

Научная статья

УДК 579:546.56:581.1:633.1

doi: 10.33284/2658-3135-107-1-22

Особенности влияния биосинтезированных нанопорошков на каллусные культуры *in vitro*

Анастасия Михайловна Гвоздикова^{1,4}, Оксана Борисовна Поливанова², Дарья Геннадьевна Федорова³

¹Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, Оренбург, Россия

²Российский государственный аграрный университет-МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия

^{3,4}Оренбургский государственный университет, Оренбург, Россия

^{1,4}anastasiaporv@mail.ru, <https://orcid.org/orcid.org/0000-0002-7981-7245>

²polivanovaoks@gmail.com, <https://orcid.org/orcid.org/0000-0002-3992-5452>

³daryaorlova24@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5323-4965>

Аннотация. Исследование посвящено биосинтезированным наночастицам (НЧ) феррита цинка ($ZnFe_2O_4$) в аспекте влияния на индукцию каллуса и регенерацию побегов культур базилика (*Ocimum basilicum* L.) *in vitro*. Полученные растительные культуры *in vitro* вызывают всё больший интерес во всем мире из-за их потенциала как элиситоров вторичных метаболитов с антиоксидантными свойствами. В настоящем исследовании различные концентрации НЧ $ZnFe_2O_4$ и регуляторов роста растений (цитокинов и ауксинов) были добавлены к культурам *in vitro* для устойчивого производства биомассы каллусных культур базилика *O. basilicum*. Наибольшее накопление свежей биомассы ($1,50 \pm 0,06$ г) и индекс роста (3,55) каллуса наблюдалось у культур, выращенных *in vitro* на среде MS (Мурасиге-Скуга) с ауксином – 2 мг/л 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты) и 25 мкг/л НЧ $ZnFe_2O_4$. При этом феррит цинка в концентрации 25 мкг/л значительно влиял на пролиферацию каллусной ткани, которая была более однородна по сравнению с другими вариантами сред, более антоциан-окрашена, самая крупная и по своему виду очень схожа с контролем (MS+2 мг/л 2,4-Д).

Ключевые слова: каллус, базилик, антиоксиданты, ауксины, цитокинин, нанопорошки

Благодарности: работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 23-76-10060.

Для цитирования: Гвоздикова А.М., Поливанова О.Б., Федорова Д.Г. Особенности влияния биосинтезированных нанопорошков на каллусные культуры *in vitro* // Животноводство и кормопроизводство. 2024. Т. 107, № 1. С. 22-30. <https://doi.org/10.33284/2658-3135-107-1-22>

Original article

Features of the effect of biosynthesized nanopowders on callus cultures *in vitro*

Anastasia M Gvozdikova^{1,4}, Oksana B Polivanova², Daria G Fedorova³

¹Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia

²Russian State Agrarian University - Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev, Moscow, Russia

^{3,4}Orenburg State University, Orenburg, Russia

^{1,4}anastasiaporv@mail.ru, <https://orcid.org/orcid.org/0000-0002-7981-7245>

²polivanovaoks@gmail.com, <https://orcid.org/orcid.org/0000-0002-3992-5452>

³daryaorlova24@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5323-4965>

Abstract. The study is devoted to biosynthesized nanoparticles (NPs) of zinc ferrite ($ZnFe_2O_4$) in terms of their effect on callus induction and shoot regeneration of basil crops (*Ocimum basilicum* L.) *in vitro*. *In vitro* derived plant cultures are attracting increasing interest worldwide due to their potential as

elicitors of secondary metabolites with antioxidant properties. In the present study, different concentrations of $ZnFe_2O_4$ NPs and plant growth regulators (cytokines and auxins) were added to cultures *in vitro* for sustainable biomass production of basil callus cultures *O. basilicum*. The greatest accumulation of fresh biomass (1.50 ± 0.06 g) and growth index (3.55) of callus were observed in cultures grown *in vitro* on MS medium (Murashige-Skoog) with auxin - 2 mg/l 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) and $ZnFe_2O_4$ NPs of 25 μ g/l. At the same time, zinc ferrite at a concentration of 25 μ g/l significantly affected the proliferation of callus tissue, which was more homogeneous compared to other media options, more anthocyanin-colored, the largest and very similar in appearance to the control (MS+2 mg/l 2,4-D).

Keywords: callus, basil, antioxidants, auxins, cytokinin, nanopowders

Acknowledgments: the work was supported by the Russian Science Foundation, Project No. 23-76-10060.

