

УДК 634:57.085.2

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ НА ОРГАНОГЕНЕЗ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ *IN VITRO*

**Наталья Васильевна Корзина¹, Наталья Николаевна Иванова¹,
Нина Павловна Лесникова-Седошенко¹, Ирина Васильевна Жданова¹,
Светлана Викторовна Челомбит¹, Павел Алексеевич Хватков¹,
Сергей Владимирович Долгов¹, Михаил Александрович Федотов²,**

¹Никитский ботанический сад – Национальный научный центр,
298648, Республика Крым, г. Ялта, пгт Никита, спуск Никитский, 52

E-mail: natali.korz@yandex.ru

²ФГБУН «Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова РАН»,
119334, Россия, г. Москва, Ленинский пр., 49

E-mail: mikle_fed@mail.ru

В настоящее время применение наночастиц (НЧ) продемонстрировало их положительное влияние на стерилизацию эксплантов, микроразмножение, индукцию каллуса, органогенез, соматический эмбриогенез, генетическую трансформацию и продукцию вторичных метаболитов. Целью настоящего исследования было изучение влияния наночастиц селена (Se), оксида кремния (SiO₂) и трикальцийфосфата (Ca₃(PO₄)₂) в условиях *in vitro* на рост и развитие микропобегов *Chrysanthemum × morifolium* Ramat.; *Ficus carica* L.; *Fragaria × ananassa* Dushesne; *Lamium glaberrimum* (K. Koch) Taliev и *Rosa* L. Культивирование эксплантов проводили на среде Мурасиге и Скуга (МС), дополненной различными концентрациями НЧ. Выявлено неоднозначное влияние НЧ на морфогенез *in vitro* в зависимости от генотипа изучаемой культуры, типа и концентрации применяемых НЧ. Установлено, что НЧ Se оказывали положительное влияние на рост микропобегов и образования листьев хризантемы садовой, инжира и *Lamium glaberrimum*. Анализ содержания хлорофилла *a* и *b* в листьях растений, культивируемых на средах с НЧ Se, не показал значимого расхождения между контрольным и опытными вариантами. Исключение составили микропобеги земляники и розы: концентрация 0,5 мг/л НЧ Se в питательной среде вызывала уменьшение значений хлорофилла *a/b* с 2,079/0,618 мг/г массы до 1,272/0,293 мг/г и с 3,125/0,896 мг/г до 1,76/0,453 мг/г, у земляники и розы, соответственно. Показано положительное влияние НЧ SiO₂ в концентрации 4,0 и 5,0 мг/л на адвентивное побегообразование у эксплантов инжира. Выявлено, что изученные концентрации НЧ ТКФ влияли на габитус растений, но не способствовали побегообразованию. Не выявлено существенного влияния изученных концентраций НЧ Se, SiO₂ и Ca₃(PO₄)₂ на индукцию побегообразования исследуемых культур.

Ключевые слова: *Chrysanthemum × morifolium* Ramat.; *Ficus carica* L.; *Fragaria × ananassa* Dushesne; *Lamium glaberrimum* (K. Koch) Taliev; *Rosa* L.; эксплант; морфогенез; *in vitro*; наночастица

Введение

Методы культуры тканей и органов растений открывают пути ускоренного клонального размножения видов и сортов для массового производства генотипов с экономически ценными признаками и сохранения биологического разнообразия. Однако существуют факторы, влияющие на эффективность органогенеза и регенерации *in vitro*, такие как концентрация и комбинация регуляторов роста в питательной среде, генотип материнского растения, тип и возраст экспланта, элиситоры и другие факторы культивирования. Одним из таких факторов является использование наночастиц (НЧ) в процессе клонального микроразмножения растений (Das et al., 2023). Известно, что наноматериалы обладают различными уникальными свойствами из-за их небольшого размера (Duhan et al., 2017). В настоящее время применение наночастиц продемонстрировало их положительное влияние на стерилизацию эксплантов, микроразмножение, индукцию каллуса, органогенез, соматический эмбриогенез,

генетическую трансформацию и продукцию вторичных метаболитов (Kim et al., 2017; Singh et al., 2023; Hasanin et al., 2024). Кроме того, нанотехнологии используются для повышения устойчивости растений к различным стрессовым условиям, которые ограничивают продуктивность растений (Al-Khayri et al., 2023; Hayat et al., 2023).

Успех культуры растительных тканей зависит от нескольких факторов, и асептическое состояние – одно из основных требований; так как бактериальная и грибная контаминация являются основными препятствиями развития и размножения эксплантов при культивировании *in vitro*. Показано, что НЧ металлов и оксидов металлов эффективны для уничтожения различной патогенной инфекции и обеззараживания поверхностей первичных эксплантов. Широкий спектр НЧ, таких как серебро (Ag), оксид алюминия (Al_2O_3), оксид меди (CuO), золото (Au), оксид железа (Fe_3O_4), оксид магния (MgO), диоксид кремния (SiO_2), диоксид титана (TiO_2), оксид цинка (ZnO) обладают антибактериальной и противогрибной активностью в отношении различных патогенов в культуре тканей растений (Kim et al., 2017).

Селен (Se) считается одним из важных микроэлементов для человека и растений. В своих исследованиях А. Ali с соавторами провели комплексную оценку влияния НЧ Se и светового режима на рост культуры каллуса *in vitro* лекарственного растения *Caralluma tuberculata* N.E. Brown и их антиоксидантную активность. Было установлено, что каллус, культивировавшийся на питательной среде МС, содержащей регуляторы роста и НЧ Se в концентрации 0,1 мг/л, и выращенный в полной темноте с последующим нормальным освещением, активно пролиферирует и является ценным источником вторичных метаболитов. Совместное воздействие НЧ Se и светового режима усиливало активность антиоксидантных ферментов в культурах каллуса *in vitro* (Ali et al., 2024). Результаты исследований Н.Д. Khai и соавторы показали, что НЧ Se являются потенциальными индукторами укоренения герберы за счет повышения уровня эндогенного ауксина. Эффективность укоренения на среде MS с добавлением НЧ Se в концентрации 0,7; 1,0 и 1,5 мг/л была аналогична таковой при обработке 1 мг/л ИМК и была значительно выше, чем при обработке ауксином совместно с НЧ Se. НЧ Se в концентрации от 0,1 до 1,5 мг/л стимулировали рост растений *in vitro*, общее содержание хлорофилла, биомассу растений, что соответствует высокой активности антиоксидантных ферментов. Однако концентрация 3,0 мг/л НЧ Se продемонстрировала ингибирование роста побегов и корней по сравнению с другими вариантами опыта. При этом было показано, что НЧ Se улучшили качество регенерантов герберы, что способствовало их более высокой выживаемости и росту в условиях *ex vitro* (Khai et al., 2022). Согласно данным, полученным О.М. Darwesh (2023) с соавторами, протестированные НЧ Se в питательной среде Rugini продемонстрировали низкую антимикробную активность для *Olea europaea* L. Но добавление наночастиц в культуральную среду существенно повлияло на рост и скорость размножения побегов маслины, растущих *in vitro*. Однако более высокая концентрация НЧ Se (5,0 мг/л) оказала негативное влияние на ростовые показатели и размножение *in vitro* микропобегов маслины (Darwesh et al., 2023).

