 8 (2022). DOI: 10.3390/nano12081333.
4. Dykman L. A., Shchyogolev S. Yu. Interactions of plants with noble metal nanoparticles (review), *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*. **1** (2017). DOI: 10.15389/agrobiology.2017.1.13rus. (in Russ.).
5. Schwab F., Zhai G., Kern M. [et al.] Barriers, pathways and processes for uptake, translocation and accumulation of nanomaterials in plants – Critical review, *Nanotoxicology*. **10**, 3 (2016). DOI: 10.3109/17435390.2015.1048326.
6. Ponomarev Yu. O., Prudnikova A. G., Prudnikov A. D., Semchenkova S. V. Economic justification for the use of nanopowders of metals and microelements in fodder production and clover seed production in the Non-Chernozem zone of Russia, *Moskovskiy ekonomicheskij zhurnal [Moscow Economic Journal]*. **1** (2017). EDN YKMUCL. (in Russ.).
7. Michalak I., Dziergowska K., Alagawany M. The effect of metal-containing nanoparticles on the health, performance and production of livestock animals and poultry, *Veterinary Quarterly*. **42**, 1 (2022). DOI: 10.1080/01652176.2022.2073399.

8. Shilova O. A., Kovalenko A. S., Nikolaev A. M. [et al.]. Structure, properties, and phytoprotective functions of titanium dioxide nanopowders and their aqueous suspensions. *Russian Journal of Inorganic Chemistry*. **66**, 5 (2021). DOI 10.1134/S0036023621050181.
9. Vasyukova I. A., Zakharova O. V., Chaika V. V. [et al.], Toxic effect of metal-based nanomaterials on representatives of marine ecosystems: a review. *Nanobiotechnology Reports*. **16**, 2 (2021). DOI 10.1134/S2635167621020178.
10. Heinlaan M., Ivaska A., Blinova I. [et al.], Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere*. **71**. (2008). DOI: 10.1016/j.chemosphere.2007.11.047.
11. Sharafutdinova L. A., Valiullin V. V. The influence of the titanium dioxide nanoparticles on structural features of the rats hippocampus, *Morfologicheskiye vedomosti [Morphological newsletter]*. **26**, 2 (2018). DOI: 10.20340/mv-mn.18(26).02.32-37. (In Russ.).
12. Polonskiy V. I., Asanova A. A. Assessment of titanium dioxide nanoparticle effects on living organisms, *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya [Theoretical and applied ecology]*. **3** (2018). DOI: 10.25750/1995-4301-2018-3-005-011. (In Russ.).
13. Astafurova T. P., Morgalev Yu. N., Zotikova A. P. [et al.], Effect of nanoparticles of titanium dioxide and aluminum oxide on some morphophysiological characteristics of plants. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya [Bulletin of Tomsk State University. Biology]*. **1**, 13 (2011). EDN NGAZSR. (In Russ.).
14. Spanò C., Giorgetti L., Bottega S. [et al.]. Titanium dioxide nanoparticles enhance the detrimental effect of polystyrene nanoplastics on cell and plant physiology of *Vicia lens* (L.) Coss. & Germ. seedlings. *Front. Plant Sci.* **15** (2024). DOI: 10.3389/fpls.2024.1391751.
15. Sytnikov D. M., Moussa A., Gubarev F. A. Reaction of oat plants to the presence of aluminum nanoparticles in the nutrient substrate, *Uchyonye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V.I. Vernadskogo. Biologiya. Khimiya [Scientific Notes of the V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry]*. **11**, 1. (2025). DOI: 10.29039/2413-1725-2025-11-1- 179-188. (in Russ.).
16. *Methodology for measuring seed germination and root length of higher plant sprouts to determine the toxicity of technogenically contaminated soils*. FR 1.39.2006.02264. St. Petersburg, 2009. (in Russ.).
17. Gelrigel G. *Experiment with fertilizer and vegetation experiment*, 26 p. (Odessa: «Slavic» printing house. N. Chrysogelos, 1898.). (in Russ.).
18. Wellburn A. R. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolutions, *J. Plant Physiol.* **144**, 3 (1994). DOI: 10.1016/S0176-1617(11)81192-2.
19. Voskresenskaya O. L., Alyabysheva E. A., Polovnikova A. G. *Large practical course on bioecology. P. I: manual*, 107 p. (Yoshkar-Ola: Mar. state university, 2006). ISBN 5-94808-239-3. (in Russ.).
20. Dospekhov B. A. *Field experiment methodology (with the basics of statistical processing of research results): textbook*, 351 p. (Moscow: Alliance, 2011). ISBN 978-5-903034-96-3. (in Russ.).
21. Zotikova A. P., Bender O. G., Rudnic T. I. Physiologic reactions of siberian cedar leaves to variations of climate, *Optika atmosfery i okeana [Optics of the Atmosphere and Ocean]*. **19**, 11 (2006). EDN KVCEHP. (In Russ.).
22. Dymova O. V., Golovko T. K. Photosynthetic pigments in plants of the natural flora of the taiga zone of the European north-east of Russia, *Fiziol. Rast. [Russian Journal of Plant Physiology]*. **66**, 3 (2019). DOI: 10.1134/S0015330319030035. (in Russ.).
23. Kavelenova L. M., Malykhina E. V., Rozno S. A., Smirnov Yu. V. On the methodology of tree leaf ecophysiological studies, *Povolzhskiy ekologicheskiy zhurnal [Povolzhsky ecological zhournal]*. **3** (2008). EDN JWOQFX. (in Russ.).
24. Venzhik Yu. V., Deryabin A. N. Participation of metal nanoparticles and their oxides in the regulation of pro- / antioxidant balance in higher plants, *Fiziologiya rasteniy [Plant Physiology]*. **70**, 2 (2023). DOI: 10.31857/S0015330322600371. (in Russ.).