

УДК 57.043, 57.044

ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ МОЛОДЫХ РАСТЕНИЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ МНОГОСТЕННЫХ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК – ПЕРСПЕКТИВНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЙ

© О.А. Акимова, А.А. Гусев, О.Н. Зайцева, А.Г. Ткачев

Ключевые слова: биотестирование; ранний онтогенез растений; многостенные углеродные нанотрубки; нанотоксичность, биотехнологии.

Наноматериалы находят все большее применение во многих отраслях промышленности и в биотехнологиях, однако их биологическое воздействие на живые организмы во многом остается невыясненным. Целью данного исследования было определение характера воздействия углеродного наноматериала «Таунит» на основе многостенных углеродных нанотрубок на ранние стадии онтогенеза высших растений. Проведены эксперименты по проращиванию семян в коллоидных растворах наноматериала различных концентраций. Установлено, что действие наноматериала видоспецифично, однако линейного дозозависимого эффекта выявлено не было. Обнаружены как стрессорные, так и стимулирующие эффекты. Показано, что заметное воздействие наноматериала наблюдается даже при низких концентрациях – 1 мг/л.

ВВЕДЕНИЕ

Ввиду малых размеров (диаметр трубок – несколько нанометров, а длина – до нескольких микрометров) углеродные наноматериалы (УНМ) представляют собой новый класс квазиодномерных объектов и обладают рядом уникальных свойств: химическая и термическая стабильность, значительная прочность в сочетании с высокими значениями упругой деформации, хорошая электропроводность, способность к холодной эмиссии электронов и аккумулярованию газов, наличие диамагнитных свойств (рис. 1).

По мнению экспертов, УНМ перспективны в качестве аккумуляторов водорода, газораспределительных слоев топливных элементов, высокоэффективных адсорбентов, структурных модификаторов конструкционных материалов, добавок в смазочные композиции, лаки и краски, элементов радиоэлектроники. Широко

обсуждается использование табулированных углеродных структур в тонком химическом синтезе, биологии, медицине [1]. Поскольку в результате широкого промышленного использования УНМ могут попасть в окружающую среду и вступить в круговорот веществ в природе, необходимы тщательные исследования как химических свойств этого материала, так и всех возможных последствий взаимодействия их с живыми системами. В связи с тем, что растения являются пищевой базой (напрямую или косвенно) для всех обитателей планеты, в первую очередь необходимо тестирование УНМ именно на представителях этой таксономической группы.

В литературе описан ряд исследований, посвященных влиянию углеродных нанотрубок на растения [2–3]. Однако в них не уделено внимания поиску пороговых недействующих концентраций изученных материалов, а также отсутствует характеристика зависимости исследуемых параметров растений от концентрации нанотрубок. Ранее нами было показано, что УНМ «Таунит» оказывает существенное влияние на некоторые показатели развития высших растений на ранних стадиях онтогенеза. Так, например, проводилось биотестирование УНМ «Таунит» на семенах пшеницы яровой (*Triticum durum Desf.*, 1818, сорт – Эстер). Выяснилось, что УНМ «Таунит» оказывает подавляющее действие на процессы раннего вегетативного онтогенеза растений пшеницы сорта Эстер, что выражается в достоверном снижении роста-весовых показателей и запаздывании развития по сравнению с контрольной группой. Вместе с тем отмечено позитивное влияние наноматериала на устойчивость семян и развитие корневой системы. Также зафиксирован положительный эффект УНМ «Таунит» на всхожесть семян и на защищенность их от гниения [4].

Задачей нашего исследования было изучение влияния УНМ «Таунит» на растительные организмы на ранних стадиях онтогенеза.

