

## Влияние наноконпозиций на основе производных легких фуллеренов на культурные растения в благоприятных и стрессовых условиях среды их обитания

© Г.Г. Панова,<sup>1</sup> К.Н. Семенов,<sup>2</sup> А.М. Артемьева,<sup>1,3</sup> Е.А. Рогожин,<sup>4,5</sup> А.С. Барашкова,<sup>4</sup> Д.Л. Корнюхин,<sup>3</sup> Ю.В. Хомяков,<sup>1</sup> Е.В. Балашов,<sup>1</sup> А.С. Галушко,<sup>1</sup> В.Е. Вертебный,<sup>1</sup> А.С. Журавлева,<sup>1</sup> Е.Н. Волкова,<sup>1</sup> А.М. Шпанев,<sup>1</sup> О.Р. Удалова,<sup>1</sup> Е.В. Канаш<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Агрофизический научно-исследовательский институт, 195220 Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, 197022 Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup> ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, 190000 Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup> Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997 Москва, Россия

<sup>5</sup> Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, 119435 Москва, Россия  
e-mail: gaiane@inbox.ru

Поступило в Редакцию 10 января 2022 г.

В окончательной редакции 10 января 2022 г.

Принято к публикации 1 марта 2022 г.

Актуальность разработки новых форм экологически безопасных, стабильных по составу, функциональной активности, биодegradуемых препаратов комплексного положительного действия на растения остается высокой. Работа посвящена ознакомлению с обобщенными результатами междисциплинарных исследований влияния на систему почва (почвозаменитель) — культурные растения созданных нами наноконпозиций на основе углеродных (водорастворимые полигидроксилированные, карбоксилированные и аминокислотные производные фуллерена C<sub>60</sub>) наноструктур с добавками микроэлементов в определенных концентрационных соотношениях. На основании ранее выявленных диапазонов концентраций испытуемых производных фуллеренов с положительным влиянием на растения при обработке семян, внесении в почву, другие корнеобитаемые среды и некорневом воздействии, разработаны их композиции с солями микроэлементов, которые испытаны в серии вегетационных и полевых экспериментов в регулируемых благоприятных условиях и при моделировании окислительного стресса, вызванного УФ-В облучением, дефицитом почвенной влаги, дефицитом элементов питания, фитопатогенами, а также в природных условиях Ленинградской области. Выявлены основные механизмы положительного воздействия (регуляторного на системы жизнедеятельности, адаптогенного, иммуномодуляторного, протекторного) созданных наноконпозиций на растения, и показана перспективность их применения в растениеводстве.

**Ключевые слова:** наноконпозиции, водорастворимые фуллерены C<sub>60</sub>, полигидроксилированный C<sub>60</sub>, карбоксилированный C<sub>60</sub>, аминокислотные производные C<sub>60</sub>, система почва (почвозаменитель) — растение, продукционный процесс, абиотические стрессы, устойчивость.

DOI: 10.21883/JTF.2022.07.52662.344-21

### Введение

Потребность в экологически безопасных биодegradуемых препаратах стабильного комплексного положительного действия на растения делает актуальным поиск и разработку новых их форм, и перспективные источники таких препаратов — водорастворимые производные фуллеренов. Они находят применение в самых разных областях науки и техники, в том числе в медицине и биологии [1]. Так, в результате многочисленных исследований установлены антибактериальная [2] и противовирусная активности производных фуллеренов, их антиоксидантные свойства [3–8], способность выступать

в качестве комплексообразователей, обеспечивающих доставку радиоактивных элементов к клеткам-мишеням, а также повышать выживаемость простейших и устойчивость органов и тканей животных и человека к действию стрессовых факторов (гамма-облучение, химиотерапия и др.) [1,9–11], в виде тенденции — увеличивать продолжительность жизни опытных животных в связи с подавлением развития в их клетках окислительного стресса [12]. В отношении оценки влияния производных фуллеренов на агро- и экосистемы, их живые компоненты, включая растения, исследовательских работ в литературе имеется крайне мало [13–15]. При этом информация носит противоречивый характер. Так, в

работах разных авторов показано, что полигидроксилированный фуллерен в определенных концентрациях способен повреждать клетки лука [16], способствовать увеличению плотности культуры зеленой водоросли *Pseudokirchneriella subcapitata*, ускорению роста гипокотилия у арабидопсиса [17], возрастанию биомассы растений горькой дыни при обработке семян его раствором, увеличению ее урожая, содержания в плодах ряда полезных веществ [18]. Влияние производных фуллеренов, как и других наноматериалов определяется их размерами, составом функциональных групп, концентрацией, а также видовыми различиями в реакции растений и условиями окружающей среды [1,19,20]. Положительный эффект указанных соединений на растения предположительно ассоциируется с антиоксидантной активностью, а именно со способностью связывать активные формы кислорода, как это было наглядно показано на примере растений ячменя [21,22].

Также практически не изучены вопросы о поглощении производных фуллеренов, их распределении, трансформации или разложении в растительном организме. Так, о способности растений, на примере риса, редиса, репчатого лука, горькой дыни, пшеницы поглощать и аккумулировать производные фуллерена  $C_{60}$  или  $C_{70}$  сообщается в литературе [13,14,16,18,23]. Водорастворимые производные фуллерена  $C_{60}$  проникают через мембраны животного и растительного происхождения или как липофильные ионы, или в нейтральной форме после протонирования [23]. На примере проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и редиса (*Raphanus sativus* L.) показано, что поглощение растениями производных фуллерена  $C_{60}$  и  $C_{70}$  зависит от их концентрации в корнеобитаемой среде, и эти соединения аккумулируются преимущественно в корнях [14,24]. О механизмах возможного опосредованного влияния водорастворимых производных фуллеренов на растения после попадания их в почву практически ничего не известно. Нами впервые показано, что повышение нетто-продуктивности растений и их устойчивости к окислительному стрессу после введения полигидроксилированных, карбоксилированных и аминокислотных производных  $C_{60}$  в корнеобитаемую среду или после некорневой обработки растений, очевидно, связано с установленными изменениями в структуре и эффективности фотосинтетического аппарата, а также с влиянием на процессы метаболизма, обмена растений, системы их антиоксидантной защиты, а именно на интенсивность перекисного окисления липидов, активность супероксиддисмутазы, генерацию активных форм кислорода [21,25–28].

Цель настоящей работы — на основе обобщения полученных данных описать основные особенности влияния наноконпозиций, состоящих из водорастворимых производных легких фуллеренов  $C_{60}$ , микроэлементов, на культурные растения и среду их обитания в регулируемых благоприятных условиях и при физическом моделировании окислительного стресса, а также в природных условиях Ленинградской области.