Кремний (Si) является наиболее распространенным минеральным элементом в почве. Также, было выявлено, что кремний обладает значительным потенциалом для применения в широком спектре исследований культуры тканей растений, таких как органогенез, микроразмножение, соматический эмбриогенез, производство вторичных метаболитов и криосохранение (Sivanesan I. et al., 2014). S. Khattab (2022) с коллегами в своей работе включили НЧ диоксида кремния в питательную среду МС для выращивания *Lavandula officinalis* Ch. *in vitro*. Было установлено, что 50 мг/л НЧ SiO_2 значительно усиливало рост и размножение эксплантов. При этом НЧ SiO_2 вызывали соматоклональные вариации, усиливая рост и размножение побегов, а также изменяли

химическую и биологическую активность растительных экстрактов, полученных из микропобегов (Khattab et al., 2022). S. Sharma с соавторами впервые изучили влияние НЧ SiO₂ на морфогенез *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertonі *in vitro* и биосинтез вторичных метаболитов при добавлении в твердую и жидкую среду МС с целью определения наиболее оптимальной стратегии повышения содержания стероидных гликозидов. Между регенерантами на твердых и жидких средах были зафиксированы значительные различия по всем параметрам, однако единой закономерности в изменениях при различных концентрациях НЧ получено не было. Жидкая питательная среда обеспечивала более благоприятную среду для роста и развития побегов стевии. Присутствие НЧ SiO₂ в среде снижало стресс для растений и способствовало лучшему росту. Добавление НЧ SiO₂ в твердую питательную среду усиливало продукцию геб-А, что указывало на усиление стрессового фактора, запускающего механизмы биосинтеза вторичных метаболитов. Таким образом, авторы продемонстрировали различную реакцию НЧ SiO₂ в разных условиях среды выращивания (Sharma et al., 2023).

В доступных нам литературных источниках практически нет сообщений об использовании НЧ трикальций фосфата [Ca₃(PO₄)₂, ТКФ] в культуре органов и тканей растений *in vitro*. Имеется несколько работ по использованию НЧ ТКФ в генетической трансформации *Brassica juncea* (L.) Czern. (Naqvi et al., 2012) и табака (Ardekani et al., 2014). S. Naqvi с соавторами использовали НЧ фосфата кальция для переноса вектора pCambia 1301. Было обнаружено, что эффективность трансформации составила около 80,7% по сравнению с 54,4% у *Agrobacterium tumefaciens* и только 8% при использовании ДНК. Аналогично M.R.S. Ardekani с соавторами установили, что в клетках табака НЧ фосфата кальция переносили pBI121, содержащий ген GFP.

Цель работы – изучить влияние наночастиц в условиях *in vitro* на рост и развитие микропобегов исследуемых культур.

Объекты и методы исследования

Исследования проводили в отделе геномных и постгеномных технологий в растениеводстве НБС-ННЦ. В качестве исходного растительного материала использовали микропобеги и их сегменты (длиной 1,0-2,0 см), полученные в условиях *in vitro*: земляники садовой (*Fragaria × ananassa* Dushesne, Rosaceae) сорта Крымчанка 87, розы садовой (*Rosa* L., Rosaceae) сорта Наталья Муравская, хризантемы садовой (*Chrysanthemum × morifolium* Ramat., Asteraceae) сорта Rezume Sten Dark, инжира (*Ficus carica* L., Moraceae) сорта Наиранный Фиолетовый и эндемичного вида Крыма яснотки голой (*Lamium glaberrimum* (K. Koch) Taliev, Lamiaceae).

Эксперименты по культуре органов и тканей *in vitro* проводили согласно методикам Р.Г. Бутенко (Бутенко, 1999), L. Kyte с соавторами (Kyte et al., 2013).

В исследованиях по изучению влияния наночастиц селена (Se), оксида кремния (SiO₂) и трикальцийфосфата (Ca₃(PO₄)₂, ТКФ) на органогенез эксплантов изучаемых генотипов использовали питательную среду МС (Murashige, Skoog, 1962). В зависимости от биологических особенностей исследуемой культуры и вида, состав питательной среды дополняли регуляторами роста в концентрациях 0,1; 0,5 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП, Duchefa Biochemie, Голландия), 0,75 мг/л 6-фурфуриламинопурина (кинетин, Duchefa Biochemie, Голландия), 0,05; 0,15 мг/л α-нафтилуксусной кислоты (НУК, Duchefa Biochemie, Голландия), 0,1 мг/л β-индолилмасляной кислоты (ИМК, Sigma, США). Для оценки влияния наночастиц на органогенез *in vitro* эксплантов розы садовой, инжира, хризантемы садовой, земляники садовой и яснотки голой в питательную среду вводили НЧ Se в концентрации 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 и 3,0 мг/л, НЧ SiO₂ – 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 и 5,0 мг/л или НЧ ТКФ – 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 и 3,0 мг/л. Среда также содержала 30,0 г/л сахарозы и 9,0 г/л агара (Panreac,

Испания). pH среды 5,6-5,7. В качестве контроля использовали среду с регуляторами роста без наночастиц.

Экспланты в культуральных сосудах содержали в климатической камере Panasonic MLR-352-PE (Япония) при температуре $24 \pm 1^\circ\text{C}$, 16-часовом фотопериоде и интенсивности освещения $37,5 \text{ мкМ м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ люминесцентными лампами (Philips TL, Япония). Через 42 суток культивирования учитывали длину экспланта, количество образовавшихся дополнительных микропобегов/эксплант, листьев/эксплант, укоренившихся микропобегов, окраску листьев и побегов, наличие каллуса.

Для анализа содержания хлорофилла использовали зеленые листья растений из вариантов опыта с НЧ Se розы садовой «Наталья Муравская»; инжира «Сабруция Розовая», земляники садовой «Крымчанка 87», хризантемы садовой «Rezume Sten Dark» и вида яснотка голая. Листья в стерильных условиях ламинарного бокса скальпелем срезали с микропобегов и помещали в микропробирки, предварительно взвешенные на аналитических весах. Для каждого варианта опыта соблюдали трехкратную биологическую повторность. Затем пробирки повторно взвешивали для определения массы исследуемых образцов. После взвешивания в каждую добавляли по 1 мл 96% раствора этанола и при 4°C экстрагировали две недели до полного исчезновения зеленой окраски из тканей листа.