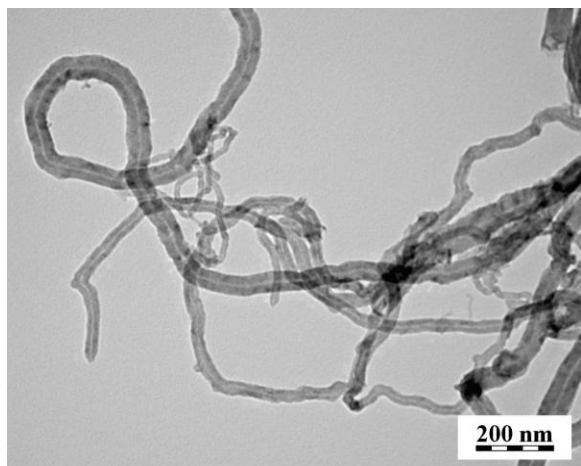


Рис. 1. Микрофотография углеродного наноматериала «Таунит»

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объектов биотестирования были выбраны эспарцет посевной (*Onobrychis sativa* Lam.) и овес посевной (*Avena sativa* L., 1753).

Эспарцет посевной (*Onobrychis sativa* Lam.) – многолетняя кормовая трава семейства мотыльковых; относится к сильным медоносам, отличается засухоустойчивостью. Возделывается в крупных масштабах на Украине, Северном Кавказе и в черноземных районах юго-восточной части Сибири.

Таким образом, это растение имеет большое значение в качестве кормового и медоносного объекта, кроме того, эспарцет – неприхотливое и удобное в использовании при проведении эксперимента растение.

Овес посевной (*Avena sativa*) – однолетнее травянистое растение, вид рода Овес (*Avena*), широко используемый в сельском хозяйстве злак. Овес посевной – неприхотливое к почвам и климату растение со сравнительно коротким (75–120 дней) вегетационным периодом [5]. Оба эти растения входят в перечень индикаторов токсичности наноматериалов МУ 1.2. 2635-10 [6]. Кроме того, актуальность выбора данных тест-объектов связана с тем, что наноматериалы – перспективные носители удобрений для сельскохозяйственных растений.

В ходе эксперимента проводилось тестирование коллоидного раствора углеродного наноматериала «Таунит» в дистиллированной воде в пяти различных концентрациях: 1; 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001 %. В качестве контроля были взяты дистиллированная вода и коллоидные растворы технического углерода – сажи – ГОСТ 7885-86 (концентрации 1; 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001 %) в

дистиллированной воде. Оценивались такие показатели, как энергия прорастания, всхожесть, длина подземных и надземных частей растений. Методика проращивания на средах, содержащих тестируемые материалы, соответствовала требованиям МУ 1.2. 2635-10 [6]. Подготовленные к биотестированию семена помещались в увлажненный субстрат (кварцевый песок) в чашках Петри, из расчета на каждую чашку по 50 семян. Для каждого варианта обработки была предусмотрена пятикратная повторность опыта. Сначала проводился посев контрольных семян, затем – опытных с минимальными интервалами по времени. Затем каждая чашка маркировалась соответственно. Подготовленные таким образом чашки Петри помещались в термостат на проращивание.

На седьмой день эксперимента проводилось измерение длины корневых систем и надземных частей растений. Оценка достоверности выявленных различий проводилась с помощью *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В эксперименте с эспарцетом в результате измерений было выявлено, что ряд исследуемых параметров существенно изменяется под действием как УНМ «Таунит», так и технического углерода (табл. 1), особенно при высоких концентрациях.

В частности, отмечается достоверное различие в реакциях на УНМ и на технический углерод, при этом УНМ в большей степени стимулирует рост корневых систем и надземных частей растений, но подавляет энергию прорастания и всхожесть (рис. 2).

Таблица 1

Значения *T*-критерия Стьюдента в экспериментах с эспарцетом ($T_{st} = 2,01$)

Концентрация УНМ	Контроль			
	дистиллированная вода		технический углерод	
	корень	стебель	корень	стебель
1:100	3,79	2,29	3,74	3,04
1:1000	2,52	2,12	4,82	2,86
1:10000	3,44	2,78	1,96	2,12
1:100000	3,99	2,36	0,55	1,18
1:1000000	0,62	1,74	1,67	1,78