## 1. Материалы и методы

Предметом исследований являлись водорастворимые производные фуллеренов  $C_{60}$ : полигидроксилированный (фуллеренол), аминокислотные (с пролином, гидроксипролином, треонином, метионином, глутамином, гистидином, цистеином) и карбоксилированный (трис малонат), синтезированные по ранее разработанной одностадийной методике из индивидуальных фуллеренов, фуллереновой смеси или фуллереновой сажи при помощи водного раствора щелочи и межфазного катализатора (гидроксид тетрабутиламмония — ТВАН) [29,30], а также наноконпозиции на основе синтезированных фуллеренов с растворами микроэлементов (ноу-хау). Концентрации производных фуллеренов  $C_{60}$  в диапазоне: 0.001–1100 mg/l воды.

Для усиления протекторных функций водорастворимых производных фуллерена  $C_{60}$  разработаны конпозиции их с антимикробными пептидами, а именно смешанные растворы в различных концентрационных соотношениях трис малоната  $C_{60}$  и комплекса тионинов, полученного из семян черного тмина (*Nigella sativa* L.), ранее приобретенных на территории Турецкой Республики, в дальнейшем хранящихся в темном проветриваемом помещении при температуре +15–+18°C, согласно апробированному ранее алгоритму, включающему в себя кислотную экстракцию механически измельченных семян с последующим переосаждением белково-пептидной фракции ацетоном, обессоливании и трехстадийном фракционировании различными методами жидкостной хроматографии — псевдоаффинной и обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии [31].

Объектом исследований служили тестовые культурные растения на примере различных сортов или гибридов яровых ячменя, мягкой пшеницы ряда овощных культур — кресс-салат, салат, томат, огурец и др., семена которых получены из коллекции ФГБНУ ФИЦ ВИР, ФГБНУ ФНЦО и селекционно-семеноводческих компаний: „Гавриш“, АО ССПП „Сортсеменовод“.

Исследования проводили на биополигонах ФГБНУ АФИ в регулируемых и естественных условиях природной среды, а также в теплицах ФГБНУ ФИЦ ВИР. Для выращивания растений на биополигоне ФГБНУ АФИ с регулируемыми условиями микроклимата использовали оригинальные опытные образцы вегетационных светостановок (ВСУ) [25,26,28].

Оценку фунгицидной и бактерицидной активности изучаемых наноматериалов и наноконпозиций на их основе, проведение серии микровегетационных опытов по оценке влияния указанных веществ на устойчивость тестовых растений к заражению фитопатогенными микроорганизмами грибной и бактериальной природы проводили по методикам, изложенным нами в публикации [32]. В качестве фитопатогенов использовали: а) возбудителя сосудистого бактериоза капусты *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*,

штамм 5212 (получен из Национальной Коллекции Фитопатогенных Бактерий (Великобритания), как типовой штамм расы 1 возбудителя сосудистого бактериоза капусты *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris*); б) грибных возбудителей темно-бурой пятнистости ячменя и корневой гнили гриб *Cochliobolus sativus* (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur, черни колоса злаковых — *Alternaria* sp.; фузариоза — *Fusarium graminearum* Schwabe; сухой гнили моркови — *Phoma rostrupii* Sacc. (получены из Отдела Генетики ФГБНУ ФИЦ ВИР им. Н.И. Вавилова).

Растения выращивали в серии вегетационных экспериментов в благоприятных условиях световой, корнеобитаемой и воздушной среды, а также при физическом моделировании действия окислительного стресса (дефицит почвенной влаги, облучение высокоинтенсивной УФ-В радиацией), а также в полевых экспериментах на агрополигоне в Гатчинском районе Ленинградской области. В вегетационных экспериментах с физическим моделированием дефицита почвенной влаги растения яровой пшеницы сортов Ленинградская 6 и Опал выращивали в сосудах (объем 3 л) с дерново-подзолистой почвой в условиях постоянно проветриваемой поликарбонатной теплицы при естественных освещенности, температуре и влажности воздуха и в регулируемых условиях агрополигона ФГБНУ АФИ соответственно. Влажность почвы поддерживали на уровне 60% от полной влагоемкости путем взвешивания сосудов на весах и увлажнения их водой в рассчитанных количествах. В период развития растений — фаза кущения—фаза трубкования — трижды с интервалом 5–7 дней осуществляли их некорневую обработку из пульверизаторов растворами наноконпозиций на основе полигидроксированного производного фуллерена C<sub>60</sub>, аминокислотного производного фуллерена C<sub>60</sub> с треонином, с гидроксипролином, с пролином, а также растворами соответствующих им аминокислот. Концентрации полигидроксированного производного фуллерена составляла 15 mg/l; аминокислотных производных фуллерена — по 0.1 mg/l, растворов аминокислот в тех же концентрациях, что в составе с фуллереном C<sub>60</sub> — треонина — 0.057 mg/l; пролина — 0.024 mg/l; гидроксипролина — 0.027 mg/l.

Для создания стрессовых условий через 3-е суток после последней некорневой обработки растворами наноконпозиций влажность в части сосудов снижали с благоприятного уровня — 60% от полной влагоемкости (ПВ) — до уровня 25–30% от ПВ и поддерживали дефицит влаги на указанном уровне в течение 14 дней, после чего повышали уровень влажности в этих вариантах до 60% от ПВ. Контролем служили обработанные водой растения, выращиваемые в почве с благоприятным уровнем влажности 60% от ПВ.

Вегетационные опыты по оценке влияния испытуемых производных фуллерена C<sub>60</sub> и созданных на их основе наноконпозиций на устойчивость растений к окислительному стрессу, вызванному облучением УФ-В радиа-

цией высокой интенсивности, проводили по методике, описанной в [21,26].

На протяжении вегетационного периода осуществляли ежедневный контроль за состоянием растений, проводили фенологические наблюдения. По завершении периода кущения—трубкования, включающий этап моделирования почвенной засухи, проводили одновременные измерения содержания влаги в почве гравиметрическим методом; водных потенциалов листьев, корней растений с помощью психрометрического устройства WP4-T Dewpoint Potentiometer, Decagon Devices, Inc [33,34].

Для оценки качественных характеристик семенного материала и физиологического состояния вегетирующих растений, изменений биологических и химических свойств почв, почвозаменителей, особенностей поведения сопутствующих растениям микроорганизмов использовали стандартные и общепринятые химические и микробиологические методы [33–42].

Дыхание почвы оценивали в вегетационном эксперименте в герметичных пластиковых камерах, установленных на поверхности исследуемых почв. Крышки камер вдвигали в почву на глубину 0.5 см. Объем газовой фазы внутри камер составлял 70 ml. В конце инкубации из камер отбирали пробу газа объемом 0.7 ml с помощью шприца. В отобранные пробах определяли содержание CO<sub>2</sub> сразу после отбора [38]. Для этого 0.5 ml газа вводили в газовый хроматограф ЛХМ-8МД, оснащенный детектором по теплопроводности. В качестве газа — носителя использовали водород.