For citation: Gvozdikova AM, Polivanova OB, Fedorova DG. Features of the effect of biosynthesized nanopowders on callus cultures *in vitro*. *Animal Husbandry and Fodder Production*. 2024;107(1):22-30. (In Russ.). <https://doi.org/10.33284/2658-3135-107-1-22>

Введение.

Каллус – гетерогенная интегрированная структура, образующаяся в результате пролиферации клеток на поверхности отдельных структур растительного организма из исходно разных генеративных или вегетативных органов. Способность к каллусогенезу как *in vivo*, так и *in vitro* обнаружена у представителей всех порядков и классов растений. Среди различных подходов культивирования растительных клеток *in vitro* получение каллусной культуры является подходящим методом для получения здорового растительного материала и биоактивных фитохимических веществ (George EF et al., 2008). Метод культивирования растительных тканей используется для скрининга проростков и даёт возможность изучить различные аспекты роста и развития растений. Кроме того, этот метод стал жизненно важным для селекции устойчивости растений к ряду абиотических и биотических стрессов (Alharby H et al., 2016).

Самым большим преимуществом микроразмножения лекарственных растений *in vitro* является получение большего количества растений за очень короткое время в контролируемых условиях окружающей среды. В этом аспекте нанотехнологии являются новой областью, которая имеет применение в сельском хозяйстве и биотехнологии растений. Наночастицы (НЧ) могут быть синтезированы из различных органических и неорганических материалов. Тем не менее, «зелёный» синтез металлических НЧ привлёк большое внимание в связи с их широким применением в различных областях науки и техники, включая электронику и строительство, от сельского хозяйства до медицины (Sharma JK et al., 2015). Опосредованный растительным экстрактом синтез наноматериалов имеет преимущество перед химическим синтезом из-за низкой стоимости, безопасности и простоты крупномасштабного синтеза. Синтезированные «зелёные» наночастицы обладают малым размером (менее 100 нм), большой площадью поверхности и экологичностью (Santo Pereira AE et al., 2019). Зелёные синтезированные наноматериалы ускоряют прорастание и способность растений к регенерации, а также развивают устойчивость культур к различным биотическим и абиотическим стрессам (Pacheco I et al., 2018).

Малочисленны исследования, посвящённые влиянию наночастиц феррита цинка $ZnFe_2O_4$, синтезированных «зелёным» методом, на культуры тканей базилика душистого *Ocimum basilicum* как одного из ярких представителей лекарственных видов растений. В данной работе мы представляем технологию «зелёного» синтеза наночастиц феррита цинка $ZnFe_2O_4$ в щелочной среде с использованием водного экстракта петрушки *Petroselinum crispum*, оцениваем последние на предмет стимуляции каллусогенеза и формирование большей биомассы каллуса.

Цель исследования.

Оценить влияние биосинтезированных нанопорошков феррита цинка на каллусогенез, структуру и рост каллусов сортов вида базилик душистый *O. basilicum*.

Материалы и методы исследования.

Объект исследований. Каллус, полученный из листовых и стеблевых эксплантов растений базилика душистого (*O. basilicum*).

Схема эксперимента. В исследовании использовали каллус, полученный из листовых и стеблевых эксплантов растений базилика душистого (*O. basilicum*), представленных ниже сортов («Гавриш», Россия).

Русский гигант зелёный. Ранний (от всходов до технической спелости 50...60 дней) сорт крупнолистного базилика с зелёными, сладкими листьями впечатляющего размера. Приятный гвоздичный вкус и пряный аромат. Растение – прямостоячее, высотой 50...60 см.

Русский гигант фиолетовый. Среднеспелый (65...70 дней от всходов) сорт с очень крупными широкими тёмно-фиолетовыми листьями. Растение высотой 50...60 см. Благодаря высокому содержанию ЭМ растение имеет густой, насыщенный аромат и вкус с лёгкими нотками гвоздики.

Василиск. Скороспелый (60...70 дней от всходов до цветения) сорт. Куст – компактный, высотой 20...25 см, с большим количеством мелких листьев. Листья и стебель – зелёные с перечным гвоздичным запахом.

Ереванский санфир. Скороспелый сорт. Крупное растение (высотой до 65 см) с широкими листьями фиолетового цвета. Обладает густым гвоздичным ароматом. Очень неприхотлив, в короткие сроки формирует розетку массой до 300 г.

