

EDN: JOHDBL

УДК 574

Effects of Fullerenes and Nanodiamonds in Hydroponic Culture of *Triticum aestivum*

Svetlana A. Pyatina*,
Natalia G. Menzyanova and Ekaterina I. Shishatskaya
Siberian Federal University
Krasnoyarsk, Russian Federation

Received 20.02.2023, received in revised form 20.06.2024, accepted 23.06.2024

Abstract. Currently, the prospects for increasing the efficiency of various agricultural technologies are associated with the use of nanomaterials as nanopesticides, nanofertilizers, nanoadaptogens, and seed priming agents. The successful development of nanoagricultural technologies is hampered by insufficient data on the mechanisms through which the biological activity of nanomaterials is realized at various stages of development of the plant organism. Therefore, in the present work, the effects of carbon nanoparticles – fullerenes (C₆₀F) and nanodiamonds (ND) – on the germination activity of grains and the functional status of the roots of 2-day-old wheat seedlings were studied in hydroponic wheat culture. The priming effect was detected only for C₆₀P (5 µg/mL). Carbon nanoparticles did not stimulate root growth. In the ND (25 and 50 µg/mL) treatments, root growth was inhibited. An increase in the population of border cells in the root apex was detected only in the C₆₀F (50 µg/mL) treatment, where the increase in the number of border cells was accompanied by an increase in the protein content in the mucilage cap of the root apex. A decrease in the number of border cells without changes in the protein content in the apical mucilage cap was detected in the ND (50 µg/mL) and C₆₀F (25 µg/mL) treatments. Both types of nanoparticles caused a dose-dependent increase in the secretory activity of border cells. Carbon nanoparticles had dose-dependent pro-oxidant activity. ND (5 µg/mL) and C₆₀F (5 and 25 µg/mL) increased the content of carbonylated proteins in the roots of 2-day-old seedlings. An increase in malondialdehyde content was observed only in the ND (50 µg/mL) treatment. The detected dose-dependent effects of carbon nanoparticles are not associated with their penetration into cells (the sizes of nanoparticles significantly exceed the sizes of nanopores in the cell wall of wheat). It is assumed that the biological activity of C₆₀F and ND can be realized through the induction of oxidative stress in the cell wall and apoplast. Results of the current study suggest that carbon nanoparticles (of certain size classes in certain concentrations) can be regarded as promising regulators of the physiology of the root

© Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

* Corresponding author E-mail address: davebetik@mail.ru

ORCID: 0000-0003-3930-6923 (Pyatina S.); 0000-0001-7967-243X (Shishatskaya E.)

system, realizing their activity “extracellularly”, without translocation into the cell.

Keywords: carbon nanoparticles, oxidative stress, malondialdehyde, carbonylated proteins, root apex, border cells.

Citation: Pyatina S. A., Menzyanova N. G., Shishatskaya E. I. Effects of fullerenes and nanodiamonds in hydroponic culture of *Triticum aestivum*. J. Sib. Fed. Univ. Biol., 2024, 17(2), 160–176. EDN: JOHDBL



Эффекты фуллеренов и наноалмазов в гидропонной культуре *Triticum aestivum*

С. А. Пятина, Н. Г. Мензянова, Е. И. Шишацкая
Сибирский федеральный университет
Российская Федерация, Красноярск

Аннотация. В настоящее время перспективы повышения эффективности различных агротехнологий связывают с использованием наноматериалов в качестве нанопестицидов, наноудобрений, наноадаптогенов, агентов для праймирования семян. Успешное развитие наноагротехнологий сдерживается недостаточной изученностью механизмов реализации биологической активности наноматериалов на различных этапах развития растительного организма. В связи с этим в гидропонной культуре пшеницы изучали влияние углеродных наночастиц, фуллеренов ($C_{60}F$) и наноалмазов (НА), на активность прорастания зерновок и функциональный статус корня 2-суточных проростков пшеницы. Эффект праймирования был выявлен только для $C_{60}F$ (5 мкг/мл). Углеродные наночастицы не стимулировали рост корня. Для НА (25 и 50 мкг/мл) отмечалось ингибирование роста корня. Увеличение численности популяции пограничных клеток в корневом апексе было выявлено только для $C_{60}F$ (50 мкг/мл). В этом случае увеличение численности пограничных клеток сопровождалось повышением содержания белка в гелевом чехле апекса. Уменьшение численности пограничных клеток без изменения содержания белка в гелевом чехле апекса было выявлено для НА (50 мкг/мл) и $C_{60}F$ (25 мкг/мл). Оба типа наночастиц вызывали дозозависимое увеличение секреторной активности пограничных клеток. Углеродные наночастицы обладали дозозависимой прооксидантной активностью. НА (5 мкг/мл) и $C_{60}F$ (5 и 25 мкг/мл) увеличивали содержание карбонилированных белков в корнях 2-дневных проростков. Увеличение содержания малонового диальдегида наблюдалось только для НА (50 мкг/мл). Выявленные дозозависимые эффекты углеродных наночастиц не связаны с их проникновением в клетки (размеры наночастиц значительно превышают размеры нанопор в клеточной стенке пшеницы). Предполагается, что биологическая активность $C_{60}F$ и НА может реализоваться через индукцию окислительного стресса в клеточной стенке и апопласте. Полученные результаты позволяют рассматривать углеродные наночастицы (определенных размерных классов в определенных концентрациях) как перспективные регуляторы физиологии корневой системы, реализующие свою активность «экстраклеточно», без транслокации в клетку.

Ключевые слова: углеродные наночастицы, окислительный стресс, малоновый диальдегид, карбонилированные белки, корневой апекс, пограничные клетки.

Цитирование: Пятин С. А. Эффекты фуллеренов и наноалмазов в гидропонной культуре *Triticum aestivum* / С. А. Пятин, Н. Г. Мензянова, Е. И. Шишацкая // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2024. 17(2). С. 160–176. EDN: JONDBL

Введение

Нанотехнологии занимают ключевые позиции в современном мире. Успешное развитие электроники, энергетики, биомедицины, пищевой промышленности и агрокультуры зависит от наноматериалов. По прогнозам, в 2024 году мировой рынок нанотехнологий превысит 125 миллиардов долларов США и около 85 % этого рынка будут составлять наночастицы (НЧ) (Global nanotechnology market..., 2018). Эти прогнозы предполагают увеличение скорости накопления НЧ в окружающей среде. 60–90 % синтезированных НЧ (в составе различных продуктов) попадают на свалки, 10–25 % – в почву (Meramo et al., 2018). Накопление НЧ в почвенных экосистемах связано с их использованием в качестве фунгицидов, гербицидов, инсектицидов (Hafeez et al., 2021; Kamli et al., 2021), удобрений (Abdel-Aziz et al., 2021), для нанопрайминга семян (seed nano-priming) (Younas et al., 2023). Скорость развития наноагротехнологий значительно опережает формирование представлений о биологической активности НЧ, в частности их фитотоксичности.