Оценку активности работы антиоксидантных систем в корнях и надземной части растений проводили на основании определения интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ), а также активности ферментов пероксидазы и каталазы. Перекисное окисление липидов определяли по накоплению в растениях малонового диальдегида (МДА) [39]. Активность пероксидазы определяли фотометрически с образованием бензидиновой сини по А.Н. Бояркину [40]; активность каталазы — иодометрическим методом [41].

При определении химического состава растений были использованы общепринятые и стандартные методики [33,37,41,42].

По завершении каждого вегетационного опыта измеряли биометрические показатели роста растений, в том числе общую массу и массу органов — листьев, корней, стеблей. В опытах, где растения проходили полный жизненный цикл, оценивали основные показатели продуктивности.

Статистическую обработку данных проводили с применением программ Excel 2010 и Statistica 8 (StatSoft Inc., США). Определяли средние значения изучаемых показателей, доверительные интервалы. Достоверность различий между вариантами оценивали методами параметрической (*t*-критерий Стьюдента) статистики. Различия между вариантами считали достоверными при  $p \leq 0.05$ .

**Таблица 1.** Оценка антимикробной активности моно- и смешанных растворов  $C_{60-tm}$  и комплекса тионинов в отношении грибной и бактериальной культур фитопатогенов *Cochliobolus sativus* (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur и *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, штамм 5212 соответственно

Концентрация веществ, mg/l		<i>Cochliobolus sativus</i> (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur		<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> , штамм 5212
$C_{60-tm}$	Комплекс тионинов	Подавление роста мицелия, 6-е сутки, %	Наличие/отсутствие роста колоний (+/-), 5-е сутки	Наличие/отсутствие роста колоний (+/-)
–	–	0	+	+
–	0.001	0	+	+
0.01	–	0	+	+
0.1	–	0	–	–
0.01	0.001	0	–	+
0.1	0.001	0	–	–

## 2. Результаты исследований

В предваряющих весь комплекс исследований первоначальных лабораторных и вегетационных экспериментах выявлены по реакции тестовых растений диапазоны концентраций производных фуллеренов положительного, нейтрального и ингибирующего действия (обработка семян или вегетирующих растений), на основании чего для дальнейших исследований механизмов воздействия испытуемых веществ на растения выбраны минимальные положительно действующие концентрации производных фуллерена для введения их в корнеобитаемую среду и обработки семян растений: 0.1, 1.0 и 10.0–15.0 mg/l и 0.1 mg/l у трис малоната фуллерена  $C_{60}$ , аминокислотных производных фуллерена  $C_{60}$  и фуллеренола  $C_{60}$  соответственно; для некорневой обработки вегетирующих растений — 0.01, 0.1 и 1.0–15.0 mg/l [21,25–28].

Протестированные в этих и более широком диапазоне концентраций полигидроксилированные, карбоксилированные и аминокислотные производные фуллерена  $C_{60}$  не оказывали фунгицидный, фунгистатический и/или бактерицидный, бактериостатический эффекты в отношении ряда фитопатогенных микроорганизмов: возбудителей сосудистого бактериоза капусты *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*; черни колоса злаковых — *Alternaria* sp.; фузариоза — *Fusarium graminearum* Schwabe; темно-бурой пятнистости ячменя и корневой гнили — *Cochliobolus sativus* (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur; сухой гнили моркови — *Phoma rostrupii* Sacc. В то же время выявлена способность аминокислотных производных фуллерена  $C_{60}$  с метионином или  $C_{60}$  с треонином после обработки семян их растворами в определенных концентрациях повышать устойчивость растений ярового ячменя к возбудителю корневой гнили *Cochliobolus sativus* (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur [32]. При этом механизм положительного влияния указанных веществ не связан с регулиро-

ванием численности микроорганизмов на поверхности семян, а, по всей видимости, обусловлен комплексным положительным действием производных фуллеренов на растения, приводящим к повышению их „иммунитета“. Для усиления протекторных свойств наноконпозиций на основе производных фуллерена  $C_{60}$  нами были подготовлены смешанные растворы производных фуллерена с антимикробными пептидами на примере тионинов семян нигеллы посевной (*Nigella sativa* L.), подобраны их концентрации, при которых удалось получить проявление фунгистатического в отношении возбудителя темно-бурой пятнистости ячменя и корневой гнили — гриба *Cochliobolus sativus* (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur, и бактерицидного — в отношении возбудителя сосудистого бактериоза капусты *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, штамм 5212. Так, смешанные растворы тестируемых веществ в концентрациях 0.001 mg/l комплекса тионинов (далее тионинов) и 0.01 mg/l карбоксилированного производного фуллерена  $C_{60}$  ( $C_{60-tm}$ ), а также в концентрациях 0.001 mg/l тионинов и 0.1 mg/l  $C_{60-tm}$  — проявили слабые фунгистатические свойства, а смешанный раствор с концентрациями 0.001 mg/l тионинов и 0.1 mg/l  $C_{60-tm}$  — еще и бактерицидные, что свидетельствует о выраженном синергетическом эффекте данных веществ в смешанных растворах в указанных концентрациях, в то время как монораствор тионинов в той же концентрации не показывал сдерживающего влияния на рост грибных и бактериальных патогенов, моно-раствор  $C_{60-tm}$  только в концентрации 0.1 mg/l показал сходное влияние с его смешанным раствором с тионинами (0.1 mg/l  $C_{60-tm}$  и 0.001 mg/l тионина) (табл. 1). По результатам проведенных микровегетационных экспериментов наилучшим соотношением для совместной обработки семян кресс-салата растворами  $C_{60-tm}$  и тионинов является 0.01 mg/l  $C_{60-tm}$  с добавлением тионинов 0.001 mg/l. При данном варианте обработки наблюдаются тенденция к увеличению энергии прорастания

**Таблица 2.** Влияние предпосевной обработки семян ярового ячменя моно- и смешанными растворами трис малоната фуллерена C<sub>60</sub> (C<sub>60-tm</sub>) и комплекса тионинов на устойчивость растений к возбудителю корневой гнили *Cochliobolus sativus* (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur

Концентрация веществ, mg/l	Среднее число выживших растений		Средняя масса 1 растения		Балл поражения**
	pcs	% от контроля без заражения	g	% от контроля без заражения	
Контроль (H <sub>2</sub> O) (без заражения)	10.0	100	0.31	100	2
Контроль (H <sub>2</sub> O) (с заражением)	7.0*	70*	0.16*	52*	3
Тионины 0.001	7.2*	72*	0.17*	55*	3
C <sub>60-tm</sub> 0.01	7.5*	75*	0.16*	52*	3
C <sub>60-tm</sub> 0.1	8.0*	80*	0.17*	55*	3
C <sub>60-tm</sub> 0.01+тионины 0.001	9.0	90	0.20*	65*	2
C <sub>60-tm</sub> 0.1+тионины 0.001	8.5*	85*	0.18*	58*	3

Примечание. \* — значение достоверно отличается от контроля на 5%-ом уровне значимости;