Каллус был получен на средах с различными концентрациями и соотношением ауксинов – 2,4-дихлорфеноксиуксусной (2,4-Д) и β-индолилуксусной кислот (ИУК), и цитокининов (БАП): 1 мг/л 2,4-Д; 2 мг/л 2,4-Д; 3 мг/л 2,4-Д; 3 мг/л БАП+0,3 мг/л ИУК (Гвоздиков А.М. и др., 2023).

Образцом для дальнейших исследований был выбран каллус, полученный из растений сорта Русский гигант фиолетовый на среде MS+2 мг/л 2,4-Д (первичный эксплант – стебли). Данный вариант был выбран в связи с самой высокой жизнеспособностью и типичностью каллуса для данного сорта.

Каллус, полученный из растительных эксплантов, выращивался на среде с добавлением различных концентраций НЧ феррата цинка $ZnFe_2O_4$, которые использовали в концентрациях 12,5, 25 и 50 мкг/л. Нанопорошки из наночастиц феррита цинка $ZnFe_2O_4$ получали биологическим способом (методом «зелёного» синтеза) в щелочной среде из водного экстракта петрушки *P. crispum* (Korotkova AM et al., 2019; Korotkova AM et al., 2021). Наночастицы имели мелкодисперсную структуру пластинчатой формы диаметром менее ~50 нм.

При введении в питательную среду НЧ $ZnFe_2O_4$ предварительно проводилась их обработка ультразвуком в течение 4 ч. После автоклавирования и перед использованием среды также проводилась обработка ультразвуком в течение 2 ч. Контролем служила среда без добавления НЧ $ZnFe_2O_4$. Эксперимент проводился в 3-кратной повторности.

Фиксация наблюдений проводилась в течение 1 пассажа (30 дней). Проводилось микроскопирование клеток каллуса. Определяли сухую и сырую биомассу, жизнеспособность (окрашивание клеток синькой Эванса в камере Горяева и подсчёт мёртвых и жизнеспособных клеток), индекс роста рассчитывали по следующей формуле:

$$I = \frac{W_t - W_0}{W_0},$$

где W_0 – начальная масса каллуса, г;

W_t – масса каллуса в конце цикла выращивания, г.

Оборудование и технические средства. Все исследования на этапе культивирования растений и каллусов базилика проводились на базе лаборатории биотехнологии РГАУ МСХА им. К.А. Тимирязева. Биологическая активность нанопорошков определялась в лаборатории биологических испытаний и экспертиз ЦКП БСТ РАН (<http://цкп-бст.рф>).

Статистическая обработка. Математическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью статистических функций приложения «Microsoft Office Excel 2013» («Microsoft», США). Результаты представлены в виде среднего (M) и стандартной ошибки среднего (m). Достоверность различий сравниваемых показателей определяли по t-критерию Стьюдента.

Результаты исследования.

Исходя из данных таблицы 1, можно сказать, что концентрация 25 мкг/л НЧ ZnFe₂O₄ существенно увеличивает накопление сырой биомассы каллусной культуры по сравнению со всеми опытными вариантами и контролем. Явных различий между контролем и средой с добавлением 12,5 мкг/л НЧ ZnFe₂O₄ не наблюдалось. Существенных различий в накоплении сухой биомассы между всеми вариантами и контролем не установлено. Наибольший индекс роста наблюдается в 3 варианте среды (MS+2 мг/л 2,4-Д+25 мкг/л НЧ), наименьший – в 4 (MS+2 мг/л 2,4-Д+50 мкг/л НЧ). Самая высокая жизнеспособность наблюдалась в контрольном варианте. В свою очередь при добавлении НЧ ZnFe₂O₄ во всех вариантах жизнеспособность клеток каллуса снижалась.