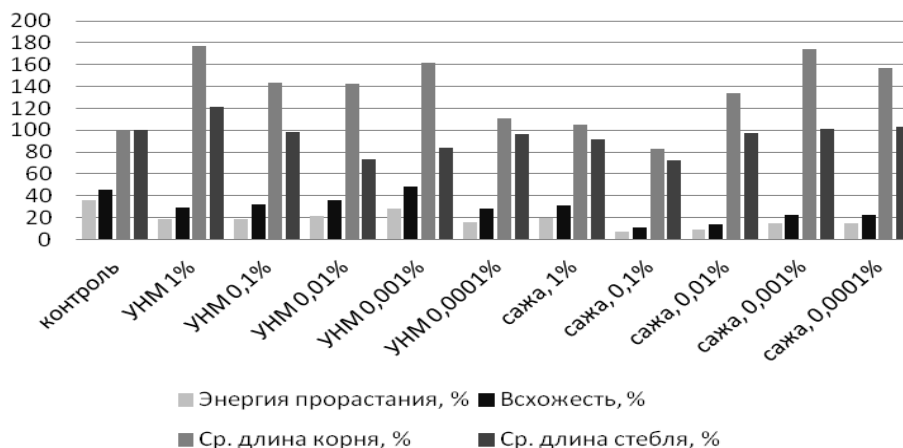


Рис. 2. Результаты морфометрических исследований влияния наноматериала на эспарцет

Значения T -критерия Стьюдента в экспериментах с эспарцетом ($T_{st} = 2,01$)

Концентрация УНМ	Контроль			
	дистиллированная вода		техническая сажа	
	корень	стебель	корень	стебель
1:100	0,12	2,37	0,96	0,66
1:1000	1,01	2,01	2,69	2,54
1:10000	0,16	3,13	2,46	4,17
1:100000	0,37	1,68	1,39	2,37
1:1000000	0,46	0,05	0,55	1,66

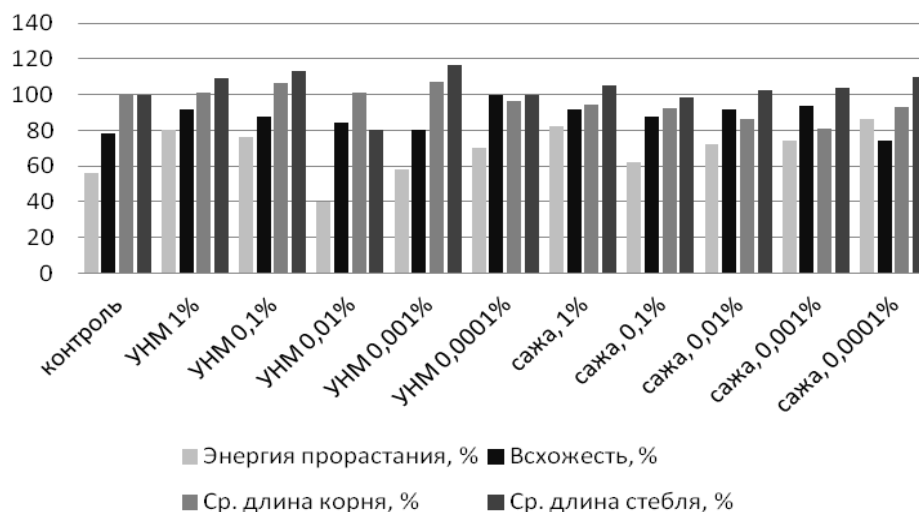


Рис. 3. Результаты морфометрических исследований влияния наноматериала на овес

В то же время идентичный эксперимент на овсе посеяном показал несколько другие результаты. В частности, отмечаются достоверные различия в длине стеблей при концентрациях от 1 до 0,0001 %. Однако в длине корней достоверных различий не наблюдается (табл. 2).

Также «Таунит» практически во всех концентрациях стимулирует энергию прорастания и всхожесть семян. Только концентрация 1:10000 оказывает ингибирующее воздействие на эти параметры (рис. 3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Можно заключить, что углеродный наноматериал «Таунит» во всех исследованных концентрациях влияет на витальные и морфометрические показатели, и его воздействие является видоспецифичным. Отмечается наличие как стрессорного, так и стимулирующего эффектов в зависимости от исследуемого показателя и концентрации наноматериала. В ходе экспериментов по некоторым показателям не удалось найти минимальную недействующую концентрацию. Даже при концентрации УНМ 1 мг/л обнаружены существенные различия по энергии прорастания и всхожести. Выявлено достоверное различие в биологическом действии на тест-объекты природного (сажа) и искусственного углеродных наноматериалов. Кроме того, стоит отметить выраженный подавляющий эффект наноматериала в концентрации 1:1000 на энергию прорастания и всхо-

жесть у овса и такой же эффект концентрации 1:10000 на длину зеленых побегов у эспарцета.