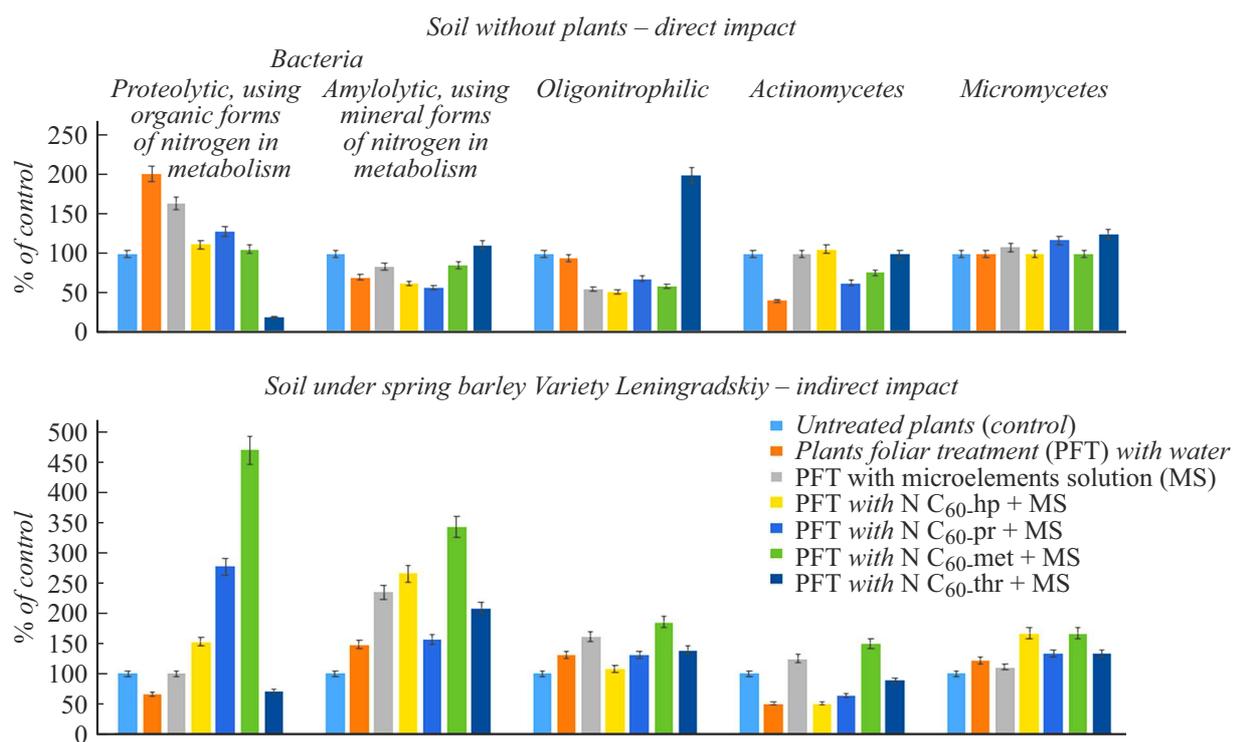
\*\* — для оценки балла поражения использовалась шкала Э. Гоймана [43].

семян, тенденция к увеличению длины ростка и слабая тенденция к уменьшению длины корня, что при сравнимых с контролем сырой и сухой массе растений и процентного содержания сухого вещества свидетельствует об отсутствии негативного эффекта данных концентраций действующих веществ на проростки кресс-салата (данные не приведены). Интересно отметить, что именно при указанном выше концентрационном соотношении C<sub>60-tm</sub> (0.01 mg/l) и тионинов (0.001 mg/l) в смешанном растворе после обработки им семян растений ярового ячменя и последующего проращивания их в условиях заражения фитопатогеном — возбудителем корневой гнили *Cochliobolus sativus* (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur — растения показали наиболее высокую устойчивость к данному биотическому стрессу (табл. 2). Она выражается в большем количестве выживших растений (90%), большей их массе (на 25% относительно зараженного контроля), а также в меньшей степени развития заболевания (балл 2 по шкале Гоймана [43]) по сравнению с контрольными необработанными растениями в условиях заражения (балл 3 по шкале Гоймана [43]). Следует отметить, несмотря на то, что остальные варианты смеси тионинов с трис-малонатом фуллерена C<sub>60</sub> не снижают общий балл поражения растений, в этих вариантах наблюдается тенденция к повышению числа выживших растений и их массы по сравнению с зараженным контролем (табл. 2).

В серии вегетационных экспериментов в регулируемых условиях на примере ярового ячменя сорта Ленинградский было установлено, что при выращивании растений на дерново-подзолистой почве, введение наноконпозиций на основе аминокислотных производных фуллерена C<sub>60</sub> с треонином или с метионином, с пролином, с гидроксипролином в систему почва–растение, посредством некорневой обработки последних, существенно влияла на численный состав и активность мик-

роорганизмов в почве, в то время как внесение каждого изучаемого вещества в тех же количествах в почву не приводила к значимым изменениям в численности микробного сообщества и его активности, судя по выделению CO<sub>2</sub> (рис. 1, табл. 3). Так, на примере варианта с некорневой обработкой растений ярового ячменя раствором наноконпозиции на основе аминокислотного производного фуллерена C<sub>60</sub> с треонином показано, что содержание CO<sub>2</sub>, выделяемого из почвы (μg/cm<sup>2</sup> почвы в сутки) под растениями, было в 5.5 раз выше, чем в контроле (необработанные растения), в 3 раза выше по сравнению с обработкой растений водой, и в 2 раза — по сравнению с обработкой растворами микроэлементов. Сходная картина наблюдается и при некорневом воздействии растворами наноконпозиций на основе других аминокислотных производных фуллерена C<sub>60</sub>, но выраженность их влияния существенно меньше.

Таким образом, активизация дыхания в дерново-подзолистой почве под растениями ячменя, обработанными растворами наноконпозиций, косвенно свидетельствует об изменениях в их метаболизме и активизации обменных процессов, что существенным образом влияет на активность и численность сопутствующих микроорганизмов и осуществляемых ими процессов. Например, наблюдается значимое увеличение в почве численности протеолитических и амилалитических бактерий, использующих легкодоступные органические и минеральные формы азота в своем метаболизме, что наиболее выражено в варианте с обработкой растений раствором наноконпозиции на основе аминокислотного производного фуллерена C<sub>60</sub> с метионином (рис. 1). Активизация деятельности микроорганизмов указанных эколого-трофических групп в почве под растениями свидетельствует об интенсификации в ней процессов трансформации азотсодержащих соединений и появлении потенциальной возможности улучшения обеспеченности



**Рис. 1.** Численность микроорганизмов в дерново-подзолистой супесчаной почве при выращивании растений ярового ячменя, подвергнутого некорневой обработке растворами наноконпозиций на основе аминокислотных производных фуллерена C<sub>60</sub> и микроэлементов (в % от контроля — обработанные водой растения). MS — раствор микроэлементов; N C<sub>60</sub>-hp + MS — раствор наноконпозиции на основе фуллерена C<sub>60</sub> с гидроксипролином и микроэлементами; N C<sub>60</sub>-pr + MS — раствор наноконпозиции на основе фуллерена C<sub>60</sub> с пролином и микроэлементами; N C<sub>60</sub>-met + MS — раствор наноконпозиции на основе фуллерена C<sub>60</sub> с метионином и микроэлементами; N C<sub>60</sub>-thr + MS — раствор наноконпозиции на основе фуллерена C<sub>60</sub> с треонином и микроэлементами.