Экспериментальные исследования свидетельствуют, что принцип классической токсикологии «доза – эффект» не всегда реализуется для НЧ. Нанопитотоксичность зависит от количества НЧ (Xiong et al., 2021), размеров (Montvydienė et al., 2021), химической природы (Liu et al., 2021), морфологии (Kladko et al., 2021), модификации поверхности (Rippner et al., 2020), поверхностного заряда (Bityutskii et al., 2021), способа получения (химический или биологический, «green» синтез) (Zhang et al., 2021b), сайта проникновения (корневая систе-

ма, листья) (Ahmed et al., 2018). Эффекты НЧ значительно варьируют в зависимости от вида растения (Jain et al., 2017), способа культивирования (гидропонные и почвенные культуры) (Ahmed et al., 2018) и стрессовых воздействий (Pandey et al., 2018). Активность депонирования НЧ в корневой системе и побегах также существенно различается (Ahmed et al., 2018). Все это определяет сложности прогнозирования эффектов НЧ в растительных экосистемах. Эта проблема особенно актуальна для углеродных НЧ, поскольку их влияние на ранние этапы развития проростка, формирование корневой системы и ризосферы изучено недостаточно, а имеющиеся экспериментальные данные противоречивы (Liu et al., 2020; Szöllösi et al., 2020). Сведения о влиянии углеродных НЧ на популяцию пограничных клеток (ПК) корневого апекса отсутствуют. Система ПК играет ключевую роль в формировании ризосферы и определяет устойчивость корневой системы и растения в целом к воздействию биотических и абиотических факторов: патогенам (Ropitau et al., 2020), водному дефициту (Carreras et al., 2020), высокой температуре (Pan et al., 2004), солевому стрессу (Ninmanont et al., 2021), индустриальным поллютантам (Nagayama et al., 2019). Можно предполагать, что формирование токсических профилей углеродных НЧ в значительной степени зависит от популяции ПК.

Изучение влияния различных абиотических факторов на популяцию ПК при культивировании растений в почве сопряжено с большими трудностями. Это определило использование гидропонных культур проростков как модельных систем для изучения биоло-

гии ПК. Разработанные Hawes и ее коллегами (Hawes, Puerpke, 1986) экспериментальные протоколы используются с небольшими модификациями и в настоящее время в исследованиях физиологии, транскриптома и метаболома ПК в гидропонных культурах (Shirakawa et al., 2023; Wang et al., 2023). Эти протоколы включают проращивание и культивирование проростков на дистиллированной воде. На ранних этапах проращивания рост проростка зависит от активности ферментов, которые включаются в гидролиз депонированных в эндосперме крахмала, липидов, белков, полифосфатов, и транспорта продуктов гидролиза (глюкоза, аминокислоты, фосфаты) к тканям проростка (Ali, Elozeiri, 2017). Это определяет возможность кратковременного (в течение нескольких дней в зависимости от вида) культивирования проростков на дистиллированной воде. В зависимости от задач исследования после кратковременного культивирования на дистиллированной воде проростки переносят на специализированные водные минеральные среды для продолжительного культивирования.

В случае изучения биологической активности НЧ культивирование проростков на дистиллированной воде позволяет исключить процессы агрегации НЧ. На простых минеральных средах НЧ агрегируют в крупные микроразмерные агрегаты, которые выпадают в осадок (Antal et al., 2023).

В связи с этим в представленной работе в гидропонной культуре *Triticum aestivum* изучали влияние углеродных НЧ, фуллеренов ($C_{60}F$) и наноалмазов (НА) на активность прорастания; активность роста корня; численность популяции ПК и содержание белка в гелевом чехле корневого апекса; содержание продуктов свободнорадикального окисления белков (карбонилированных белков, КБ) и липидов (малонового диальдегида, МДА) в корнях 2-суточных проростков.

Материалы и методы

Определение размеров агрегатов $C_{60}F$ и НА

Стабильные коллоидные водные суспензии $C_{60}F$ и модифицированных детонационных НА (Пузырь, Бондарь, 2005) были получены из лаборатории нанобиотехнологии и биолюминесценции Института биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН.

Распределение частиц по размеру кластеров в водных суспензиях определяли методом динамического рассеяния света с использованием технологии NIBS (неинвазивного обратного рассеивания) на анализаторе частиц Zetasizer Nano ZS (Malvern Ltd., Великобритания).

Гидропонная культура пшеницы

Зерно яровой короткоциклового пшеницы Новосибирская 15 было получено из Красноярского государственного аграрного университета. Сорт выведен в Сибирском научно-исследовательском институте растениеводства и селекции (Россия) и внесен в Государственный реестр сортов растений.

Подготовку зерна для гидропонного культивирования проводили в соответствии с общепринятыми протоколами (Wang et al., 2023) с небольшими модификациями. Зерно пшеницы промывали в течение 5–6 ч под проточной водой. Зерновки стерилизовали водным раствором 0,5 % $KMnO_4$ в течение 8 мин, затем несколько раз промывали дистиллированной водой (Дистиллятор GFL 2208, Германия). После стерилизации зерновки замачивали в дистиллированной воде на 24 ч при комнатной температуре. Для экспериментов отбирали проклюнувшиеся зерновки (зерновки с хорошо заметной колеризой, у которых активировался процесс элонгации клеток зародышевого корешка) и раскладывали по чашкам Петри по 50 штук в каждую. В контрольном варианте в чашки

вносили по 7 мл дистиллированной воды. В экспериментальные варианты вносили по 7 мл стабильных коллоидных водных суспензий C₆₀Ф или НА (концентрация НЧ 5, 25 и 50 мкг/мл). Контрольные и экспериментальные варианты были представлены пятью биологическими повторами (по 5 чашек Петри с зерновками). Зерно проращивали при комнатной температуре. На вторые сутки подсчитывали количество не проросших зерновок. У 2-суточных проростков определяли длину главного корня. Было проведено 6 независимых экспериментов.

Оценка численности свободных ПК

ПК получали активным смыванием с поверхности корневого апекса (Wang et al., 2023). Срезанные корни 2-суточных проростков погружали на 1 мин в ячейку культурального планшета с 1 мл дистиллированной воды, установленного на магнитной мешалке Heidolph MR Hei-Standard (Германия), скорость вращения 250 об/мин. Полученную суспензию клеток центрифугировали 900 g, 10 мин (Eppendorf 5430R, Германия). Супернатант после центрифугирования представлял собой водный раствор компонентов гелевого чехла (белков, полисахаридов и др.). В супернатанте определяли содержание общего белка по Лоури (Lowry et al., 1951). Полученный после центрифугирования осадок ПК суспендировали в дистиллированной воде и подсчитывали количество клеток в камере Горяева. Количество ПК и содержание белка в супернатанте пересчитывали на 1 корневую апекс.

Активность секреции ПК

Активность секреции ПК определяли как соотношение содержания белка в гелевом чехле одного апекса и количества свободных ПК в одном апексе.

Определение содержания КБ, МДА и пролина

У 2-суточных проростков срезали фрагменты корней с корневыми апексами длиной в 1 см. Полученную биомассу корней гомогенизировали в ручном стеклянном пестиковом гомогенизаторе в 0,05 М Трис-НСl буфере (рН=7,4), Т=4 °С. Гомогенаты центрифугировали (Eppendorf 5430R, Германия) для удаления грубого дебриса при 1200 g, 15 мин, Т=4 °С. В гомогенатах после осаждения дебриса определяли содержания КБ по методу Carty et al. (2000), МДА по методу Bailly et al. (1996), пролина по методу Bates et al. (1973), общего белка по Лоури (Lowry et al., 1951). Содержание КБ, МДА и пролина пересчитывали на 1 мг белка.

Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием стандартного пакета программ Microsoft Excel и STATISTICA 8.0. Гипотеза о нормальном распределении была подтверждена с помощью критерия соответствия χ^2 (исходя из 5 % уровня значимости). Для проверки нулевой гипотезы о равенстве средних значений двух совокупностей использовали t-критерий Стьюдента (p<0,05). Полученные данные в таблице и на графиках представляли как $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, m – ошибка среднего арифметического.

Результаты

Характеристика углеродных НЧ

Результаты измерений показали, что в стабильных коллоидных водных суспензиях средний размер агрегатов НА составлял 54 нм, C₆₀Ф – 95 нм, но индекс полидисперсности был значительно выше для C₆₀Ф. Агрегаты C₆₀Ф и НА отличались по величине отрицательного дзета-потенциала (табл.).

Таблица. Размерные характеристики и дзета-потенциал углеродных наночастиц. НА – наноалмазы, C₆₀Ф – фуллерены

Table. Size characteristics and charge of carbon nanoparticles. ND – nanodiamonds, C₆₀F – fullerenes

Наночастицы	Средний диаметр, нм	Дзета-потенциал, мВ	Индекс полидисперсности, PdI ¼
НА	54,07 ± 0,35	- 42,4	0,225 ± 0,005
C ₆₀ Ф	94,64 ± 3,12	- 38,2	0,482 ± 0,031

Активность прорастания

Количество проросших зерновок на среде с минимальной концентрацией C₆₀Ф (5 мкг/мл) было в 1,5 раза больше, чем в контроле. В концентрации 50 мкг/мл C₆₀Ф снижали количество проросших зерновок в 2,5 раза по сравнению с контрольным вариантом (рис. 1А). Для НА было выявлено только снижение активно-

сти прорастания: на средах с НА (25 и 50 мкг/мл) количество проросших зерновок было в 1,5 раза меньше, чем в контроле (рис. 1А).

Длина главного корня

2-суточных проростков

В изученных концентрациях C₆₀Ф не влияли на скорость роста корня (рис. 1Б).

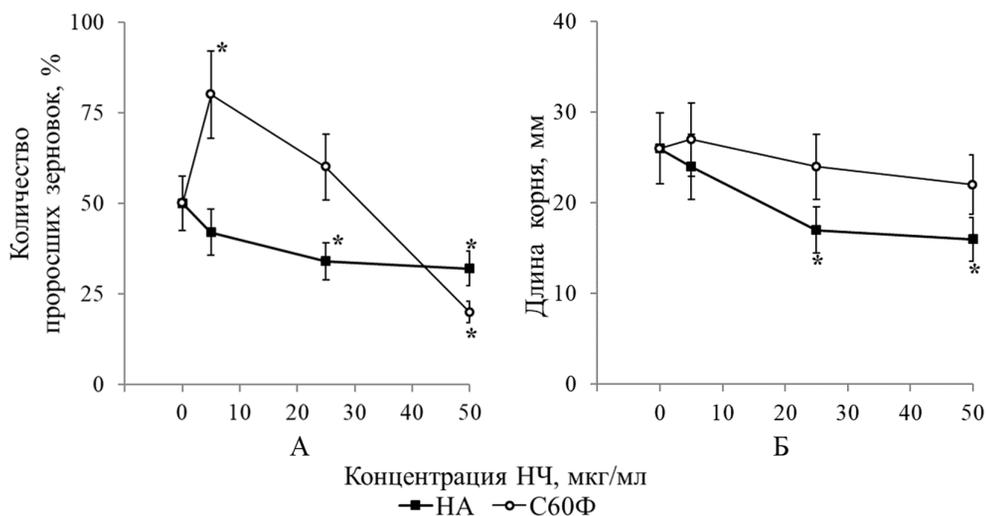


Рис. 1. Активность прорастания зерна (А) и длина корня 2-суточных проростков пшеницы (Б) на средах с углеродными наночастицами (НЧ). НА – наноалмазы, C₆₀Ф – фуллерены. Количество проросших зерновок выражено в % от общего количества зерновок в чашке Петри. Точка 0 – контрольный вариант, дистиллированная вода. На этих графиках и на графиках на рис. 2–4 данные представлены как $M \pm m$, где M – среднее арифметическое значение из 6 независимых экспериментов, m – стандартная ошибка среднего. Звездочкой (*) отмечены значения, достоверно отличающиеся от контрольного варианта (точка «0» на графике), $p < 0,05$

Fig. 1. Grain germination activity (A) and root length of 2-day-old wheat seedlings (B) on media with carbon nanoparticles (NPs). ND, nanodiamonds; C₆₀F, fullerenes. The number of germinated grains is expressed as % of the total number of grains in a Petri dish. Point 0 – control, distilled water. In these graphs and in the graphs in Figures 2–4 data are presented as $M \pm m$, where M is the arithmetic mean of 6 independent experiments, m is the standard error of the mean. An asterisk (*) indicates values that are significantly different from the control (point “0” on the graph), $p < 0,05$

В концентрациях 25 и 50 мкг/мл НА ингибировали рост корня: длина корня на средах с НА была в 1,6 раза меньше, чем в контроле (рис. 1Б).

Численность ПК в корневом апексе 2-суточных проростков

$C_{60}F$ и НА вызывали дозозависимые изменения численности популяции свободных ПК корневого апекса (рис. 2А). НА (50 мкг/мл) и $C_{60}F$ (25 мкг/мл) снижали численность ПК в 1,9 и 1,6 раза соответственно, по сравнению с контролем. Увеличение численности ПК (в 1,5 раза) было выявлено только для $C_{60}F$ в концентрации 50 мкг/мл.

Содержание белка в гелевом чехле корневого апекса 2-суточных проростков

Углеродные НЧ вызывали дозозависимое увеличение содержания общего белка

в гелевом чехле корневого апекса и увеличение активности секреции ПК (рис. 2Б, 3А). Для $C_{60}F$ увеличение количества белка в гелевом чехле было выявлено только для концентрации 50 мкг/мл (в 2,6 раза по сравнению с контролем). Но увеличение активности секреции (в среднем в 1,7 раза) наблюдалось для двух концентраций $C_{60}F$: 25 и 50 мкг/мл (активность секреции выходила на плато при концентрации 25 мкг/мл) (рис. 3А). НА увеличивали содержание белка в гелевом чехле в концентрации 5 мкг/мл (в 1,5 раза), а активность секреции ПК – в концентрации 50 мкг/мл (в 1,6 раза по сравнению с контролем) (рис. 3А).

