

ДЕКОНТАМИНИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ В КЛОНАЛЬНОМ МИКРОРАЗМНОЖЕНИИ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ

Федорова О.А.¹, Гродецкая Т.А.¹, Евтушенко Н.А.¹,
Евлаков П.М.¹, Захарова О.В.², Гусев А.А.²

¹ФГБОУ ВО «Воронежский государственный
лесотехнический университет имени Г. Ф. Морозова»,
Воронеж, Российская Федерация

²НОЦ «Экологии и биотехнологий»
ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный
университет имени Г. Р. Державина»,
Тамбов, Российская Федерация

DECONTAMINATING EFFECT OF METAL NANOPARTICLES IN CLONAL MICROPROPAGATION OF WOODY PLANTS

Fedorova O.A.¹, Grodetzskaya T.A.¹, Evtushenko N.A.¹,
Evlakov P.M.¹, Zakharova O.V.², Gusev A.A.²

*The efficiency of using colloidal solutions of CuO (5–40 nm) and Ag (10–30 nm) nanoparticles at a concentration of 5 mg/l at the initial stage of microclonal propagation of poplar *Populus pyramidalis* Ros. × *Populus nigra* L., 'Pyramidal'no-osokorevy Kamyshinsky` (POK) has been experimentally confirmed. The use of the specified concentrations of nanoparticles helps to reduce their infection by 15–25% and increase their morphogenic potential.*

Одним из наиболее сложных и трудно прогнозируемых аспектов микроклонального размножения древесных культур остается получение стерильных эксплантов, сохраняющих высокую жизнеспособность и морфогенетический потенциал. Ключевое условие успеха - полная дезинфекция исходного растительного материала от патогенов и последующее поддержание строгих асептических условий. Даже незначительное микробное загрязнение провоцирует угнетение клеточных процессов, что часто завершается полной гибелью культур *in vitro*. Эффективность стерилизации и выбор методов зависят от типа растения, экспланта и применяемых препаратов. Грибная инфекция доминирует на начальных этапах, вызывая быструю гибель тканей, бактериальная же инфекция чаще возникает при повторных пересевах. Это можно объяснить тем, что грибы менее требовательны к питательной среде, поскольку группы экскретируемых ими ферментов, способствуют усвоению питательных веществ практически из любого субстрата. Количество и состав минеральных веществ, входящие в состав сред для выращивания растений *in vitro* им достаточны для роста и дальнейшего размножения. Бактериальные культуры в этом отношении более требовательны к составу питательной среды и предпочитают расти на средах с большим содержанием органических веществ. Чаще всего в культурах растений *in vitro* встречаются следующие роды грибов: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Rhizopus*, *Botrytis*, *Mucor* и др. Эти грибы могут попадать в культуру как в форме спор из воздуха или с поверхности исходного материала, быстро разрастаясь в питательной среде и приводя к гибели или угнетению растений. Некоторые из них, например *Fusarium*, вызывают специфические заболевания (вилт, корневая гниль), а другие (например, *Botrytis*, *Rhizopus*) быстро колонизируют

среду, образуя плотный мицелий. Среди бактериальных загрязнителей наиболее часто встречаются: *Acinetobacter*, *Microbacterium*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Bacillus* и др. Бактерии могут быть как эпифитными (на поверхности растения), так и эндофитными (внутри тканей), что затрудняет их удаление при стерилизации.

Имеется значительное число исследований, посвященных использованию нанотехнологий в культуре тканей растений. Показано, что применение наночастиц металлов (частиц размером менее 100 нм) в культуре *in vitro* выявило возможность устранения микробных контаминантов и их (наночастиц) положительную роль в индукции каллуса, соматическом эмбриогенезе, органогенезе, генетической трансформации, соматоклональной вариации и производстве вторичных метаболитов. Целью настоящего исследования являлось изучение влияния наночастиц CuO (70-100 нм) и Ag (10-30 нм) в составе среды культивирования WPM (Woody plant medium) на снижение числа инфицированных регенерантов тополя *Populus pyramidalis* Ros. × *Populus nigra* L., 'Пирамидально-осоконовый Камышинский' (ПОК) на этапе введения в культуру *in vitro*.

Анализ действия наночастиц на фитопатогены древесных растений в концентрации 5 мг/л показал значительное антифунгальное действие Ag на *Fusarium avenaceum* (диаметр зоны ингибирования d=20 мм) и *Alternaria alternata* (d=12 мм) и CuO на *Fusarium oxysporum* (d=16 мм), *Alternaria alternata* (d=13 мм). Исследования по влиянию растворов наночастиц на инфицированность эксплантов тополя и количество морфогенных растений в процессе введения в культуру *in vitro* показали, что использование наночастиц CuO в составе питательной среды в концентрациях 5 и 10 мг/л способствует снижению числа инфицированных эксплантов на 25%, при этом повышение концентрации наночастиц не влияло на данный показатель. Воздействие наночастиц Ag на число инфицированных эксплантов зависит от концентрации. Так, наибольший эффект наблюдался при внесении в состав питательной среды 10 мг/л наночастиц, число инфицированных эксплантов составило 10%, тогда как при внесении 5 мг/л данный показатель составлял 20% (контроль 35%).

Одним из основных показателей, характеризующим эксплант на этапе введения в культуру *in vitro*, является его морфогенный потенциал – способность формировать хорошо развитые пазушные побеги. Через 20-25 суток от начала роста, в зависимости от содержания наночастиц в питательных средах и их концентраций, побеги достигли 0,5-1,0 см. Под влиянием различных концентраций наночастиц наиболее активно процессы морфогенеза происходили на средах, содержащих наночастицы CuO и Ag в концентрации 5 мг/л. При этом число жизнеспособных эксплантов тополя составило 70 и 45% (контроль – 40%). Увеличение концентрации наночастиц CuO и Ag в 2 раза способствовало снижению числа жизнеспособных эксплантов на 25 и 10% по сравнению с контрольным вариантом, что говорит об ингибирующем действии данной концентрации наночастиц.

Таким образом, использование растворов наночастиц CuO и Ag в концентрации 5 мг/л на стадии введения тополя ПОК в культуру *in vitro* имеет положительный эффект: снижается число инфицированных эксплантов на 15-25%, а также повышается количество морфогенных растений. Данный факт свидетельствует о возможности использования наночастиц на данном этапе клонального микроразмножения.

Исследование проводилось в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 1023013000020-6-4.1.2 «Отбор хозяйственно ценных и устойчивых к изменению климата древесных культур, отличающихся высокой биологической продуктивностью и потенциалом секвестрации углерода с учетом региональных почвенно-климатическим особенностей для реализации лесоклиматических проектов (FZUR-2023-0002)».