растений необходимыми источниками азотного питания, что, в конечном итоге, должно благоприятно отразиться на их физиологическом состоянии и процессах роста, развития, формировании продуктивности.

Действительно, судя по данным химического состава дерново-подзолистой супесчаной почвы (слой Апах), при прямом поступлении в нее наноконпозиций на основе производных фуллерена C<sub>60</sub> и при обработке их растворами надземной части растений, происходит обогащение почвы фосфором, калием, азотом, как это видно, в табл. 4 на примере аминокислотного производного фуллерена C<sub>60</sub> с треонином. При этом увеличивается доля подвижных форм указанных макроэлементов, а также содержание других макро- и микроэлементов (данные не приведены). Отмеченное косвенно указывает на способность наноконпозиций на основе водорастворимых производных фуллерена C<sub>60</sub> повышать доступность макро- и микроэлементов в почве для растений. Высказанное предположение подтверждается данными химического элементного анализа растений на примере ярового ячменя (табл. 4, рис. 2). В корнях и надземной части растений, подвергшихся некорневому воздействию растворами наноконпозиций на основе производных фуллеренов, или выращиваемых на почве, куда были

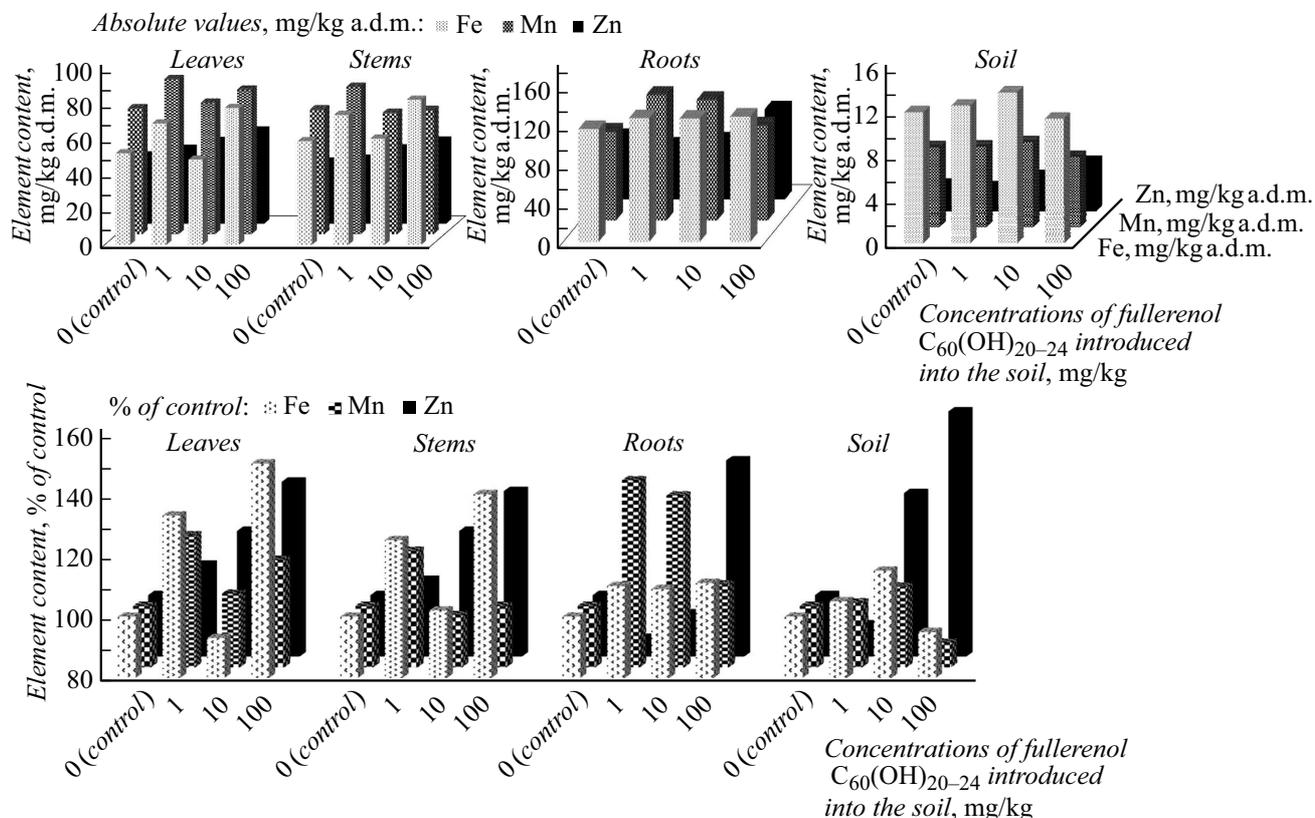
внесены те же наноконпозиции, отмечается наиболее высокие значения содержания макро- и микроэлементов по сравнению с контролем (обработка водой почвы или растений), а также с вариантами обработки раствором макро- и микроэлементов.

Охарактеризованная способность наноконпозиций на основе производных фуллерена C<sub>60</sub> при введении их растворов в почву интенсифицировать процессы поглощения и транспорт полезных макро- и микроэлементов в надземную часть растений позволила сделать предположение о потенциальной способности созданных композиций минимизировать последствия дефицита ряда микроэлементов в корнеобитаемой среде для растений, в том числе положительно заряженных катионов цинка и марганца, играющих, как известно, важную роль в процессах метаболизма, процессах фотосинтеза, дыхания и др. В связи с низкой подвижностью соединений цинка и марганца в почвах (особенно карбонатных и известкованных) разработка новых подходов к оптимизации питания растений этими микроэлементами является весьма актуальной задачей, на решение которой направлены усилия многих исследовательских лабораторий мира. Высказанное выше предположение было подтверждено в серии вегетационных экспериментов. Так, в ходе

**Таблица 3.** Изменение содержания CO<sub>2</sub> в камерах на дерново-подзолистой супесчаной почве без растений после внесения в нее наноконпозиции на основе аминокислотного производного фуллерена C<sub>60</sub> с треонином, микроэлементов и на почве под яровым ячменем, подвергшимся некорневой обработке указанной наноконпозицией