Таблица 1. Показатели каллусной культуры при культивировании на среде MS+2 мг/л 2,4-Д с различными концентрациями НЧ ZnFe₂O₄
Table 1. Indicators of callus culture when cultivated on MS+2 mg/l 2,4-D medium with various concentrations of NPs ZnFe₂O₄

Гормональный состав питательной среды и содержание НЧ ZnFe ₂ O ₄ / Hormonal composition of the nutrient medium and content of NP ZnFe ₂ O ₄	Сырая биомасса, г / Raw biomass, g	Сухая биомасса, г / Dry biomass, g	Индекс роста / Growth index	Жизнеспособность клеток, % / Cell viability, %
Контроль / Control	1,27±0,02	0,08±0,02	2,85	83,16...96,85
MS+2 мг/л 2,4-Д+12,5 мкг/л НЧ / MS+2 mg/l 2,4-D+12,5 µg/l NP	1,30±0,03	0,07±0,04	2,94	54,00±9,00
MS+2 мг/л 2,4-Д+ 25 мкг/л НЧ / MS+2 mg/l 2,4-D+ 25 µg/l NP	1,50±0,06	0,08±0,02	3,55	62,00±5,00
MS+2 мг/л 2,4-Д+ 50 мкг/л НЧ / MS+2 mg/l 2,4-D+ 50 µg/l NP	1,02±0,09	0,05±0,03	2,09	75,00±7,00

На рисунке 1 видно, что каллус на среде MS+2 мг/л 2,4-Д+25 мкг/л НЧ ZnFe₂O₄ является более однородным по сравнению с другими вариантами сред, более антоциан-окрашенным, самым крупным и по своему виду очень схож с контролем. Каллус, полученный на среде с добавлением 50 мкг/л НЧ ZnFe₂O₄, получился рыхлым, а на среде с добавлением 12,5 мкг/л НЧ ZnFe₂O₄, наоборот – плотным.

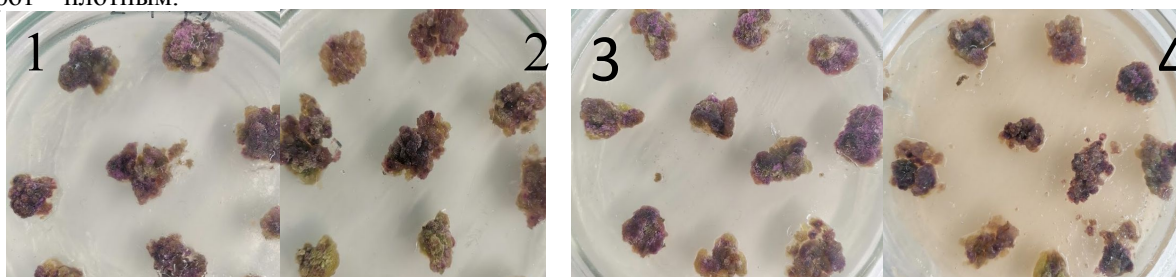


Рисунок 1. Каллус *O. basilicum*, полученный при культивировании на среде MS+2 мг/л с добавлением различных концентраций НЧ ZnFe₂O₄: 1 – контроль; 2 – MS+2 мг/л 2,4-Д+12,5 мкг/л НЧ; 3 – MS+2 мг/л 2,4-Д+25 мкг/л НЧ; 4 – MS+2 мг/л 2,4-Д+50 мкг/л НЧ

Figure 1. Callus of *O. basilicum* obtained by cultivation on MS+2 mg/l medium with the addition of various concentrations of NPs ZnFe₂O₄: 1 – control; 2 – MS+2 mg/l 2,4-D+12.5 µg/l NPs; 3 – MS+2 mg/l 2,4-D+25 µg/l NPs; 4 – MS+2 mg/l 2,4-D+50 µg/l NPs

Обсуждение полученных результатов.

Внесение средней концентрации 2,4-Д (2 мг/л) в среду приводило к увеличению биомассы первичных каллусов, что благоприятнее сказывается на интенсивности каллусогенеза по сравнению

нию с другими ауксинами (ИУК) и цитокинином БАП. Известно, что используемые нами ауксины (2,4-Д и ИУК) не являются взаимозаменяемыми. Так, в зависимости от концентрации 2,4-Д либо увеличивает рост клеток растяжением, либо стимулирует клеточные деления. При этом ИУК влияет не только на деление и растяжение клеток, но и на скорости синтеза вторичных метаболитов (Palni LM, 1988).

Известно, что цитокинины (в нашем случае – БАП) увеличивают чувствительность клеток к ауксинам и изменяют эндогенный метаболизм ауксина, уменьшая активность оксидаз (Palni LM, 1988). Однако внесение в среду БАП при постоянном количестве ауксина (ИУК) в питательной среде не приводит к заметному увеличению показателей биомассы.