Полученные экстракты исследовали с помощью спектрофотометра Eppendorf BioSpectrometer basic (однолучевой абсорбционный спектрофотометр с опорным пучком) на характерных максимумах поглощения для хлорофилла *a* и *b* в 96%-этаноловом экстракте: 664 нм и 648 нм. Концентрации хлорофиллов в этанольных экстрактах исследуемых растений определяли, используя формулы (Lichtenthaler, Wellburn, 1983):

$$ca = 13.95A_{664} - 6.88A_{648}$$

$$cb = 24.96A_{648} - 7.32A_{664}$$

Результаты и обсуждение

Известно о положительном влиянии небольших доз микроэлементов на продуктивность и качество урожая целого ряда сельскохозяйственных культур, а также на устойчивость растений к стрессовым воздействиям. Большинство известных работ посвящено изучению ответной реакции растений на внесение селена в почву или обработку семян и листьев растворами различной концентрации (Титов *и др.*, 2021; Song *et al.*, 2023), тогда как применение НЧ Se в культуре *in vitro* имеет ограниченный характер. Наши исследования были направлены на изучение воздействия НЧ Se на морфогенез микропобегов исследуемых культур.

В опытах с НЧ использовали питательную среду МС, дополненную 0,1 мг/л (для вида яснотка голая), 0,5 мг/л (для земляники, розы садовой) и 0,75 мг/л (для инжира) 6-БАП и 0,75 мг/л кинетина (для хризантемы) в качестве индукторов побегообразования. Среда без НЧ применялась как контроль, опытные варианты дополняли 0,5-3,0 мг/л НЧ Se. При использовании одних и тех же концентраций изучаемых НЧ отмечали значительное влияние генотипов на рост и размножение микропобегов.

Результаты, представленные в таблице 1, показали, что присутствие различных концентраций НЧ Se в среде не оказывало существенного влияния на микроразмножение эксплантов. Так, концентрация 3,0 мг/л способствовала незначительному увеличению числа микропобегов хризантемы садовой (с 2,3 до 3,0 шт./эксплант) и яснотки голой (с 2,3 до 2,9 шт./эксплант). При этом у яснотки голой на среде с 2,5-3,0 мг/л НЧ наблюдали рост и развитие дополнительных побегов и увеличение количества образовавшихся листьев (табл. 1). Спустя 42 суток культивирования экспланты сохраняли насыщенный зеленый цвет, но при этом

отмечено пожелтение отдельных листьев, расположенных в базальной части микропобега. В вариантах опыта с концентрацией НЧ Se 0,5-1,5 мг/л, а также в контроле наблюдали хлороз листьев и побегов (рис. 1).

Таблица 1

Влияние НЧ селена на индукцию адвентивного побегообразования *in vitro* у эксплантов
L. glaberrimum (K. Koch) Taliev

Table 1

The influence of selenium NPs on the induction of adventitious shoot formation *in vitro* of
L. glaberrimum (K. Koch) Taliev explants

Концентрация НЧ Se, мг/л Concentration NP Se, mg/l	Количество адвентивных побегов/эксплант, шт. Number of adventitious shoots/explant	Средняя длина адвентивных побегов, см Average length of adventitious shoots, cm	Среднее количество листьев/эксплант, шт. Average number of leaves/explant
0	2,30 ± 0,26	0,91 ± 0,11	21,10 ± 3,59
0,5	2,10 ± 0,28	0,87 ± 0,12	13,80 ± 1,47
1,0	2,60 ± 0,43	0,78 ± 0,11	15,20 ± 2,04
1,5	2,30 ± 0,21	0,77 ± 0,08	15,70 ± 1,17
2,0	2,20 ± 0,20	0,86 ± 0,09	15,30 ± 1,09
2,5	2,80 ± 0,25	1,32 ± 0,10	26,10 ± 2,36
3,0	2,90 ± 0,31	1,28 ± 0,10	23,20 ± 3,04

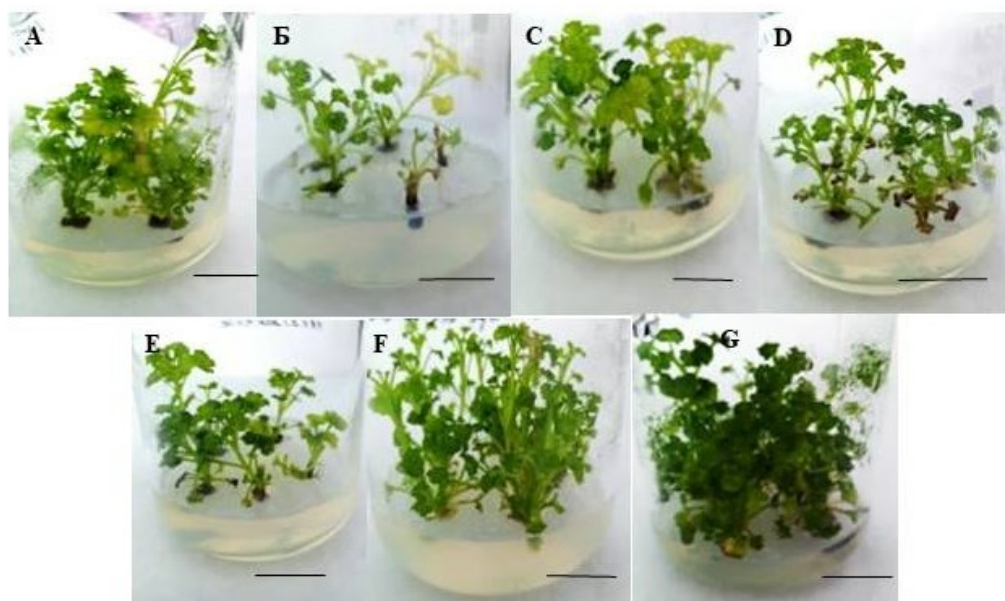


Рис. 1. Адвентивное побегообразование у *L. glaberrimum* в условиях
in vitro на питательной среде МС: А – контроль, В – 0,5 мг/л НЧ Se; С – 1,0 мг/л НЧ Se;
D – 1,5 мг/л НЧ Se; E – 2,0 мг/л НЧ Se; F – 2,5 мг/л НЧ Se; G – 3,0 мг/л НЧ Se. Масштаб 1 см

Fig.1. Adventitious shoot formation of the *L. glaberrimum*
in vitro on MS culture medium: A – control, B – 0.5 mg/l Se NPs; C – 1.0 mg/l Se NPs;
D – 1.5 mg/l Se NPs; E – 2.0 mg/l Se NPs; F – 2.5 mg/l Se NPs; G – 3.0 mg/l Se NPs. Scale bar 1 cm

Для растений хризантемы садовой оптимальной в питательной среде была концентрация 0,5 и 1,0 мг/л НЧ Se: количество адвентивных побегов составило 3,0 и 2,7 шт./эксплант, соответственно, по сравнению с 2,3 шт. в контроле. При увеличении концентрации НЧ активность побегообразования снижалась (рис. 2). Габитус

микропобегов на всех испытанных средах был сходен: на основном побеге листья были более крупные, чем на адвентивных, сохраняли зеленый цвет на протяжении всего срока культивирования, в основании эксплантов формировался плотный темно-серый каллус.