Вариант некорневой обработки растений	Содержание CO <sub>2</sub> , μg/cm <sup>2</sup> почвы в сутки				
	Абсолютные значения	% от контроля	% от варианта с обработкой водой	% от варианта с обработкой РМ	
Камеры на почве без растений	Камеры на почве без растений				
	0.174	100	32*	64*	
	Вода	0.538*	309*	100	199*
	РМ	0.271*	156*	50*	100
НФтр + РМ	0.449*	258*	84*	166*	
Камеры на почве под растениями	Камеры на почве под растениями				
	0.514	100	54*	36	
	Вода	0.945*	184*	100	67
	РМ	1.420*	276*	150*	100
НФтр + РМ	2.839	552*	300*	200	

Примечание. РМ — раствор макро- и микроэлементов; НФтр + РМ — раствор наноконпозиции на основе фуллерена C<sub>60</sub> с треонином и микроэлементов; \* — значение достоверно отличается от контрольного на 5%-ом уровне значимости; внесение в почву наноконпозиции и некорневая обработка осуществлялись одновременно три раза в период трубкавания растений ячменя. Инкубация камер, установленных на почве в сосудах, составляла 2 суток.



**Рис. 2.** Влияние внесения в почву растворов фуллеренола C<sub>60</sub>(OH)<sub>20-24</sub> в различных концентрациях на содержание изучаемых микроэлементов в ней и растениях огурца (гибрид F<sub>1</sub> Нева). \* — значение × 10<sup>1</sup>, a.d.m. — абсолютно сухое вещество.

**Таблица 4.** Содержание углерода, основных макроэлементов и подвижных форм азота в дерново-подзолистой супесчаной почве, а также в корнях и надземной части ярового ячменя при введении в почву наноконпозиции на основе фуллерена C<sub>60</sub> с треолином и микроэлементов, а также при некорневой обработке растений данными веществами

Варианты опыта	Содержание веществ							pH, units
	C <sub>общ.</sub> , %	Углерод (водная вытяжка), %	Фосфат ион, mg/kg	Калий, mg/kg	Общий азот, %	Аммиачный азот, mg/kg	Нитратный азот, mg/kg	
1	2	3	4	5	6	7	8	9
В почве при введении в нее растворов испытуемых веществ								
Контроль (вода)	1.20	0.32	458	104	0.25	8.2	25.4	5.72
Раствор микроэлементов (контроль)	1.11	0.34	670*	167*	0.27	9.3*	32.6*	5.71
Фуллерен C <sub>60</sub> с треолином (C <sub>60</sub> тре)	1.63*	0.43*	720*	109	0.25	10.3*	16.4*	5.68
Наноконпозиция на основе фуллерена C <sub>60</sub> тре, микроэлементов	1.68*	0.46*	950*	210*	0.24	12.1*	16.0*	5.70
В почве при некорневой обработке растений растворами испытуемых веществ								
Контроль (вода)	1.09	0.37	820	130	0.28	16.8	32.0	5.64
Раствор микроэлементов (контроль)	1.00	0.42	1400*	210*	0.36*	27.2*	37.6*	5.58
Фуллерен C <sub>60</sub> тре	1.23*	0.48*	2300*	176*	0.39*	18.6	19.8*	5.54
Наноконпозиция на основе фуллерена C <sub>60</sub> тре, микроэлементов	1.34*	0.54*	4190*	730*	0.74*	30.2*	23.6*	5.56
В корнях растений при введении в почву растворов испытуемых веществ								
Контроль (вода)	–	1.02	0.92	0.99	0.51	–	204.5	–
Раствор микроэлементов (контроль)	–	2.03*	1.11*	2.23*	0.47	–	200.1	–
Фуллерен C <sub>60</sub> тре	–	3.02*	1.14*	3.01*	0.62*	–	198.2	–
Наноконпозиция на основе фуллерена C <sub>60</sub> тре, микроэлементов	–	4.20*	1.40*	4.27*	0.59*	–	225.3	–
В надземной части растений при введении в почву растворов испытуемых веществ								
Контроль (вода)	–	0.99	0.62	1.70	1.20	–	224.5	–
Раствор микроэлементов (контроль)	–	1.92*	0.71	3.12*	1.23	–	210.1	–
Фуллерен C <sub>60</sub> тре	–	2.96*	0.74	5.27*	1.76*	–	232.4	–
Наноконпозиция на основе фуллерена C <sub>60</sub> тре, микроэлементов	–	3.18*	0.90*	6.50*	2.06*	–	240.1	–
В корнях растений при некорневой обработке растений растворами испытуемых веществ								
Контроль (вода)	–	1.12	0.99	1.12	0.33	–	231.0	–
Раствор микроэлементов (контроль)	–	1.01	0.84	0.98	0.30	–	220.0	–
Фуллерен C <sub>60</sub> тре	–	3.57*	1.07	3.27*	0.37	–	218.2	–
Наноконпозиция на основе фуллерена C <sub>60</sub> тре, микроэлементов	–	3.46*	0.98	2.99*	0.37	–	221.4	–
В надземной части растений при некорневой обработке растений растворами испытуемых веществ								
Контроль (вода)	–	0.80	0.60	1.68	1.00	–	272.4	–
Раствор микроэлементов (контроль)	–	0.88	0.67	1.89*	1.20*	–	252.1	–
Фуллерен C <sub>60</sub> тре	–	2.73*	0.66	4.72*	1.28*	–	264.9	–
Наноконпозиция на основе фуллерена C <sub>60</sub> тре, микроэлементов	–	2.90*	0.69	4.84*	1.28*	–	295.1	–

Примечание. \* — значение достоверно отличается от контрольного на 5%-ом уровне значимости.

**Таблица 5.** Влияние дефицита марганца в корнеобитаемой среде и некорневой обработки моно- и смешанными растворами фуллеренола C<sub>60</sub> (Фд) и/или сульфата магния на содержание изучаемых микроэлементов в листьях растений огурца (гибрид F<sub>1</sub> Нева) при выращивании в регулируемых условиях интенсивной светокультуры