В некоторых случаях для того, чтобы получить морфогенный отклик, достаточно использовать только ауксин или цитокинин. Кроме того, их эффекты могут быть прямо противоположными. Так, нами показано, что культивирование каллусной культуры на среде с ауксином способствовало увеличению биомассы каллуса, в то время как добавление цитокинина данный показатель ингибировало.

Следует отметить, что в стимуляции морфогенеза, инициирования и поддержания каллусных культур участвуют и другие метаболиты, в частности, минеральные компоненты. Выбор солевой среды может влиять как на ход морфогенеза *in vitro*, так и на сохранение морфогенетического потенциала каллусных культур. Нами было установлено, что «сильные» растворы MS способствуют лучшему росту эмбриоидов.

Представленные результаты показывают, что в то время как каллусы продолжают интенсивный рост на среде с гормонами (контрольный вариант), каллусы на фоне наноматериалов последовательно снижают прирост сырой биомассы и останавливаются в росте. Увеличение концентрации $ZnFe_2O_4$ приводило к отрицательному ответу ионов, что может быть связано с повреждением клеточной стенки (Kokina I et al., 2017). Хорошо известно, что более высокие концентрации НЧ проявляют токсичность как в тканях животных, так и в тканях растений (Nguyen NHA et al., 2018). Вероятно, НЧ посредством прикрепления к каллусу могут вызывать морфологические и физиологические изменения механическим путём (Tombuloglu H et al., 2019). Возможный механизм действия НЧ на растительную клетку заключается в том, что НЧ чрезвычайно реакционноспособны, поэтому могут легко прикрепляться к поверхности растительной клетки и высвобождаемые ионы Fe^{+3} на поверхности клеток легко впитываются в клетки благодаря меньшему размеру частиц, что приводит к изменению роста и развития растений (Al-Amri N et al., 2020). Причём ионы в высоких концентрациях могут ограничивать цепь переноса электронов хлоропластов и митохондрий, что может привести к окислительному взрыву с высокой концентрацией АФК, вызывая гибель клеток (Khan MN et al., 2017), что, в свою очередь, снижает частоту индукции каллуса.

Известно, что наночастицы сильно влияют на физиологию каллуса и вторичный метаболизм, вызывая ситуацию окислительного стресса в каллусной ткани. В конечном итоге это активирует метаболические реакции растений – смягчение последствий окислительной вспышки за счёт производства различных фитохимических веществ (Choi O, Hu Z, 2008).

Можно предположить, что наноматериалы, имеющие чрезвычайно малые размеры, входят в экспланты и впоследствии могут влиять на генетическое перепрограммирование (Martinez-Fernandez D et al., 2016). Аналогичным образом, влияние НЧ на растения также зависит от концентрации частиц, вида растений и времени экспозиции (Zuverza-Mena N et al., 2017).

Аналогичные результаты получены Shankamma K с коллегами (2016) на растениях томата, которые показали снижение частоты регенерации при высокой концентрации наночастиц оксида железа. Напротив, другие авторы показали существенное влияние железосодержащих наноматериалов на индукцию каллусогенеза (Li J et al., 2016; Abbasi BA et al., 2019).

Заключение.

O. basilicum является важным лекарственным растением и нуждается в устойчивых средствах для увеличения производства биомассы и лекарственных метаболитов. В настоящем исследовании

довании был стандартизирован возможный протокол формирования каллуса. В результате проведённых исследований установлено, что для каллусогенеза лучшими первичными эксплантами являются стебли растений сорта Русский гигант фиолетовый, полученные на среде MS+2 мг/л 2,4-Д. Добавление $ZnFe_2O_4$ *in vitro* в сочетании с MS и 2 мг/л 2,4-Д приводило к пролиферации каллуса. Было обнаружено, что применение $ZnFe_2O_4$ в дозе 25 мкг/л индуцирует максимальный прирост сырой биомассы и наибольший индекс роста каллусов. При этом, для получения жизнеспособных каллусных линий необходимо присутствие в MS-среде ауксина (2,4-Д) (контроль).