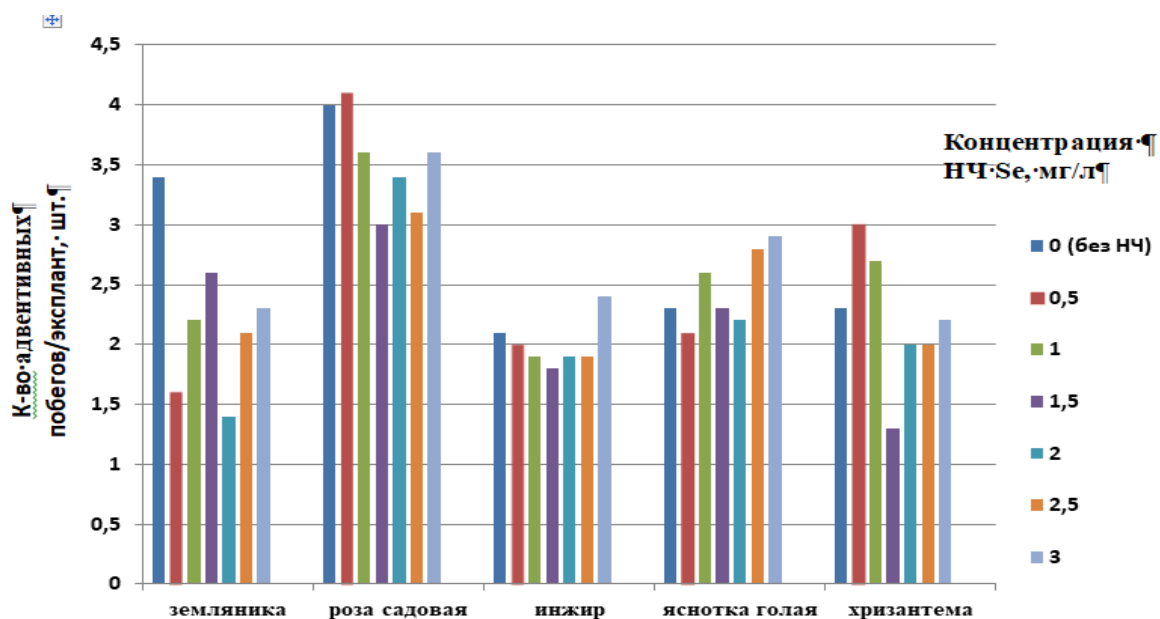


Рис. 2 Адвентивное побегообразование у эксплантов исследуемых культур спустя 42 сут культивирования на средах с H₂Se

Fig. 2. Adventitious shoot formation in explants of the studied cultures after 42 days of cultivation on media with Se NPs

У эксплантов инжира на средах, дополненных 0,5-2,5 мг/л H₂Se, количество образовавшихся адвентивных побегов было ниже, чем в контрольном варианте. Незначительное увеличение количества адвентивных побегов (с 2,1 до 2,4 шт./эксплант) наблюдали при наличии в среде 3,0 мг/л H₂Se (см. рис. 2).

Проведенными исследованиями установлено, что использование H₂Se для индукции множественного побегообразования у эксплантов розы садовой и земляники садовой было неэффективным. На средах с испытанными концентрациями H₂Se снижалось количество образовавшихся адвентивных микропобегов: у розы садовой с 4,0 шт./эксплант в контроле до 3,0 шт., у земляники садовой – с 3,4 шт./эксплант в контроле до 1,4 шт.

Вместе с тем, невысокая концентрация H₂Se в среде (0,5 мг/л) не влияла на морфогенез розы садовой, и количество дополнительных микропобегов составило 4,1 шт./эксплант (4,0 шт. в контроле). При этом у растений розы микропобеги развивались во всех вариантах опыта, имели хорошо развитые зеленые листья и компактную форму, тогда как у земляники садовой в вариантах с H₂Se наблюдали угнетение побегообразования и уменьшение количества листьев (1,3-2,6 шт. при 3,6 шт. в контроле), снижалась жизнеспособность эксплантов. В целом, у представителей семейства Rosaceae испытанные концентрации H₂Se не оказывали существенного влияния на адвентивное побегообразование *in vitro*.

Наряду со способностью активизировать антиоксидантную защиту клеток за счет усиления активности целого ряда ферментов, имеются сведения об участии селена в реакциях образования хлорофилла (Whanger, 2002). Однако проведенный нами анализ

содержания хлорофилла *a* и *b* в листьях исследуемых растений, культивируемых на средах с разными концентрациями НЧ Se, не показал значимого расхождения в значениях между контрольным и опытными вариантами. Исключение составили микропобеги земляники садовой и розы садовой: концентрация 0,5 мг/л НЧ Se в питательной среде вызывала уменьшение значений хлорофилла *a/b* с 2,079/0,618 мг/г массы до 1,272/0,293 мг/г и с 3,125/0,896 мг/г до 1,76/0,453 мг/г, у земляники и розы соответственно.

Таким образом, введение НЧ Se в состав питательной среды у исследуемых культур в условиях *in vitro* (кроме розы и земляники садовой) оказывало положительное влияние на морфологические и количественные характеристики микропобегов.

Применение наночастиц оксида кремния на этапе микроразмножения *in vitro* обусловлено значительной ролью этого элемента в жизнедеятельности растений. Одна из его наиболее известных функций – смягчение влияния различных видов стресса, а также участие в ростовых процессах и повышение прочности растительной ткани. Именно защитной роли кремния как индуктора устойчивости при действии ряда абиогенных факторов посвящаются исследования последних лет (Удалова и др., 2020; Безручко, Федотова, 2021; Al-Khayri et al., 2023).

Состав питательной среды с индивидуальными для каждой культуры регуляторами роста был идентичным предыдущему опыту с НЧ Se. Среда без НЧ применялась как контроль, опытные варианты дополняли 1,0-5,0 мг/л НЧ SiO₂. Проведенные исследования позволили получить различный ответ микропобегов на присутствие НЧ SiO₂ в питательной среде (рис. 3).