Различный характер индуцированных углеродными НЧ дозозависимых изменений содержания белка в гелевом чехле корневого апекса, количества ПК, секреторной активности ПК позволяет предполагать сложные

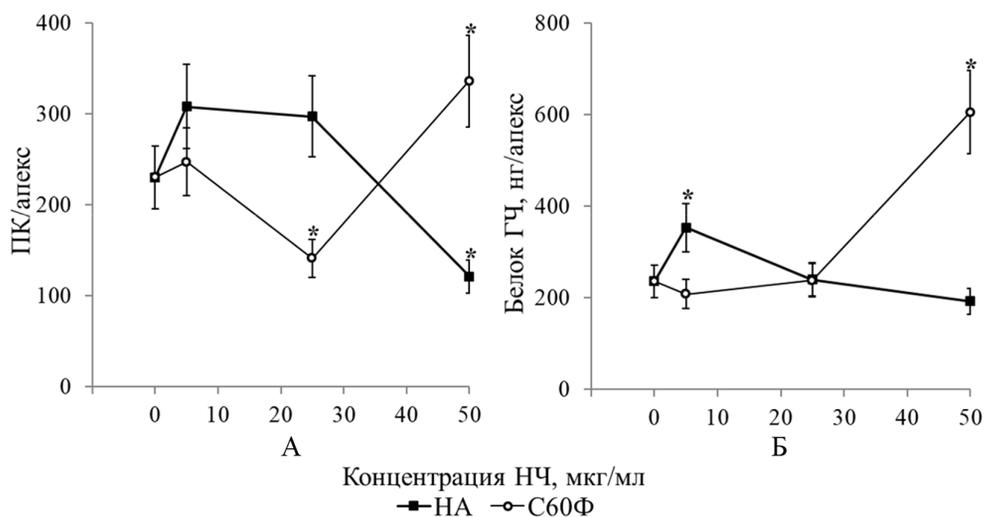


Рис. 2. Количество свободных пограничных клеток (ПК/апекс) (А) и содержание белка в гелевом чехле (Белок ГЧ, нг/апекс) (Б) корневого апекса 2-суточных проростков на средах с углеродными наночастицами (НЧ). НА – наноалмазы, $C_{60}F$ – фуллерены. Точка 0 – контрольный вариант, дистиллированная вода. Звездочкой (*) отмечены значения, достоверно отличающиеся от контрольного варианта (точка «0» на графике), $p < 0,05$

Fig. 2. The number of free border cells (BCs/apex) (A) and the protein content in the mucilage cap (MC protein, ng/apex) (B) of the root apex of 2-day-old seedlings on media with carbon nanoparticles (NPs). ND, nanodiamonds; $C_{60}F$, fullerenes. Point 0 – control, distilled water. An asterisk (*) indicates values that are significantly different from the control (point “0” on the graph), $p < 0.05$

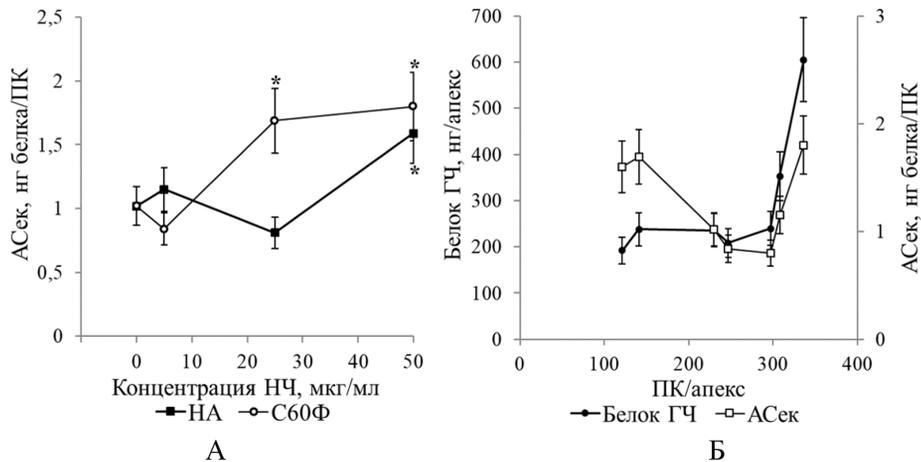


Рис. 3. Активность секреции свободных пограничных клеток корневого апекса (АСек, нг белка/ПК) (А) и соотношение содержания белка в гелевом чехле (Белок ГЧ, нг/апекс), активности секреции пограничных клеток (АСек, нг белка/ПК) и численности свободных пограничных клеток (ПК/апекс) (Б) у 2-суточных проростков на средах с углеродными наночастицами (НЧ). НА – наноалмазы, C₆₀F – фуллерены. Точка 0 – контрольный вариант, дистиллированная вода. Для рисунка (А) звездочкой (*) отмечены значения, достоверно отличающиеся от контрольного варианта (точка «0» на графике), $p < 0,05$

Fig. 3. The secretion activity of free border cells of the root apex (SecA, ng protein/BC) (A) and the ratio of the protein content in the mucilage cap (MC protein, ng/apex), the secretion activity of border cells (SecA, ng protein/BC) and the number of free border cells (BC/apex) (B) in 2-day-old seedlings on media with carbon nanoparticles (NPs). ND, nanodiamonds; C₆₀F, fullerenes. Point 0 – control, distilled water. In figure (A), an asterisk (*) indicates values that are significantly different from the control (point “0” on the graph), $p < 0.05$

нелинейные взаимоотношения между этими функциональными параметрами. В связи с этим полученные результаты были представлены в другом формате: количество белка в гелевом чехле и секреторная активность ПК анализировались как функция численности популяции ПК в корневом апексе (рис. 3Б). Зависимость содержания белка в гелевом чехле от количества ПК в корневом апексе имела нелинейный характер (рис. 3Б): начальное увеличение численности ПК от 100 до 300 клеток на апекс не сопровождалось изменениями содержания белка в гелевом чехле. Когда численность ПК достигала «порогового» значения 300 клеток на апекс, количество белка в гелевом чехле резко возрастало. Зависимость активности клеточной секреции от численности популяции ПК в корневом апексе характеризовалась U-образной кривой: высокий уровень секреторной активности отмечался

для популяций ПК, численность которых различалась 3 раза (рис. 3Б).

Таким образом, увеличение содержания белка в гелевом чехле может реализоваться за счет увеличения численности ПК и их секреторной активности. С другой стороны, в случае снижения численности популяции ПК содержание белка в гелевом чехле может поддерживаться на некотором постоянном уровне за счет компенсаторного увеличения секреторной активности ПК (рис. 3Б). Это предполагает ключевую роль ПК в регуляции молекулярного гомеостаза гелевого чехла корневого апекса.

Содержание МДА, КБ и пролина в корнях 2-суточных проростков

Известно, что НЧ могут реализовать свою биологическую активность через индукцию окислительного стресса (Horie, Tabei,