Список источников

1. Исследование каллусных культур *O. basilicum* / А.М. Гвоздикова, С.В. Лебедев, М.Ю. Чередниченко, О.Б. Поливанова // Животноводство и кормопроизводство. 2023. Т. 106. № 1. С. 239-247. [Gvozdikova AM, Lebedev SV, Cherednichenko MYu, Polivanova OB. Study of callus cultures of *O. basilicum*. Animal Husbandry and Fodder Production. 2023;106(1):239-247. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.33284/2658-3135-106-1-239>
2. Abbasi BA, Iqbal J, Zahra SA, Shahbaz A, Kanwal S, Rabbani A, et al. Bioinspired synthesis and activity characterization of iron oxide nanoparticles made using Rhamnus Triquetra leaf extract. Mater Res Express 2019;6(12):1250e7. doi: 10.1088/2053-1591/ab664d
3. Al-Amri N, Tombuloglu H, Slimani Y, Akhtar S, Barghouthi M, Almessiere M, et al. Size effect of iron (III) oxide nanomaterials on the growth, and their uptake and translocation in common wheat (*Triticum aestivum* L.). Ecotoxicol Environ Safe. 2020;194:110377. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.110377
4. Alharby H, Metwali E, Fuller M, Aldhebiani A. Impact of application of zinc oxide nanoparticles on callus induction, plant regeneration, element content and antioxidant enzyme activity in tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.) under salt stress. Archives of Biological Sciences. 2016;68(4):723-735. doi: 10.2298/ABS151105017A
5. Choi O, Hu Z. Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria. Environ Sci Technol. 2008;42(12):4583-4588.
6. Khan MN, Mobin M, Abbas ZK, AlMutairi KA, Siddiqui ZH. Role of nanomaterials in plants under challenging environments. Plant Physiol Biochem. 2017;110:194-209. doi: 10.1016/j.plaphy.2016.05.038
7. Kokina I, Mickeviča I, Jahundoviča I, Ogurcovs A, Krasovska M, Jermalonoka M, et al. Plant explants grown on medium supplemented with Fe_3O_4 nanoparticles have a significant increase in embryogenesis. J Nanomaterials. 2017;2017:4587147. doi: 10.1155/2017/4587147
8. Korotkova AM, Polivanova OB, Gavrish IA, Baranova EN, Lebedev SV. Green synthesis of zinc based nanoparticles zinc ferrite by *Petroselinum crispum*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2019;341:012175. doi: 10.1088/1755-1315/341/1/012175
9. Korotkova AM, Polivanova OB, Lebedev SV, Vershinina IA. Biological testing of powders based on Fe and Zn obtained in parsley extract. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2021;624:012009. doi: 10.1088/1755-1315/624/1/012009
10. Li J, Hu J, Ma C, Wang Y, Wu C, Huang J, et al. Uptake, translocation and physiological effects of magnetic iron oxide (γ - Fe_2O_3) nanoparticles in corn (*Zea mays* L.). Chemosphere. 2016;159:326-334. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.05.083
11. Martı́nez-Fernańdez D, Barroso D, Komańrek M. Root water transport of *Helianthus annuus* L. under iron oxide nanoparticle exposure. Environ Sci Pollut Res Int. 2016;23:1732-1741. doi: 10.1007/s11356-015-5423-5
12. Nguyen NHA, Padil VVT, Slaveykova VI, Āernı́k M, Ševců A. Green synthesis of metal and metal oxide nanoparticles and their effect on the unicellular alga *Chlamydomonas reinhardtii*. Nanoscale Res Lett. 2018;13:159. doi: 10.1186/s11671-018-2575-5

13. Pacheco I, Buzea C. Nanoparticle uptake by plants: beneficial or detrimental? In: Faisal M, Saquib Q, Alatar AA, Al-Khedhairi AA, editors. Phytotoxicity of nanoparticles. Cham: Springer International Publishing; 2018:1-61. doi: 10.1007/978-3-319-76708-6_1
14. Palni LM, Burch L, Horgan R. The effect of auxin concentrations on cytokinin stability and metabolism. *Planta*. 1988;174(2):213-234.
15. Plant Propagation by Tissue Culture 3rd edition. Volume 1. The Background. In: George EF, Hall MA, De Klerk GJ, editors. Springer, 2008:501 p. doi: 10.1007/978-1-4020-5005-3_8
16. Santo Pereira AE, Oliveira HC, Fraceto LF. Polymeric nanoparticles as an alternative for application of gibberellic acid in sustainable agriculture: a field study. *Sci Rep*. 2019;9:7135. doi: 10.1038/s41598-019-43494-y
17. Shankamma K, Yallappa S, Shivanna MB, Manjanna J. Fe₂O₃ magnetic nanoparticles to enhance *S. lycopersicum* (tomato) plant growth and their biomineralization. *Appl Nanosci*. 2016;6:983-990. doi: 10.1007/s13204-015-0510-y
18. Sharma JK, Srivastava P, Akhtar MS, Singh G, Ameen S. α -Fe₂O₃ hexagonal cones synthesized from the leaf extract of *Azadirachta indica* and its thermal catalytic activity. *New J Chem*. 2015;39(9):7105-7111. doi: 10.1039/C5NJ01344E
19. Tombuloglu H, Slimani Y, Alshammari T, Kekec G, Almessiere M, Baykal A, et al. Magnetic behavior and nutrient content analyses of barley (*Hordeum vulgare* L.) tissues upon CoNd_{0.2}Fe_{1.8}O₄ magnetic nanoparticle treatment. *J Soil Sci Plant Nutri*. 2019;20:357-366. doi: 10.1007/s42729-019-00115-x
20. Zuverza-Mena N, Marti'nez-Ferna'ndez D, Du W, Hernandez-Viezcas JA, Bonilla-Bird N, Lo'pez-Moreno ML, et al. Exposure of engineered nanomaterials to plants: Insights into the physiological and biochemical responses-A review. *Plant Physiol Biochem*. 2017;110:236-264. doi: 10.1016/j.plaphy.2016.05.037