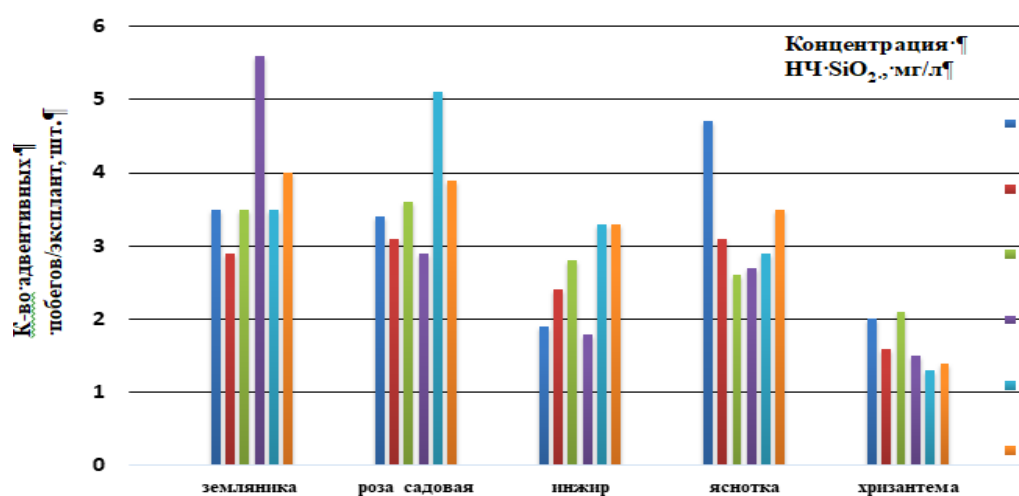


Рис. 3. Влияние НЧ SiO₂ на микроразмножение эксплантов различных культур в условиях *in vitro*

Fig. 3. Effect of SiO₂ NPs on micropropagation of the various cultures explants of *in vitro*

Результаты биометрических измерений эксплантов показали, что у яснотки голей и хризантемы под воздействием НЧ SiO₂ снижалось количество побегов с 3,5 шт./эксплант до 2,6 шт. (в контроле – 4,7 шт./эксплант) и с 2,1 до 1,3 шт./эксплант (контроль – 3,0 шт.), соответственно. При этом отмечено стимулирующее действие НЧ на ростовые процессы: у яснотки голей на среде, содержащей 3,0 мг/л НЧ SiO₂, было получено 12,6 листьев/эксплант (в контроле – 9,7 шт.). У растений хризантемы введение в состав среды 1,0-4,0 мг/л НЧ SiO₂ способствовало активному росту побегов (2,6-3,9 см) и образованию листьев (5,0-5,5 шт.).

У растений инжира в условиях *in vitro* НЧ SiO₂ индуцировали процессы побегообразования (от 1,8 до 3,3 шт./эксплант), стимулировали увеличение количества листьев (с 7,1 до 13,6 шт.) (табл. 2, рис. 4).

Таблица 2
Влияние НЧ SiO₂ на морфогенез эксплантов инжира *in vitro*
Table 2
Effect of SiO₂ NPs on the morphogenesis of *ficus carica* explants *in vitro*

Концентрация НЧ SiO ₂ , мг/л Concentration NP Se, mg/l	Количество адвентивных побегов/эксплант, шт. Number of adventitious shoots/explant	Длина побегов, см Length of shoots, cm	Среднее количество листьев/эксплант, шт. Average number of leaves/explant
0	1,9 ± 0,38	1,79 ± 0,13	7,10 ± 1,47
1,0	2,4 ± 0,34	1,41 ± 0,14	9,20 ± 1,09
2,0	2,8 ± 0,29	1,31 ± 0,13	10,70 ± 1,36
3,0	1,8 ± 0,39	1,37 ± 0,12	6,90 ± 1,60
4,0	3,3 ± 0,83	1,38 ± 0,13	13,40 ± 3,25
5,0	3,3 ± 0,58	1,20 ± 0,07	13,60 ± 2,32

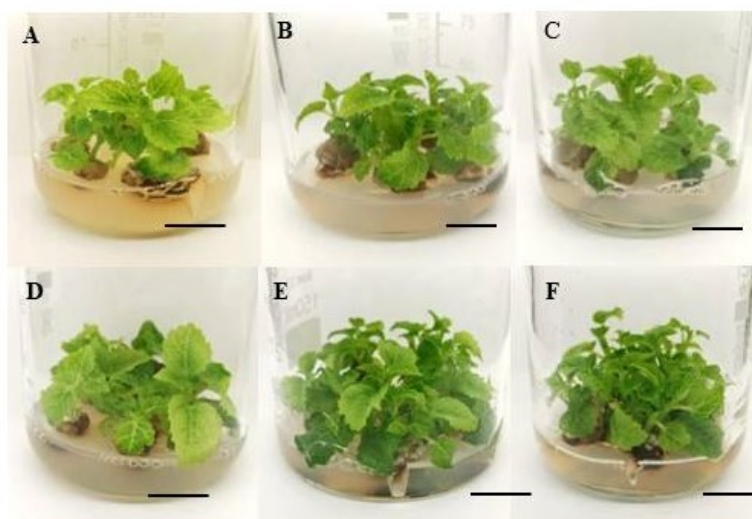


Рис. 4. Влияние концентрации наночастиц SiO₂ в питательной среде МС на образование адвентивных микропобегов инжира: А – без НЧ; В – 1,0 мг/л НЧ SiO₂; С – 2,0 мг/л НЧ SiO₂; D – 3,0 мг/л НЧ SiO₂; Е – 4,0 мг/л НЧ SiO₂; F – 5,0 мг/л НЧ SiO₂. Масштаб 1 см

Fig. 4. The influence of the concentration of SiO₂ nanoparticles in the MS culture medium on the formation of *ficus carica* adventitious microshoots: A – without NPs; B – 1.0 mg/l SiO₂ NPs; C – 2.0 mg/l SiO₂ NPs; D – 3.0 mg/l SiO₂ NPs; E – 4.0 mg/l SiO₂ NPs; F – 5.0 mg/l SiO₂ NPs. Scale bar 1 cm

Интересные результаты для земляники садовой были получены на среде, дополненной 3,0 мг/л НЧ SiO₂. Значительное увеличение количества адвентивных побегов (5,6 шт./эксплант длиной 0,2-0,3 см) в сравнении с контролем (3,5 шт./побег) сопровождалось ухудшением биометрических показателей: растения имели укороченные междоузлия, при этом уменьшался размер листовой пластинки (рис. 5).

Для микропобегов розы садовой оптимальная концентрация НЧ в питательной среде была 4,0 мг/л: количество дополнительных побегов достигала 5,1 шт./эксплант в сравнении с 3,4 шт. в контрольном варианте. Вместе с тем отмечена оводненность отдельных микропобегов и листьев.

Поскольку основным критерием результативности использования НЧ было выбрано количество адвентивных побегов, полученные данные показали неэффективность использования НЧ SiO_2 для индукции побегообразования у яснотки голой и хризантемы садовой.