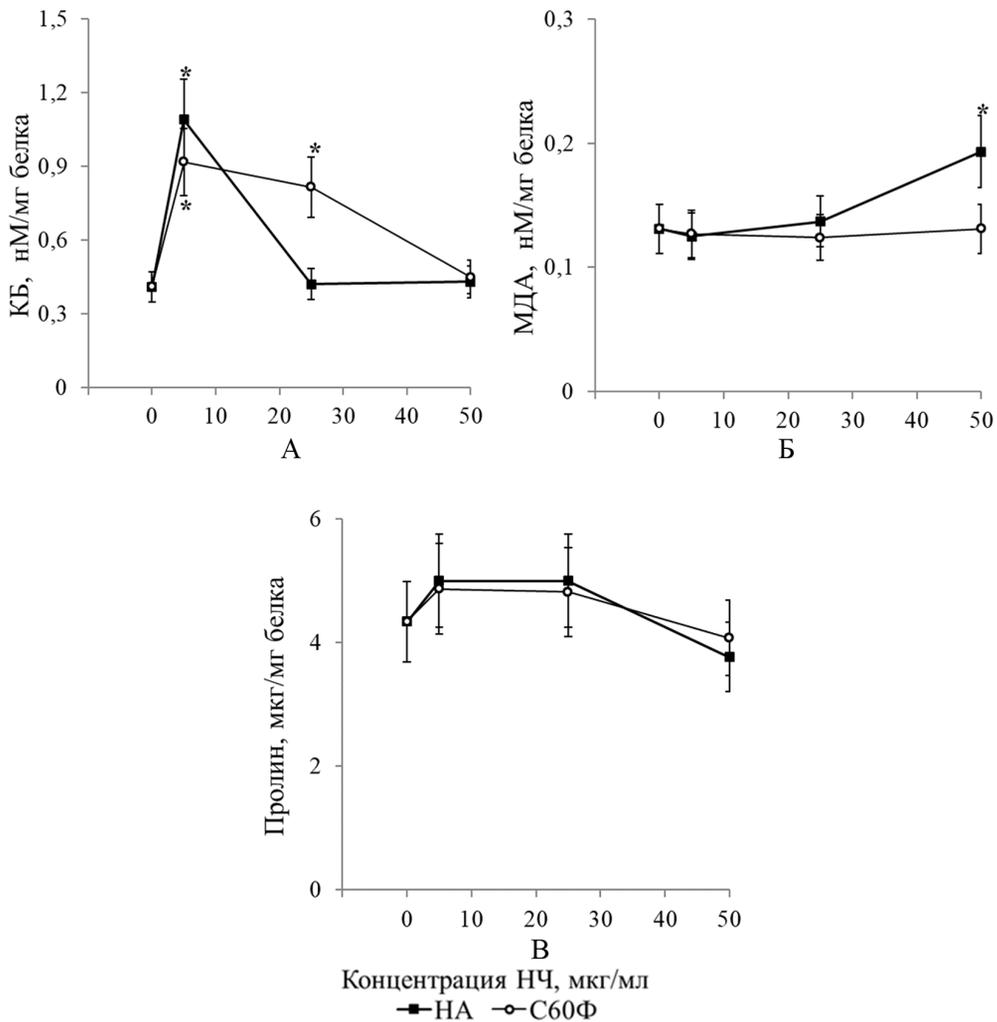


Рис. 4. Содержание карбонилированных белков (КБ, нМ/мг белка) (А), малонового диальдегида (МДА, нМ/мг белка) (Б) и пролина (Пролин, мкг/мг белка) (В) в корнях 2-суточных проростков на средах с углеродными наночастицами (НЧ). НА – наноалмазы, С₆₀Ф – фуллерены. Точка 0 – контрольный вариант, дистиллированная вода. Звездочкой (*) отмечены значения, достоверно отличающиеся от контрольного варианта (точка «0» на графике), $p < 0,05$

Fig.4. Content of carbonylated proteins (CB, nM/mg protein) (A), malondialdehyde (MDA, nM/mg protein) (B), and proline (Proline, µg/mg protein) (C) in the roots of 2-day-old seedlings on media with carbon nanoparticles (NPs). ND, nanodiamonds; C₆₀F, fullerenes. Point 0 – control, distilled water. An asterisk (*) indicates values that are significantly different from the control (point “0” on the graph), $p < 0.05$

2021). В связи с этим на следующем этапе работы в корнях проростков определяли содержание продуктов свободнорадикального окисления белков (КБ) и липидов (МДА).

НА (в концентрации 5 мкг/мл) и С₆₀Ф (в концентрациях 5 и 25 мкг/мл) вызывали увеличение содержания КБ (в 2,7 и 2 раза

соответственно) по сравнению с контролем (рис. 4А). Увеличение содержания МДА отмечалось только для НА в концентрации 50 мкг/мл (в 1,5 раза по сравнению с контролем) (рис. 4Б). Дозозависимое увеличение содержания КБ и МДА свидетельствует о проокислительной активности С₆₀Ф и НА. Следует

отметить, что НЧ не влияли на содержание низкомолекулярного скавенджера свободных радикалов пролина (рис. 4В).

Обсуждение

Многочисленные экспериментальные исследования свидетельствуют о влиянии НЧ на активность различных физиологических и биохимических систем двудольных и однодольных растений.

Механизмы реализации биологической активности НЧ изучены недостаточно. Предполагается, что как индукторы окислительного стресса НЧ реализуют свое влияние на различные эффекторные системы через сигналинг, зависящий от активных форм кислорода (АФК), окислительных модификаций белков, ДНК, липидов, полисахаридов. Следует также отметить противоречивость экспериментальных данных о взаимосвязи между активностью проникновения НЧ через клеточную стенку в клетку и масштабами структурно-функциональных перестроек внутриклеточных систем (Zafar et al., 2023).

Размеры пор в клеточной стенке различных видов варьируют от 1,5 нм до 20 нм (Schwab et al., 2016). Экспериментальные исследования свидетельствуют, что НЧ, размеры которых больше радиуса пор в клеточной стенке, не выявляются в клетках (Hu et al., 2020; Molnar et al., 2020).

В представленной работе размер агрегатов в стабильных коллоидных водных суспензиях $C_{60}F$ варьировал от 78 нм до 712 нм, в стабильных коллоидных водных суспензиях НА – от 15 нм до 59 нм. Диаметр пор в клеточной стенке клеток пшеницы составляет 1,5–3 нм (Chesson et al., 1997). Сравнение размеров агрегатов и пор в клеточной стенке позволяет заключить, что ни один размерный класс агрегатов исследованных углеродных НЧ не проникает через клеточную стенку.

Однако внесение углеродных НЧ в среду проращивания приводит к дозозависимым изменениям исследованных параметров.

Так, на среде с $C_{60}F$ (5 мкг/мл) активность прорастания зерновок была выше, чем в контроле (дистиллированная вода без НЧ) (рис. 1А). Прорастание связано с проникновением воды в зерновку через поры в клеточных стенках. Нанопрайминг стимулирует прорастание, увеличивая активность поглощения воды зерновками (Anand et al., 2019). Предполагается, что НЧ могут инициировать формирование в клеточной стенке дополнительных нанопор для молекул воды (Nile et al., 2022). Порообразующая активность $C_{60}F$ может реализоваться через ремоделирование клеточной стенки, зависящее от АФК. Известно, что при облучении видимым светом молекулы фуллеренов переходят в возбужденное триплетное состояние ($^3C_{60}^*$). Такая молекула может играть роль фотосенсилизатора, так как способна передавать энергию молекуле обычного триплетного кислорода, превращая его в синглетный кислород (Пиотровский, Киселев, 2006).

На среде с концентрацией $C_{60}F$ 50 мкг/мл активность прорастания была значительно ниже, чем на контроле (рис. 1А). Снижение активности прорастания может быть связано с процессами агрегации НЧ на поверхности клеточной стенки (Chen et al., 2018). Осаждение на поверхности клеточной стенки большого количества НЧ и формирование крупных агрегатов *in situ* блокируют нанопоры в клеточной стенке и нарушают процессы транспорта воды и кислорода в ткани зерновки, что в результате ингибирует развитие молекулярно-клеточных событий прорастания.

НА – группа углеродных НЧ, которая характеризуется локализацией на поверхности различных функциональных групп (в основ-

ном –ОН и –СООН) и большого количества С=C-связей (Kaluç, Thomas, 2022). Особенно поверхностной химии НА определяют их потенциал как антиоксидантов и сквенджеров свободных радикалов (Antal et al., 2023), а также их прооксидантную активность (Caruso et al., 2021; Zhang et al., 2021a).

В отличие от $C_{60}F$ для НА было выявлено только снижение активности прорастания (концентрации 25 и 50 мкг/мл). Это может быть обусловлено высокой активностью формирования крупных агрегатов НА на поверхности клеточной стенки и ингибированием транспорта воды и кислорода в результате механического блокирования нанопор для воды.