References

1. Gvozdikova AM, Lebedev SV, Cherednichenko MYu, Polivanova OB. Study of callus cultures of *O. basilicum*. *Animal Husbandry and Fodder Production*. 2023;106(1):239-247. doi: <https://doi.org/10.33284/2658-3135-106-1-239>
2. Abbasi BA, Iqbal J, Zahra SA, Shahbaz A, Kanwal S, Rabbani A, et al. Bioinspired synthesis and activity characterization of iron oxide nanoparticles made using *Rhamnus Triquetra* leaf extract. *Mater Res Express* 2019;6(12):1250e7. doi: 10.1088/2053-1591/ab664d
3. Al-Amri N, Tombuloglu H, Slimani Y, Akhtar S, Barghouthi M, Almessiere M, et al. Size effect of iron (III) oxide nanomaterials on the growth, and their uptake and translocation in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Ecotoxicol Environ Safe*. 2020;194:110377. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.110377
4. Alharby H, Metwali E, Fuller M, Aldhebani A. Impact of application of zinc oxide nanoparticles on callus induction, plant regeneration, element content and antioxidant enzyme activity in tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.) under salt stress. *Archives of Biological Sciences*. 2016;68(4):723-735. doi: 10.2298/ABS151105017A
5. Choi O, Hu Z. Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria. *Environ Sci Technol*. 2008;42(12):4583-4588.
6. Khan MN, Mobin M, Abbas ZK, AlMutairi KA, Siddiqui ZH. Role of nanomaterials in plants under challenging environments. *Plant Physiol Biochem*. 2017;110:194-209. doi: 10.1016/j.plaphy.2016.05.038
7. Kokina I, Mickeviča I, Jahundoviča I, Ogurcovs A, Krasovska M, Jermal'onoka M, et al. Plant explants grown on medium supplemented with Fe₃O₄ nanoparticles have a significant increase in embryogenesis. *J Nanomaterials*. 2017;2017:4587147. doi: 10.1155/2017/4587147