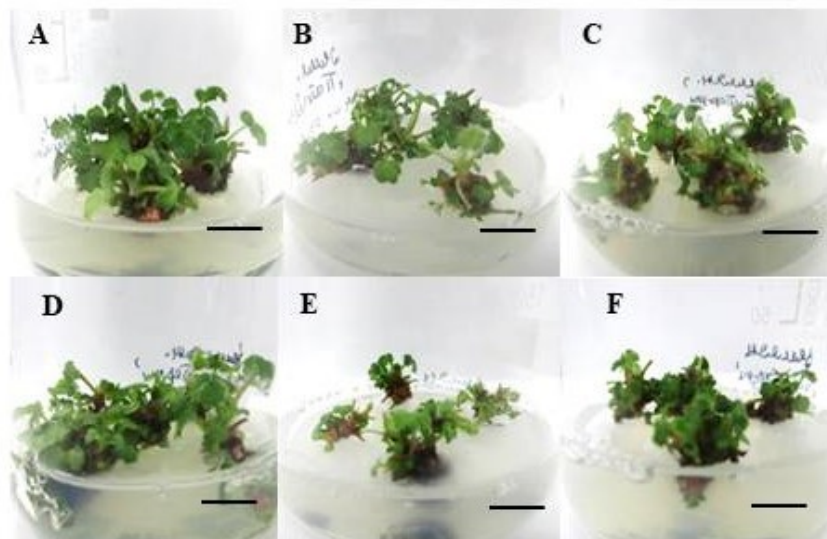


Рис. 5. Развитие микропобегов земляники садовой на питательной среде МС, дополненной НЧ SiO_2 : А – без НЧ; В – 1,0 мг/л НЧ SiO_2 ; С – 2,0 мг/л НЧ SiO_2 ; D – 3,0 мг/л НЧ SiO_2 ; E – 4,0 мг/л НЧ SiO_2 ; F – 5,0 мг/л НЧ SiO_2 . Масштаб 1 см

Fig. 5. Development of strawberry microshoots on MS culture medium supplemented with SiO_2 NPs: A – without NPs; B – 1.0 mg/l SiO_2 NPs; C – 2.0 mg/l SiO_2 NPs; D – 3.0 mg/l SiO_2 NPs; E – 4.0 mg/l SiO_2 NPs; F – 5.0 mg/l SiO_2 NPs. Scale bar 1 cm

Наиболее эффективным оказалось применение НЧ SiO_2 для культуры инжира, позволив значительно увеличить количество адвентивных побегов в течение 42 суток культивирования в сравнении с контрольным вариантом.

Таким образом, получен различный морфогенетический ответ на присутствие в питательной среде НЧ SiO_2 в зависимости от исследуемого генотипа.

Для индукции побегообразования эксплантов изучаемых культур использовали наночастицы трикальцийфосфата в составе питательной среды, с индивидуальными для каждой культуры регуляторами роста, как в предыдущих исследованиях. Опытные питательной среды дополняли 1,0-3,0 мг/л НЧ ТКФ.

Под влиянием НЧ ТКФ у земляники садовой изученные концентрации не оказали существенного влияния на образование адвентивных побегов в сравнении с контролем (табл. 3), однако при этом увеличивалась длина микропобегов, и развивались листья круглой и рассеченной формы. Лучший результат при применении НЧ ТКФ для земляники отмечен в опыте с концентрацией 3,0 мг/л.

Для инжира применение ТКФ было эффективным: при концентрации 2,0-2,5 мг/л НЧ на среде развилось 2,4-2,6 дополнительных побега (1,9 шт. в контроле) (табл. 3).

Полученные результаты применения НЧ ТКФ в условиях *in vitro* показали отсутствие положительного влияния на побегообразование розы садовой. Длина междоузлий и размер листьев уменьшались, побеги укорачивались, вследствие чего экспланты миниатюризировались и выглядели угнетенными. Адвентивные побеги были единичными, верхушки побегов некротизировались и желтели листья.

Дополнение питательной среды НЧ ТКФ для яснотки голой не оказало заметного влияния на частоту побегообразования. Вместе с тем в два раза (с 15,4 в контроле до 32,6 шт./эксплант) увеличилось количество листьев (рис. 6).

Таблица 3

Влияние НЧ ТКФ на морфогенетический потенциал эксплантов исследуемых культур *in vitro*

Table 3

Effect of TCP NPs on the morphogenetic capacity of *in vitro* explants

Культура Culture	Количество адвентивных побегов/эксплант, шт. Number of adventitious shoots/explant						
	Концентрация НЧ ТКФ, мг/л Concentration NPs TCP, mg/l						
	0	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0
земляника fragaria	3,50 ± 0,16	2,80 ± 0,29	3,20 ± 0,25	2,70 ± 0,39	3,0 ± 0,21	2,50 ± 0,43	3,30 ± 0,39
хризантема chrysanthemum	2,33 ± 0,33	1,80 ± 0,36	2,0 ± 0,56	1,0 ± 0,30	0,6 ± 0,27	1,10 ± 0,41	0,90 ± 0,35
роза rose	4,60 ± 0,75	0,45 ± 0,83	2,70 ± 0,03	2,50 ± 0,22	1,60 ± 0,16	1,90 ± 0,23	1,80 ± 0,13
инжир fig	1,90 ± 0,38	1,80 ± 0,29	2,0 ± 0,45	1,30 ± 0,33	2,40 ± 0,34	2,60 ± 0,45	2,20 ± 0,36
<i>L. glaberrimum</i>	3,40 ± 0,45	2,50 ± 0,18	2,50 ± 0,21	3,40 ± 0,33	2,90 ± 0,23	2,70 ± 0,42	3,50 ± 1,21