На средах с НА (концентрации 25 и 50 мкг/мл) у проростков наблюдалось ингибирование роста корня в длину (рис. 1Б). На ранних этапах развития проростка рост корня в длину в значительной степени определяется активностью процессов удлинения клеток в зоне элонгации (Zimmermann et al., 2022). Зона элонгации характеризуется высоким уровнем потребления кислорода (Zimmermann et al., 2022). Можно полагать, что выявленное на средах с НА ингибирование роста корня в длину обусловлено формированием крупных агрегатов НА на поверхности корня и механическим блокированием нанопор клеточных стенок, что в результате снижает активность диффузии кислорода в корень. Гипоксия в зоне элонгации корня нарушает процессы ремоделирования клеточных стенок, необходимые для удлинения клеток (Xu et al., 2023), что приводит к уменьшению длины корня проростков на средах с НА.

Одной из эффекторных мишеней НЧ является специфическая популяция клеток корневого апекса – ПК. Дифференцировка ПК сопровождается структурными перестройками клеточных стенок и отделением ПК от поверхности корневого апекса. После отделения

секреторная активность ПК значительно возрастает. Продуктом секреторной активности ПК является гелевый чехол – молекулярный матрикс, который удерживает отделившийся ПК вблизи корневого апекса. В настоящее время гелевый чехол, сформированный из экзометаболитов ПК, рассматривается как высокоэффективная функциональная система – корневая экстраклеточная ловушка (англ. “root extracellular trap”, RET) (Vincent et al., 2020). Иммобилизация в матриксе RET экотоксикантов различных химических классов и НЧ снижает активность их проникновения в апикальную меристему (Yang et al., 2016; Zhang et al., 2017; Nagayama et al., 2019). Показано, что взаимодействие НЧ со свободными ПК увеличивает активность секреции экзометаболитов, что в результате повышает эффективность иммобилизации НЧ в матриксе RET (Avellan et al., 2017). Следует отметить, что данные о влиянии углеродных НЧ, в частности НА и $C_{60}F$, на RET и популяцию свободных ПК в проанализированной литературе отсутствуют.

В нашей работе было определено влияние углеродных НЧ на численность свободных ПК и содержание белка в гелевом чехле, то есть в матриксе RET. По аналогии с НЧ металлов (Avellan et al., 2017) для объяснения выявленных эффектов углеродных НЧ можно предположить следующий сценарий развития молекулярно-клеточных событий в корневом апексе. Иммобилизация НА и $C_{60}F$ в матриксе RET запускает окислительный стресс. В случае НА (50 мкг/мл) и $C_{60}F$ (25 мкг/мл) повышение концентрации АФК в RET приводит к нарушению процессов ремоделирования клеточных стенок ПК, связанных с поверхностью корневого апекса, снижению активности их отделения и уменьшению численности свободных ПК. Находясь в матриксе RET, НА сорбируются на клеточной стенке свободных

ПК и увеличивают активность секреции экзометаболитов. Увеличение активности секреции компенсирует дефицит свободных ПК и позволяет поддерживать содержание белка в матриксе RET на уровне контрольного варианта (рис. 2Б, 3А).

Выявленное для $C_{60}F$ в концентрации 50 мкг/мл увеличение численности свободных ПК и связанное с этим повышение содержания белка в матриксе RET может быть обусловлено увеличением сорбции $C_{60}F$ на клеточной стенке ПК, еще связанных с поверхностью апекса, и активацией их отслаивания.

Еще один аспект биологической активности НА и $C_{60}F$ связан с индукцией внутриклеточного окислительного стресса в корнях 2-суточных проростков. У растений в клеточной стенке локализуются ферменты, ответственные за продукцию активных форм кислорода в апопласте: пероксидазы III класса, аминоксидазы, гермин-подобные оксалатоксидазы, хинин-редуктазы, липоксигеназы (Dauphin et al., 2022). Индуцированное углеродными НЧ ремоделирование клеточных стенок активирует эти ферменты и увеличивает продукцию активных форм кислорода в апопласте. Активные формы кислорода из апопласта переходят через плазматическую мембрану в цитоплазму, вызывают падение трансмембранного потенциала в митохондриях и активную генерацию вторичных АФК, что ведет к развитию «окислительного взрыва» (феномен АФК индуцированного образования АФК) (Zorov et al., 2000).

Снижение прооксидантной активности углеродных НЧ (уменьшение содержания КБ) при увеличении концентрации их в среде может быть обусловлено формированием на поверхности клеточных стенок крупных агрегатов НЧ, теряющих способность к генерации АФК (Yu et al., 2020).

С другой стороны, осаждение крупных агрегатов углеродных НЧ на поверхности корня и блокирование нанопор может приводить к развитию гипоксии в клетках корня. Выявленное для НА (50 мкг/мл) увеличение содержания МДА в корнях 2-суточных проростков, вероятно, является следствием индукции окислительного стресса в клетках в условиях развивающейся гипоксии (Merelli et al., 2021).

Различия выявленных дозозависимых эффектов могут быть обусловлены химическими группами, экспонированными на поверхности НЧ. Поверхностные химические группы НЧ могут определять особенности качественного и количественного спектра активных форм кислорода (Ѕарек, Rouřar, 2021) и в результате специфику процессов ремоделирования клеточной стенки. Различия в размерной гетерогенности суспензий НА и $C_{60}F$ (средний диаметр и PdI $\frac{1}{4}$ для НА в 1,8 и 2 раза соответственно меньше, чем для $C_{60}F$) не позволяют однозначно связать особенности выявленных эффектов с химией поверхности этих углеродных НЧ. Для оценки вклада химии поверхности в вариabельность эффектов НА и $C_{60}F$ необходимо использование одинаковых размерных классов НЧ. Использование в экспериментах монодисперсных суспензий НА и $C_{60}F$ позволит оценить размер-зависимую вариabельность биологической активности и выделить наиболее перспективные размерные классы НЧ, способные оказывать регуляторное воздействие на физиологию развивающегося корня проростка через индукцию «мягкого» окислительного стресса без проникновения НЧ в клетки («экстраклеточная» регуляция).

Заключение

Углеродные НЧ, $C_{60}F$ и НА оказывали влияние на процессы прорастания зерновок

пшеницы и физиологический статус развивающегося проростка: активность роста корня; численность популяции свободных ПК и их секреторную активность (содержание белка в матриксе RET); активность образования продуктов окислительной модификации белков (КБ) и липидов (МДА) в корнях проростков.

$C_{60}F$ в концентрации 5 мкг/мл увеличивали активность прорастания (эффект нанопрайминга), но не влияли на скорость роста корня развивающихся проростков. Снижение активности прорастания, выявленное для НА в концентрации 25 и 50 мкг/мл, сопровождалось ингибированием роста корня проростков. Вызванное $C_{60}F$ (50 мкг/мл) увеличение численности популяции ПК со-

провождалось повышением содержания белка в матриксе RET. НА (50 мкг/мл) и $C_{60}F$ (25 мкг/мл) снижали численность ПК без изменения содержания белка в матриксе RET. Углеродные НЧ обладали дозозависимой прооксидантной активностью. НА (5 мкг/мл) и $C_{60}F$ (5 и 25 мкг/мл) вызывали увеличение содержания КБ в корнях 2-суточных проростков. Увеличение содержания МДА наблюдалось только для НА в концентрации 50 мкг/мл.