Вариант некорневой обработки растений	2-е сутки после первой некорневой обработки растений			7-е сутки после первой некорневой обработки растений			7-е сутки после второй некорневой обработки растений		
	Fe, mg/kg с.в.	Mn, mg/kg с.в.	Zn, mg/kg с.в.	Fe, mg/kg с.в.	Mn, mg/kg с.в.	Zn, mg/kg с.в.	Fe, mg/kg с.в.	Mn, mg/kg с.в.	Zn, mg/kg с.в.
Абсолютные значения при дефиците марганца									
Контроль (дистиллированная вода)	71 ± 2f	91 ± 2c	81 ± 1e	52 ± 2c	91 ± 5b	83 ± 1d	71 ± 2f	68 ± 1d	57 ± 1b
–Mn	56 ± 1d	30 ± 1a	48 ± 1a	61 ± 2d	15 ± 1a	44 ± 0.5c	56 ± 1d	17 ± 1a	64 ± 1c
MnSO <sub>4</sub>	47 ± 1a	207 ± 3e	64 ± 1c	38 ± 1a	141 ± 5d	32 ± 0.5a	47 ± 1a	127 ± 1e	36 ± 1a
Фд1	55 ± 3cd	89 ± 2c	89 ± 4f	44 ± 2b	19 ± 0.5a	37 ± 1b	54 ± 3cd	25 ± 0.5c	64 ± 3c
Фд2	66 ± 2e	46 ± 3b	62 ± 1c	52 ± 1c	16 ± 1a	43 ± 2c	66 ± 2e	22 ± 1b	53 ± 1b
MnSO <sub>4</sub> +Фд1	49 ± 2ab	200 ± 2d	54 ± 2b	44 ± 1b	107 ± 5c	34 ± 1a	49 ± 2ab	187 ± 1f	72 ± 4d
MnSO <sub>4</sub> +Фд2	51 ± 3bc	277 ± 8f	73 ± 3d	44 ± 0.5b	107 ± 2c	38 ± 0.5b	51 ± 3bc	286 ± 1j	65 ± 4c
% от контроля при дефиците марганца									
–Mn	79d	33a	59a	117d	16a	53c	79d	25a	112c
MnSO <sub>4</sub>	66a	227e	79c	73a	155d	39a	66a	187e	63a
Фд1	77cd	98c	110f	85b	21a	45b	76d	37c	112c
Фд2	93e	51b	77c	100c	18a	52c	93e	32b	93b
MnSO <sub>4</sub> +Фд1	69ab	220d	67b	85b	118c	41a	69b	275f	126d
MnSO <sub>4</sub> +Фд2	72bc	304f	90d	85b	118b	46b	72c	421j	114c

Примечание. Приведены средние значения ±SD. Идентичные буквы обозначают отсутствие достоверных различий между средними значениями (критерий SNK,  $P < 0.05$ ). Фд1 — раствор фуллеренола в концентрации 1 mg/l; Фд2 — раствор фуллеренола в концентрации 2 mg/l; с.в. — сухое вещество.

проведенных нами в регулируемых условиях исследований при выращивании растений огурца гибрид F<sub>1</sub> Нева в аэрируемых питательных растворах, не содержащих в своем составе марганец или цинк, и двукратном опрыскивании растений (стадия 2-го и 4-го настоящего листа) растворами сульфата магния или цинка, фуллеренола C<sub>60</sub> в двух концентрациях (1 и 2 mg/l), смешанным раствором сульфата магния или цинка и фуллеренола C<sub>60</sub> в указанных концентрациях — выявлена способность фуллеренола C<sub>60</sub> посредством некорневых подкормок активно влиять на доступность растениям и аккумуляцию в них марганца и цинка (табл. 5 и 6). При этом в вариантах с применением указанных смешанных растворов с увеличением числа обработок, отмеченные их положительные эффекты усиливаются и, например, на седьмой день после второй некорневой обработки содержание марганца или на третий день содержание цинка в листьях в данных вариантах достоверно превышает количественные значения указанных микроэлементов в варианте с обработкой сульфатами марганца или цинка, наряду с таковыми в контроле.

Интенсификация поступления макро- и микроэлементов в растения и, особенно, в листья в вариантах с

внесением производных фуллерена и нанокмпозиций на их основе приводит к активизации процессов метаболизма в растениях, в том числе биосинтеза фотосинтетических пигментов. У разных культур выявлена общая сходная картина изменения содержания пигментов под влиянием нанокмпозиций на основе водорастворимых производных фуллерена C<sub>60</sub>. Наиболее ярко и наглядно это можно наблюдать у капустных культур (табл. 7), в листьях которых именно под влиянием нанокмпозиций на основе аминокислотных производных с глутамином, с метионином, с треонином, с пролином, с гистидином происходит значимое увеличение содержания хлорофилла а и б, а также пигментов каротиноидов, каротина, активно принимающих участие также и в окислительно-восстановительных реакциях и обладающих, как известно, адаптогенными, антиоксидантными, протекторными свойствами [44–46].

О способности производных фуллерена и нанокмпозиций на их основе прямо и косвенно влиять на антиоксидантные свойства растений, а также связывать свободные радикалы в клетках растений мы сообщали ранее в публикациях [21,25,26,28]. Так, нами показано, что при облучении кончиков корня УФ-В радиацией

**Таблица 6.** Влияние дефицита цинка в корнеобитаемой среде и некорневой обработки моно- и смешанными растворами фуллеренола C<sub>60</sub> и/или сульфата цинка на концентрацию изучаемых микроэлементов в листьях растений огурца (гибрид F<sub>1</sub> Нева) при выращивании в регулируемых условиях интенсивной светокультуры

Вариант некорневой обработки растений	3 сутки после первой некорневой обработки растений		
	Fe, mg/kg с.в.	Mn, mg/kg с.в.	Zn, mg/kg с.в.
Абсолютные значения			
Контроль	59 ± 1c	83 ± 1f	40 ± 2c
– Zn	45 ± 2a	47 ± 0.5b	18 ± 1a
ZnSO <sub>4</sub>	51 ± 1b	48 ± 1bc	92 ± 3d
Фд1	49 ± 1b	50 ± 2c	24 ± 0.5b
Фд2	41 ± 3a	41 ± 1a	21 ± 0.5ab
ZnSO <sub>4</sub> + Фд1	56 ± 3c	62 ± 2e	137 ± 4e
ZnSO <sub>4</sub> + Фд2	61 ± 2c	59 ± 1d	153 ± 1f
% от контроля			
– Zn	76a	57b	45a
ZnSO <sub>4</sub>	86b	58bc	230d
Фд1	83b	60c	60b
Фд2	69a	49a	53ab
ZnSO <sub>4</sub> + Фд1	95c	75e	343e
ZnSO <sub>4</sub> + Фд2	103c	71d	383f

Примечание. Приведены средние значения ±SD. Идентичные буквы обозначают отсутствие достоверных различий между средними значениями (критерий SNK,  $P < 0.05$ ). Фд1 — раствор фуллеренола в концентрации 1 mg/l; Фд2 — раствор фуллеренола в концентрации 2 mg/l.