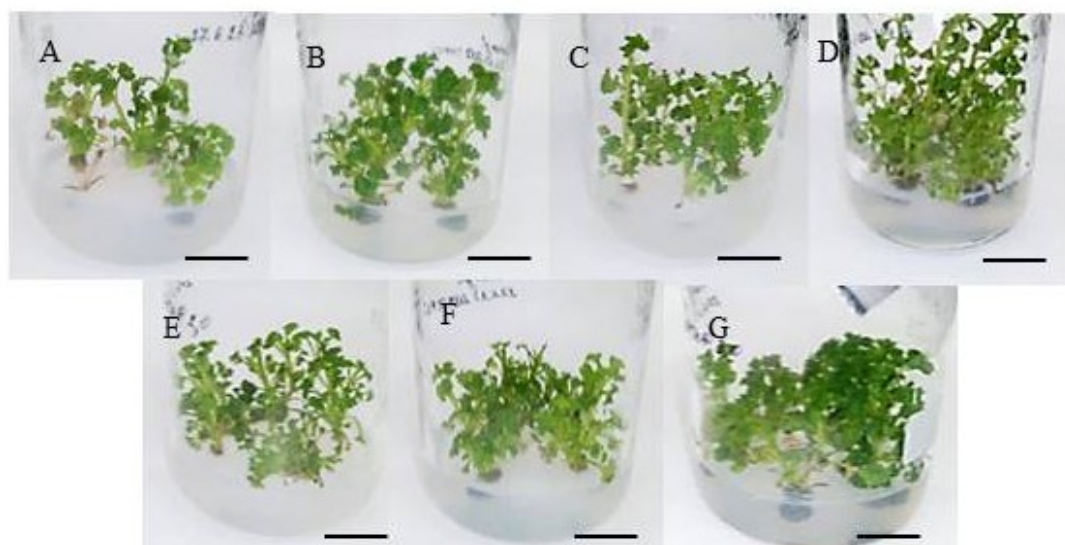


Рис. 6. Влияние НЧ ТКФ на морфогенетический потенциал *L. glaberrimum in vitro*: А – без НЧ; Б – 0,5 мг/л НЧ ТКФ; В – 1,0 мг/л НЧ ТКФ; Г – 1,5 мг/л НЧ ТКФ; Д – 2,0 мг/л НЧ ТКФ; Е – 2,5 мг/л НЧ ТКФ; Ж – 3,0 мг/л НЧ ТКФ. Масштаб 1 см

Fig. 6. The influence of TCP NPs on the morphogenetic capacity of the *L. glaberrimum in vitro*: А – without NPs; Б – 0.5 mg/l TCP NPs; В – 1.0 mg/l TCP NPs; Г – 1.5 mg/l TCP NPs; Д – 2.0 mg/l TCP NPs; Е – 2.5 mg/l TCP NPs; Ж – 3.0 mg/l TCP NPs. Scale bar 1 cm

Заключение

Таким образом, предварительные данные показали неоднозначный морфогенетический ответ эксплантов изучаемых культур на применение наночастиц в составе питательной среды *in vitro* в интервале исследуемых концентраций. Рост и развитие эксплантов инжира, земляники, хризантемы, розы садовой и яснотки голой определялись генотипом растений и концентрацией изучаемых НЧ. Улучшению габитуса исследуемых растений, развитию листьев способствовали НЧ Se. По спектру воздействия отличались НЧ ТКФ: угнетали побегообразование розы садовой и стимулировали развитие микропобегов и листьев у яснотки голой. Имеется определенный потенциал применения НЧ ТКФ, Se и SiO₂ для микропобегов инжира, поскольку они оказывают стимулирующее действие на побегообразование, увеличивая количество адвентивных микропобегов.

Благодарности

Исследования выполнены в рамках НИР FNNS-2022-0002 на оборудовании уникальной научной установки «Научный центр биотехнологии, геномики и депонирования растений» («ФИТОБИОГЕН»).

Литература / References

Безручко Е.В., Федотова Л.С. Доступный для растений кремний – фактор устойчивого производства картофеля // Агрохимия. 2021. № 8. С. 70–81. DOI: 10.31857/S0002188121080032

[Bezruchko E.V., Fedotova L.S. Plant-Friendly Silicon – a Factor in Sustainable Potato Production. *Agrochemistry*, 2021. 8:70–81. DOI: 10.31857/S0002188121080032 (In Russian)]

Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: учеб. пособие. М.: ФБК-ПРЕСС, 1999. 160 с.

[Butenko R.G. Cell biology of higher plants *in vitro* and biotechnology on their base: a training manual. Moscow: FBK-PRESS, 1999. 160 p. (In Russian)].

Титов А.Ф., Казнина Н.М., Карапетыан Т.А., Доршакова Н.В., Тарасова В.Н. Роль селена в жизнедеятельности растений, животных и человека // Успехи современной биологии. 2021. Т. 141. С. 443–456. DOI: 10.31857/S0042132421050094

[Titov A.F., Kaznina N.M., Karapetyan T.A., Dorshakova N.V., Tarasova V.N. The Role of Selenium in the Life of Plants, Animals and Human // *Advances in Current Biology*. 2021. Vol. 141: 443–456. DOI: 10.31857/S0042132421050094 (In Russian)]

Удалова Ж.В., Фолманис Г.Э., Федотов М.А., Пельгунова Л.А., Крысанов Е.Ю., Хасанов Ф.К., Зиновьева С.В. Действие нанокремния на содержание фотосинтетических пигментов и биогенных элементов в растениях томатов при инвазии галловой нематодой *Meloidogyne incognita* // Доклады Российской академии наук. Науки о жизни. 2020. Т. 495, № 1. С. 643–647. DOI: 10.31857/S2686738920060244

[Udalova Zh.V., Folmanis G.E., Fedotov M.A., Pelgunova L.A., Krysanova E.Yu., Khasanova F.K., Zinovieva S.V. Effects of silicon nanoparticles on photosynthetic pigments and biogenic elements in tomato plants infected with root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Reports of the RAS. Biological Sciences*. 2020. 495: 643–647. DOI: 10.31857/S2686738920060244 (In Russian)]

Ali A., Mashwani Z.U.R., Raja N.I., Mohammad S., Ahmad M. S., Luna-Arias J.P. Exposure of *Caralluma tuberculata* to biogenic selenium nanoparticles as *in vitro* rooting agent: Stimulates morpho-physiological and antioxidant defense system // *Plos one*. 2024. Vol. 19 (4): e0297764. DOI: 10.1371/journal.pone.0297764

Al-Khayri J.M., Rashmi R., Surya Ulhas R., Sudheer W.N., Banadka A., Nagella P., Aldaej M.I., Rezk A.A., Shehata W.F., Almaghasla M.I. The Role of Nanoparticles in Response of Plants to Abiotic Stress at Physiological, Biochemical, and Molecular Levels // *Plants*. 2023. Vol. 12 (2): 292. DOI: 10.3390/plants12020292

Ardekani M.R.S., Abdin M.Z., Nazima N., Mohammed S. Calcium phosphate nanoparticles a novel nano-viral gene delivery system for genetic transformation of tobacco // *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2014. Vol. 6 (6). P. 605–609.