Сравнение размеров пор в клеточной стенке и размеров агрегатов углеродных НЧ позволяет заключить, что биологическая активность исследованных $C_{60}F$ и НА не связана с их проникновением в клетку, а реализуется «экстраклеточно».

Список литературы / References

Пузырь А. П., Бондарь В. С. (2005) Способ получения наноалмазов взрывного синтеза с повышенной коллоидной устойчивостью. Патент на изобретение RU 2252192 С 2, Российская Федерация. Международная патентная классификация С 01В 31/06. Заявитель и патентообладатель Пузырь А. П. Номер заявки 2003119416/15; Дата регистрации: 26.06.2003; Дата публикации: 20.05.2005, Бюл. № 14 [Puzyr' A. P., Bondar' V. S. (2005) Method of production of nanodiamonds of explosive synthesis with an increased colloidal stability. Patent for invention RU 2252192 С 2, Russian Federation. International Patent Classification С 01В 31/06. Applicant and patent holder Puzyr' A. P. Application number 2003119416/15; Date of registration: 26.06.2003; Date of publication: 20.05.2005, Bulletin No. 14 (in Russian)]

Пиотровский Л. Б., Киселев О. И. (2006) *Фуллерены в биологии*. Санкт-Петербург, Росток, 336 с. [Piotrovsky L. B., Kiselev O. I. (2006) *Fullerenes in biology*. St. Petersburg, Rostock, 336 p. (in Russian)]

Abdel-Aziz H. M. M., Soliman M. I., Abo Al-Saoud A. M., El-Sherbeny G. A. (2021) Waste-derived NPK nanofertilizer enhances growth and productivity of *Capsicum annum* L. *Plants*, 10(6): 1144

Ahmed B., Khan M. S., Musarrat J. (2018) Toxicity assessment of metal oxide nano-pollutants on tomato (*Solanum lycopersicon*): A study on growth dynamics and plant cell death. *Environmental Pollution*, 240: 802–816

Ali A. S., Elozeiri A. A. (2017) Metabolic processes during seed germination. *Advances in Seed Biology*. Jimenez-Lopez J. C. (Ed.) InTech, p. 141–166

Anand A., Kumari A., Thakur M., Koul A. (2019) Hydrogen peroxide signaling integrates with phytohormones during the germination of magnetoprimed tomato seeds. *Scientific Reports*, 9(1): 8814

Antal T. K., Volgusheva A. A., Baizhumanov A. A., Kukarskikh G. P., Mezzi A., Caschera D., Ciasca G., Lambreva M. D. (2023) Nanodiamond particles reduce oxidative stress induced by methyl

viologen and high light in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6): 5615

Avellan A., Schwab F., Masion A., Chaurand P., Borschneck D., Vidal V., Rose J., Santaella C., Levard C. (2017) Nanoparticle uptake in plants: gold nanomaterial localized in roots of *Arabidopsis thaliana* by X-ray computed nanotomography and hyperspectral imaging. *Environmental Science & Technology*, 51(15): 8682–8691

Bailly C., Benamar A., Corbineau F., Côme D. (1996) Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. *Physiologia Plantarum*, 97(1): 104–110

Bates L. S., Waldren R. P., Teare I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1): 205–207

Bityutskii N. P., Yakkonen K. L., Puzanskiy R., Lukina K. A., Shavarda A. L., Semenov K. N. (2021) Fullerenol changes metabolite responses differently depending on the iron status of cucumber plants. *Plos One*, 16(5): e0251396

Čapek J., Roušar T. (2021) Detection of oxidative stress induced by nanomaterials in cells – the roles of reactive oxygen species and glutathione. *Molecules*, 26(16): 4710

Carreras A., Bernard S., Durambur G., Gügi B., Loutelier C., Pawlak B., Boulogne I., Vicré M., Driouich A., Goffner D., Follet-Gueye M. L. (2020) *In vitro* characterization of root extracellular trap and exudates of three Sahelian woody plant species. *Planta*, 251(1): 19

Carty J. L., Bevan R., Waller H., Mistry N., Cooke M., Lunec J., Griffiths H. R. (2000) The effects of vitamin C supplementation on protein oxidation in healthy volunteers. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 273(2): 729–735

Caruso G., Fresta C. G., Costantino A., Lazzarino G., Amorini A. M., Lazzarino G., Tavazzi B., Lunte S. M., Dhar P., Gulisano M., Caraci F. (2021) Lung surfactant decreases biochemical alterations and oxidative stress induced by a sub-toxic concentration of carbon nanoparticles in alveolar epithelial and microglial cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(5): 2694

Chen J., Yang L., Li S., Ding W. (2018) Various physiological response to graphene oxide and amine-functionalized graphene oxide in wheat (*Triticum aestivum*). *Molecules*, 23(5): 1104

Chesson A., Gardner P. T., Wood T. J. (1997) Cell wall porosity and available surface area of wheat straw and wheat grain fractions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 75(3): 289–295

Dauphin B. G., Ranocha P., Dunand C., Burlat V. (2022) Cell-wall microdomain remodeling controls crucial developmental processes. *Trends in Plant Science*, 27(10): 1033–1048

Global Nanotechnology Market (by Component and Applications), Funding & Investment, Patent Analysis and 27 Companies Profile & Recent Developments—Forecast to 2024 (2018) Available at: <https://www.researchandmarkets.com/research/zc7qgf/global?w=5> (accessed 6.02.22)

Hafeez M., Zeb M., Khan A., Akram B., Abdin Z. U., Haq S., Zaheer M., Ali S. (2021) *Populus ciliata* mediated synthesis of silver nanoparticles and their antibacterial activity. *Microscopy Research and Technique*, 84(3): 480–488

Hawes M. C., Pueppke S. G. (1986) Sloughed peripheral root cap cells: yield from different species and callus formation from single cells. *American Journal of Botany*, 73(10): 1466–1473

Horie M., Tabei Y. (2021) Role of oxidative stress in nanoparticles toxicity. *Free Radical Research*, 55(4): 331–342

Hu P., An J., Faulkner M. M., Wu H., Li Z., Tian X., Giraldo J. P. (2020) Nanoparticle charge and size control foliar delivery efficiency to plant cells and organelles. *ACS Nano*, 14(7): 7970–7986

Jain N., Bhargava A., Pareek V., Akhtar M. S., Panwar J. (2017) Does seed size and surface anatomy play role in combating phytotoxicity of nanoparticles? *Ecotoxicology*, 26(2): 238–249

Kaluç N., Thomas P. B. (2022) A carboxylated nanodiamond reduces oxidative stress and shows no sign of toxicity in yeast. *Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures*, 30(4): 487–494

Kamli M. R., Srivastava V., Hajrah N. H., Sabir J. S. M., Hakeem K. R., Ahmad A., Malik M. A. (2021) Facile bio-fabrication of Ag-Cu-Co trimetallic nanoparticles and its fungicidal activity against *Candida auris*. *Journal of Fungi*, 7(1): 62

Kladko D. V., Falchevskaya A. S., Serov N. S., Prilepskii A. Y. (2021) Nanomaterial shape influence on cell behavior. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(10): 5266

Liu Y., Ma Y., Jiao C., Liu M., Luo W., Dong C., Fan S., He X., Yang F., Zhang Z. (2021) Comparative toxicity of rod-shaped nano-CeO₂ and nano-CePO₄ to lettuce. *Metallomics*, 13(7): mfab033