Причиной отмеченных негативных эффектов может быть повреждающее воздействие на растения со стороны углеродных нанотрубок [7]. Стимуляцию, в свою очередь, можно объяснить образованием под действием нанотрубок дополнительных водных пор – аквапорин [8], что улучшает водообеспечение проростков и приводит к интенсификации процессов их роста и развития. Однако точные механизмы обнаруженных явлений, также как и границы, разделяющие негативные и позитивные эффекты углеродных нанотрубок на растения, нуждаются в дополнительных исследованиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ткачев А., Мищенко С., Негров В., Меметов Н., Пасько А., Блинов С., Турлаков Д. Промышленное производство углеродного наноструктурного материала «Таунит» // *Наноиндустрия: научно-технический журнал*. 2007. Вып. 2. С. 24-26.
2. Khodakovskaya M., Dervishi E., Mahmood M., Xu Y., Li Z.R., Watanabe F., Biris A.S. Carbon Nanotubes Are Able To Penetrate Plant Seed Coat and Dramatically Affect Seed Germination and Plant Growth // *ACS Nano*. 2009. V. 3 (10). P. 3221-3227.
3. Liu Q., Chen B., Wang Q., Shi X., Xiao Z., Lin J. // *Nano Lett.* 2009. V. 9. P. 1007.
4. Гусев А.А., Емельянов А.В., Шутова С.В., Ткачев А.Г., Поздняков А.П., Пиляшенко Н.Е., Зайцева О.А. Исследование биологических аспектов безопасности многостенных углеродных нанотрубок // *Актуальные инновационные исследования: наука и практика*. Тамбов, 2009. № 3-4. С. 1.
5. Рожевец Р.Ю. Флора СССР: в 30 т. / под ред. В.Л. Комарова. М.: Л.: Изд-во АН СССР, 1934. Т. 2.

6. Медико-биологическая оценка безопасности наноматериалов. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. 123 с.
7. Смирнова Е.А., Гусев А.А., Зайцева О.Н., Лазарева Е.М., Онищенко Г.Е. Углеродные нанотрубки проникают в ткани и клетки и оказывают стимулирующее воздействие на проростки эспарцета *Onobrychis arenaria* (Kit.) Ser. // Acta naturae. 2011. Т. 3. № 1 (8). С. 106-113.
8. Khodakovskaya M.V., de Silva K., Biris A.S., Dervishi E., Villagarcia H. Carbon Nanotubes Induce Growth Enhancement of Tobacco Cells // ACS Nano. 2012. V. 6 (3). P. 2128-2135.

БЛАГОДАРНОСТИ: Научно-исследовательская работа проведена в рамках реализации Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы (госконтракт № 16.740.11.01-94 от 24.09.2010 г.).

Поступила в редакцию 6 сентября 2012 г.

Akimova O.A., Gusev A.A., Zaitseva O.N., Tkachev A.G. RESEARCH OF CHANGES IN MORPHOMETRIC PARAMETERS OF YOUNG PLANTS UNDER THE INFLUENCE OF MULTI-WALLED CARBON NANOTUBES – A PROMISING MATERIAL FOR BIOTECHNOLOGY

Nanomaterials are increasingly used in many industries and in agriculture, but their biological effects on living organisms remains largely unexplained. The purpose of this study was to determine the nature of the impact of carbon nanomaterial “Taunit” based on multiwalled carbon nanotubes on the early stages of ontogeny of higher plants. Experiments on the germination of seeds in colloidal solutions of different concentrations of nanomaterials were made. The effect of species-specific nanomaterial, but a linear dose-response relationship was not found. Stressful and stimulating effects were established. It was shown that a significant effect of the nanomaterial is observed even at low concentrations – 1 mg/l.

Key words: biological testing; early ontogeny of plants; multiwall carbon nanotubes; nanosafety; nanobiotechnology.