Darwesh O.M., Hassan S.A., Abdallatif A. M. Improve *in vitro* multiplication of olive shoots using environmental-safe chitosan, selenium, and silver nanostructures // *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 2023. Vol. 13 (5). P. 419-431. <https://doi.org/10.33263/BRIAC135.419>

Das S., Ghosh S., Bakshi A., Khanna S., Bindhani B.K., Parhi P.K., Kumar R. Nanotechnology and Plant Biotechnology: The Current State of Art and Future Prospects. In: B. Sarkar, A. Sonawane (eds.) // *Biological Applications of Nanoparticles*. Singapore: Springer. 2023. P. 101-120. DOI: 10.1007/978-981-99-3629-8_6

Duhan J.S., Kumar R., Kumar N., Kaur P., Nehra K., Duhan S. Nanotechnology: The new perspective in precision agriculture // *Biotechnology Reports*. 2017. Vol. 15. P. 11–23. DOI: 10.1016/j.btre.2017.03.002

Hasanin M.S., Hassan S.A.M., Abdallatif A.M., Darwesh O.M. Unveiling the silver lining: examining the effects of biogenic silver nanoparticles on the growth dynamics of *in vitro* olive shoots // *Microbial Cell Factories*. 2024. Vol. 23 (1): 79. DOI: 10.1186/s12934-024-02346-9

Hayat F., Khanum F., Li J., Iqbal S., Khan U., Javed H.U., Razzaq M.K., Altaf M.A., Peng Y., Ma X., Li C., Tu P., Chen J. Nanoparticles and their potential role in plant adaptation to abiotic stress in horticultural crops: A review // *Scientia Horticulturae*. 2023. Vol. 321 (1): 112285. DOI: 10.1016/j.scienta.2023.112285

Khai H.D., Mai N.T.N., Tung H.T., Luan V.Q., Cuong D.M., Ngan H.T.M., Chau N.H., Buu N.Q., Vinh N.Q., Dung D.M., Nhut D.T. Selenium nanoparticles as *in vitro* rooting agent, regulates stomata closure and antioxidant activity of gerbera to tolerate acclimatization stress // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2022. Vol. 150 (1). P. 113–128. DOI: 10.1007/s11240-022-02250-3

Khattab S., El Sherif F., AlDayel M., Yap Y. K., Meligy A., Ibrahim H.I.M. Silicon dioxide and silver nanoparticles elicit antimicrobial secondary metabolites while enhancing growth and multiplication of *Lavandula officinalis* *in-vitro* plantlets // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2022. Vol. 149 (1). P. 411–421. DOI: 10.1007/s11240-021-02224-x

Kim D.H., Gopal J., Sivanesan I. Nanomaterials in plant tissue culture: the disclosed and undisclosed // *Royal Society of Chemistry Advances*. 2017. Vol. 7: 36492. DOI: 10.1039/c7ra07025j

Kyte L., Kieyn J., Scoggins H., Bridgen M. Plants from test tubes: an introduction of micropropagation. Portland, Oregon: Timber Press, 2013. 269 p.

Lichtenthaler H.K., Wellburn A.R. Determinations of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents // *Biochemical Society Transaction*. 1983. Vol. 11 (5). P. 591–592. DOI: 10.1042/bst0110591

Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue culture // *Physiologia Plantarum*. 1962. Vol. 15 (3). P. 473–497. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

Naqvi, S., Maitra, A. N., Abdin, M. Z., Akmal, M. D., Arora, I., Samim, M. D. Calcium phosphate nanoparticle mediated genetic transformation in plants // *Journal of Materials Chemistry*. 2012. Vol. 22 (8). P. 3500-3507. DOI:10.1039/c2jm11739h

Sharma S., Gupta S., Jain R., Kachhwaha S. SiO₂ nanoparticles as elicitor for increased rebaudioside-A in *Stevia rebaudiana* micropropagated in solid and liquid cultures: a comparative study // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2023. Vol. 155 (2). P. 541–552. DOI: 10.1007/s11240-023-02604-5

Singh Y., Kumar U., Panigrahi S., Balyan P., Mehla S., Sihag P., Sagwal V., Singh K.P., White J.C., Dhankher O.P. Nanoparticles as novel elicitors in plant tissue culture applications: Current status and future outlook // Plant Physiology and Biochemistry. 2023. Vol. 203:108004. DOI: 10.1016/j.plaphy.2023.108004

Sivanesan I., Park S.W. The role of silicon in plant tissue culture // Frontiers in Plant Science. 2014. Vol. 5: 571. DOI: 10.3389/fpls.2014.00571

Song J., Yu S., Yang R., Xiao J., Liu J. Opportunities for the use of selenium nanoparticles in agriculture // NanoImpact. 2023. Vol. 31: 100478. DOI: 10.1016/j.impact.2023.100478

Whanger P.D. Selenocompounds in plants and animals and their biological significance // Journal of the American College of Nutrition. 2002. Vol. 21 (3). P. 223–232. DOI: 10.1080/07315724.2002.10719214

Статья поступила в редакцию: 31.05.2024 г.

Korzina N.V., Ivanova N.N., Lesnikova-Sedoshenko N.P., Zhdanova I.V., Chelombit S.V., Khvatkov P.A., Dolgov S.V., Fedotov M.A. The effect of nanoparticles on the organogenesis of various plant species *in vitro* // Plant Biology and Horticulture: theory, innovation. 2024. Vol. 2 (171) P. 22-34.

Currently, the use of nanoparticles (NPs) has demonstrated their positive effects on explant sterilization, micropropagation, callus induction, organogenesis, somatic embryogenesis, genetic transformation and production of secondary metabolites. The aim of this work was to study the effect of nanoparticles of selenium (Se), silicon oxide (SiO₂) and tricalcium phosphate (Ca₃(PO₄)₂) on the growth and development *in vitro* of *Chrysanthemum × morifolium* Ramat.; *Ficus carica* L.; *Fragaria × ananassa* Dushesne; *Lamium glaberrimum* (K. Koch) Taliev and *Rosa* L. microshoots. Explants were cultivated on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with various concentrations of NPs. An ambiguous effect of NPs on morphogenesis *in vitro* was revealed depending on the genotype of the crop being studied and the type and concentration of NPs used. It was found that Se NPs had a positive effect on the growth of microshoots and the formation of leaves of chrysanthemum, fig and *Lamium glaberrimum*. Analysis of the chlorophyll *a* and *b* content in the leaves of plants cultivated on media with Se NPs did not show a significant discrepancy between the control and experimental treatments. The exception was strawberry and rose microshoots: a concentration of 0.5 mg/l Se NPs in the nutrient medium caused a decrease in chlorophyll *a/b* values from 2.079/0.618 mg/g by weight to 1.272/0.293 mg/g and from 3.125/0.896 mg/g to 1.76/0.453 mg/g for strawberries and roses, respectively. The positive effect of SiO₂ NPs at concentrations of 4.0 and 5.0 mg/l on adventitious shoot formation in fig explants was shown. It was revealed that the studied concentrations of TCP NPs affected the plant habitus, but did not contribute to shoot formation. There was no significant effect of the studied concentrations of NPS Se, SiO₂ and Ca₃(PO₄)₂ on the induction of shoot formation of the studied crops.

Ключевые слова: *Chrysanthemum × morifolium* Ramat.; *Ficus carica* L.; *Fragaria × ananassa* Dushesne; *Lamium glaberrimum* (K. Koch) Taliev; *Rosa* L.; explant; morphogenesis; *in vitro*; nanoparticle