Liu Y., Pan B., Li H., Lang D., Zhao Q., Zhang D., Wu M., Steinberg C. E. W., Xing B. (2020) Can the properties of engineered nanoparticles be indicative of their functions and effects in plants? *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 205: 111128

Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1): 265–275

Meramo S. I., Bonfante-Alvarez H., De Avila-Montiel G., Herrera-Barros A., Gonzalez-Delgado A. D. (2018) Environmental assessment of a large-scale production of TiO₂ nanoparticles via green chemistry. *Chemical Engineering Transactions*, 70: 1063–1068

Merelli A., Repetto M., Lazarowski A., Auzmendi J. (2021) Hypoxia, oxidative stress, and inflammation: three faces of neurodegenerative diseases. *Journal of Alzheimer's Disease*, 82(s1): S 109–S 126

Molnár Á., Rónavári A., Bélteky P., Szöllösi R., Valyon E., Oláh D., Razga Z., Ordog A., Konya Z., Kolbert Z. (2020) ZnO nanoparticles induce cell wall remodeling and modify ROS/RNS signalling in roots of Brassica seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 206: 111158

Montvydienė D., Jagminas A., Jurgelėnė Ž., Kazlauskas M., Butrimienė R., Žukauskaitė Z., Kazlauskienė N. (2021) Toxicological effects of different-sized Co–Fe (CoFe₂O₄) nanoparticles on *Lepidium sativum* L.: towards better understanding of nanophytotoxicity. *Ecotoxicology*, 30(2): 277–291

Nagayama T., Nakamura A., Yamaji N., Satoh S., Furukawa J., Iwai H. (2019) Changes in the distribution of pectin in root border cells under aluminum stress. *Frontiers in Plant Science*, 10: 1216

Nile S. H., Thiruvengadam M., Wang Y., Samynathan R., Shariati M. A., Rebezov M., Nile A., Sun M., Venkidasamy B., Xiao J., Kai G. (2022) Nano-priming as emerging seed priming technology for sustainable agriculture – recent developments and future perspectives. *Journal of Nanobiotechnology*, 20: 254

Ninmanont P., Wongchai C., Pfeiffer W., Chaidee A. (2021) Salt stress of two rice varieties: root border cell response and multi-logistic quantification. *Protoplasma*, 258(5): 1119–1131

Pan J. W., Ye D., Wang L. L., Hua J., Zhao G. F., Pan W. H., Han N., Zhu M. Y. (2004) Root border cell development is a temperature-insensitive and Al-sensitive process in barley. *Plant and Cell Physiology*, 45(6): 751–760

- Pandey K., Lahiani M.H., Hicks V.K., Hudson M.K., Green M.J., Khodakovskaya M. (2018) Effects of carbon-based nanomaterials on seed germination, biomass accumulation and salt stress response of bioenergy crops. *PLoS One*, 13(8): e0202274
- Rippner D.A., Lien J., Balla H., Guo T., Green P.G., Young T.M., Parikh S.J. (2020) Surface modification induced cuprous oxide nanoparticle toxicity to duckweed at sub-toxic metal concentrations. *Science of the Total Environment*, 722: 137607
- Ropitiaux M., Bernard S., Schapman D., Follet-Gueye M. L., Vitré M., Boulogne I., Driouich A. (2020) Root border cells and mucilage secretions of soybean, *Glycine Max* (Merr) L.: characterization and role in interactions with the oomycete *Phytophthora parasitica*. *Cells*, 9(10): 2215
- Schwab F., Zhai G., Kern M., Turner A., Schnoor J.L., Wiesner M.R. (2016) Barriers, pathways and processes for uptake, translocation and accumulation of nanomaterials in plants—Critical review. *Nanotoxicology*, 10(3): 257–278
- Shirakawa M., Matsushita N., Fukuda K. (2023) Visualization of root extracellular traps in an ectomycorrhizal woody plant (*Pinus densiflora*) and their interactions with root-associated bacteria. *Planta*, 258(6): 112
- Szöllősi R., Molnár Á., Kondak S., Kolbert Z. (2020) Dual effect of nanomaterials on germination and seedling growth: Stimulation vs. phytotoxicity. *Plants*, 9(12): 1745
- Vincent D., Rafiqi M., Job D. (2020) The multiple facets of plant–fungal interactions revealed through plant and fungal secretomics. *Frontiers in Plant Science*, 10: 1626
- Wang Q., Zhou X., He S., Wang W., Ma D., Wang Y., Zhang H. (2023) Receptor plants alleviated allelopathic stress from invasive *Chenopodium ambrosioides* L. by upregulating the production and autophagy of their root border cells. *Plants*, 12(22): 3810
- Xiong T., Zhang S., Kang Z., Zhang T., Li S. (2021) Dose-dependent physiological and transcriptomic responses of lettuce (*Lactuca sativa* L.) to copper oxide nanoparticles—insights into the phytotoxicity mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7): 3688
- Xu J., Yang C., Ji S., Ma H., Lin J., Li H., Chen S., Xu H., Zhong M. (2023) Heterologous expression of MirMAN enhances root development and salt tolerance in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 14: 1118548
- Yang J., Qu M., Fang J., Shen R.F., Feng Y.M., Liu J.Y., Bian J.F., Wu L.S., He Y.M., Yu M. (2016) Alkali-soluble pectin is the primary target of aluminum immobilization in root border cells of pea (*Pisum sativum*). *Frontiers in Plant Science*, 7: 1297
- Younas A., Xiukang W., Yousaf Z., Fiaz S., Riaz A., Hussain S., Huang S. (2023) Physiological and biochemical changes induced by Qiangdi nano-863 biological assistant growth apparatus during rice seed priming under temperature stress. *Brazilian Journal of Biology*, 83: e245206
- Yu Z., Li Q., Wang J., Yu Y., Wang Y., Zhou Q., Li P. (2020) Reactive oxygen species-related nanoparticle toxicity in the biomedical field. *Nanoscale Research Letters*, 15(1): 115
- Zafar H., Javed R., Zia M. (2023) Nanotoxicity assessment in plants: an updated overview. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(41): 93323–93344
- Zhang B., Gao Y., Zhang L., Zhou Y. (2021a) The plant cell wall: Biosynthesis, construction, and functions. *Journal of Integrative Plant Biology*, 63(1): 251–272
- Zhang H., Chen S., Jia X., Huang Y., Ji R., Zhao L. (2021b) Comparison of the phytotoxicity between chemically and green synthesized silver nanoparticles. *Science of the Total Environment*, 752: 142264

Zhang Y., Wu Y., Xu G., Song J., Wu T., Mei X., Liu P. (2017) Effects of iron toxicity on the morphological and biological characteristics of rice root border cells. *Journal of Plant Nutrition*, 40(3): 332–343

Zimmermann M. J., Bose J., Kramer E. M., Atkin O. K., Tyerman S. D., Baskin T. I. (2022) Oxygen uptake rates have contrasting responses to temperature in the root meristem and elongation zone. *Physiologia Plantarum*, 174(2): e13682

Zorov D. B., Filburn C. R., Klotz L. O., Zweier J. L., Sollott S. J. (2000) Reactive oxygen species (ROS)-induced ROS release: a new phenomenon accompanying induction of the mitochondrial permeability transition in cardiac myocytes. *Journal of Experimental Medicine*, 192(7): 1001–1014