8. Korotkova AM, Polivanova OB, Gavrish IA, Baranova EN, Lebedev SV. Green synthesis of zinc based nanoparticles zinc ferrite by *Petroselinum crispum*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2019;341:012175. doi: 10.1088/1755-1315/341/1/012175
9. Korotkova AM, Polivanova OB, Lebedev SV, Vershinina IA. Biological testing of powders based on Fe and Zn obtained in parsley extract. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2021;624:012009. doi: 10.1088/1755-1315/624/1/012009
10. Li J, Hu J, Ma C, Wang Y, Wu C, Huang J, et al. Uptake, translocation and physiological effects of magnetic iron oxide (γ -Fe₂O₃) nanoparticles in corn (*Zea mays* L.). Chemosphere. 2016;159:326-334. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.05.083
11. Marti'nez-Ferna'ndez D, Barroso D, Koma'rek M. Root water transport of *Helianthus annuus* L. under iron oxide nanoparticle exposure. Environ Sci Pollut Res Int. 2016;23:1732-1741. doi: 10.1007/s11356-015-5423-5
12. Nguyen NHA, Padil VVT, Slaveykova VI, Černík M, Ševců A. Green synthesis of metal and metal oxide nanoparticles and their effect on the unicellular alga *Chlamydomonas reinhardtii*. Nanoscale Res Lett. 2018;13:159. doi: 10.1186/s11671-018-2575-5
13. Pacheco I, Buzea C. Nanoparticle uptake by plants: beneficial or detrimental? In: Faisal M, Saquib Q, Alatar AA, Al-Khedhairi AA, editors. Phytotoxicity of nanoparticles. Cham: Springer International Publishing; 2018:1-61. doi: 10.1007/978-3-319-76708-6_1
14. Palni LM, Burch L, Horgan R. The effect of auxin concentrations on cytokinin stability and metabolism. Planta. 1988;174(2):213-234.
15. Plant Propagation by Tissue Culture 3rd edition. Volume 1. The Background. In: George EF, Hall MA, De Klerk GJ, editors. Springer, 2008:501 p. doi: 10.1007/978-1-4020-5005-3_8
16. Santo Pereira AE, Oliveira HC, Fraceto LF. Polymeric nanoparticles as an alternative for application of gibberellic acid in sustainable agriculture: a field study. Sci Rep. 2019;9:7135. doi: 10.1038/s41598-019-43494-y
17. Shankamma K, Yallappa S, Shivanna MB, Manjanna J. Fe₂O₃ magnetic nanoparticles to enhance *S. lycopersicum* (tomato) plant growth and their biomineralization. Appl Nanosci. 2016;6:983-990. doi: 10.1007/s13204-015-0510-y
18. Sharma JK, Srivastava P, Akhtar MS, Singh G, Ameen S. α -Fe₂O₃ hexagonal cones synthesized from the leaf extract of *Azadirachta indica* and its thermal catalytic activity. New J Chem. 2015;39(9):7105-7111. doi: 10.1039/C5NJ01344E
19. Tombuloglu H, Slimani Y, Alshammari T, Kekec G, Almessiere M, Baykal A, et al. Magnetic behavior and nutrient content analyses of barley (*Hordeum vulgare* L.) tissues upon CoNd_{0.2}Fe_{1.8}O₄ magnetic nanoparticle treatment. J Soil Sci Plant Nutri. 2019;20:357-366. doi: 10.1007/s42729-019-00115-x
20. Zuverza-Mena N, Marti'nez-Ferna'ndez D, Du W, Hernandez-Viezcas JA, Bonilla-Bird N, Lo'pez-Moreno ML, et al. Exposure of engineered nanomaterials to plants: Insights into the physiological and biochemical responses-A review. Plant Physiol Biochem. 2017;110:236-264. doi: 10.1016/j.plaphy.2016.05.037

Информация об авторах:

Анастасия Михайловна Гвоздикова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биологических испытаний и экспертиз, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29; старший научный сотрудник НОЦ «Биологические системы и нанотехнологии», Оренбургский государственный университет, 460018, Оренбург, пр. Победы, 13, тел.: 89822084220.

Оксана Борисовна Поливанова, кандидат биологических наук, доцент кафедры биотехнологии, Российский государственный аграрный университет-МСХА имени К.А. Тимирязева, 127434, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49, тел.: 89689874703.

Дарья Геннадьевна Федорова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, доцент кафедры биологии и почвоведения, руководитель научной группы ботанического сада, Оренбургский государственный университет, 460018, Оренбург, пр. Победы, 13, тел.: 89878918303.

Information about the authors:

Anastasia M Gvozdikova, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher of Laboratory of Biological Testing and Expertise, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29, 9 Yanvaryaya St., Orenburg, 460000; Senior Researcher at the Research Center Biological Systems and Nanotechnologies, Orenburg State University, 13 Pobedy Ave., Orenburg, 460018, tel.: 89822084220.

Oksana B Polivanova, Cand. Sci. (Biology), Associate Professor of the Department of Biotechnology, Russian State Agrarian University - Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev, 127434, Timiryazevskaya st., 49, Moscow, 127434, tel.: 89689874703.

Daria G Fedorova, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Associate Professor of the Department of Biology and Soil Science, Head of the Scientific Group of the Botanical Garden, Orenburg State University, 13 Pobedy Ave., Orenburg, 460018, tel.: 89878918303.

Статья поступила в редакцию 10.11.2023; одобрена после рецензирования 22.01.2024; принята к публикации 18.03.2024.

The article was submitted 10.11.2023; approved after reviewing 22.01.2024; accepted for publication 18.03.2024.