(0.5 W/m<sup>2</sup>, 15 min), предварительно обработанных указанными производными фуллерена C<sub>60</sub>, выражено проявляется их способность снижать образование свободных радикалов и ингибировать развитие окислительного стресса в клетках корней растений [21,25,26]. Судя по изменению активности ферментов пероксидаза, каталаза, супероксиддисмутаза, задействованных в окислительно-восстановительных процессах в клетках и тканях растений, а также интенсивности перекисного окисления липидов, содержания активных форм кислорода, в растениях, обработанных растворами производных фуллерена C<sub>60</sub> и наноконпозиций на их основе, наблюдается стабилизация работы антиоксидантных систем растений, что особенно ярко проявляется в условиях окислительного стресса, вызванного УФ-В облучением, дефицитом почвенной влаги, дефицитом содержания марганца, цинка других микроэлементов в корнеобитаемой среде и др. [25–28]. Так, на примере растений яровой мягкой пшеницы Ленинградская 6, подвергнутых предварительно в период кущения-трубкования некорневой обработке растворами наноконпозиции на основе аминокислотного производного C<sub>60</sub> с треонином и после этого двухнедельному водному стрессу, видно, что амплитуда изменений значений активности окислительно-восстановительного

фермента супероксиддисмутаза, интенсивности перекисного окисления липидов, а следовательно, развитие окислительного стресса в них существенно меньше по сравнению с наблюдаемой у контрольных растений и обработанных раствором треонина в вариантах с дефицитом почвенной влаги (рис. 3). По всей видимости, это связано с выявленным нами ранее эффектом увеличения водного потенциала листьев растений под действием производных фуллеренов (рис. 4), обусловленным, в свою очередь, значимым увеличением содержания макро- и микроэлементов в листьях растений, и, как следствие, вероятно осмотического давления в их клетках, что обеспечивало более эффективное поступление воды в них по сравнению с контрольными растениями в условиях стресса. Обеспечение растений в условиях стресса ресурсами в доступной форме для создания защитных веществ и стабильной работы всех систем растительного организма также явилось причиной тому, что дефицит почвенной влаги не отразился негативно на показателях их роста, развития и продуктивности. В варианте с некорневой обработкой раствором наноконпозиции на основе аминокислотного производного фуллерена C<sub>60</sub> с треонином значения зерновой продуктивности превышает на 96% таковую у контрольных

**Таблица 7.** Биохимический состав растений пекинской капусты сорта Да-цин-коу после обработки семян растворами испытуемых веществ (концентрация 10 mg/l) при выращивании растений в теплице ФГБНУ ФИЦ ВИР

Вариант обработки семян	Сухой вес, %	Аскорбиновая кислота, mg/100 г	Хлорофилл А, mg/100 г	Хлорофилл В, mg/100 г	Хлорофиллы, mg/100 г	Каротиноиды, mg/100 г	Каротины, mg/100 г	$\beta$ -каротин, mg/100 г
	% от контроля							
Вода (контроль)	100	100	100	100	100	100	100	100
Гетероауксин	91	106	70*	72*	71*	63*	69*	67*
НФцис	76*	113	85*	98	88	93	107	93
НФгп	100	106	100	108	102	85*	105	96
НФглу	100	100	130*	145*	134*	138*	168*	139*
НФмет	88	100	136*	140*	137*	132*	156*	137*
НФпро	102	106	113*	127*	117*	134*	144*	129*
НФтре	102	100	117*	128*	120*	103	131*	114*
НФгист	106	106	118*	126*	120*	129*	178*	124*
Цистеин	111	113	100	107	102	82*	95	95
Гидроксипролин	86*	106	91	96	93	123*	110	108
Глутамин	77*	100	73*	71*	72*	74*	73*	71*
Метионин	90	100	90	97	92	73*	87*	86*
Пролин	88	113	97	110	101	106	104	108
Треонин	82*	106	102	112	105	104	107	108
Гистидин	84*	106	116*	136*	121*	96	114*	118*

Примечание. \* — значение достоверно отличается от контроля на 5%-ном уровне значимости; НФаминокислота — наноконпозиция на основе фуллерена C<sub>60</sub> с аминокислотой (цис — цистеином, гп — гидроксипролином, глу — глутамином, мет — метионином, про — пролином, тре — треонином, гист — гистидином).

растений, не подвергавшихся действию стресса (табл. 8). Следует отметить, что обработка растений раствором треонина также способствовала в виде тенденции повышению их устойчивости к дефициту почвенной влаги (зерновая продуктивность на 7% соответственно выше контрольных значений), но выраженность эффекта была существенно ниже по сравнению с влиянием наноконпозиции на основе фуллерена C<sub>60</sub> с треонином и макро- и микроэлементов. Интересно также отметить выявленное под влиянием наноконпозиции перераспределение макроэлементов в зерна пшеницы за счет уменьшения массы непродуктивной части. Так, анализ соотношения массы соломы и массы зерна яровой пшеницы, а также элементного состава соломы и зерна показал, что некорневая обработка наноконпозицией на основе фуллерена C<sub>60</sub> с треонином обеспечивает перераспределение пластических веществ и минеральных элементов питания в зерно (табл. 8). Этот эффект указанной наноконпозиции особенно выражен в условиях воздействия стрессора (засухи). Усвоение зерном пшеницы азота в этом варианте по сравнению с таковым в контроле без стресса и в контроле со стрессом выше в 2.8 и 3.9 раз

соответственно; фосфора — в 1.9 и 4.1 раз; калия — в 1.2 и 2.8 раз. Такое выраженное положительное влияние треонинсодержащего фуллерена может быть связано с более универсальным использованием треонина в качестве промежуточного продукта в различных путях синтеза защитных веществ при действии стрессоров. Так, известно, что в ходе превращения треонина в лейцин или валин образуется пируват (см., например, [47]), который в аэробных условиях трансформируется в ацетилкофермент А, выступающего в свою очередь в качестве основного субстрата для серии реакций, известных как цикл Кребса, с последующим образованием различных вторичных метаболитов с протекторными, сигнальными и другими функциями.

Производные фуллерена, как установлено нами ранее, обеспечивая интенсификацию поступления в растения макро- и микроэлементов, способны сами проникать в растения, при этом они обнаруживаются в больших количествах в том органе, через который они поступили в растения [28].

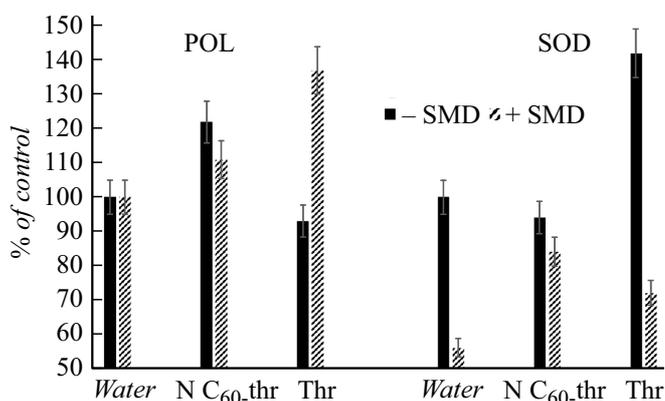
Выявленный ряд механизмов положительного влияния на растения водорастворимых производных фул-

**Таблица 8.** Продуктивность и вынос основных элементов зерном у яровой пшеницы сорта Ленинградская 6 при некорневой обработке ее вегетирующих растений наноконпозицией на основе аминокислотного производного фуллерена C<sub>60</sub> с треонином или раствором треонина в благоприятных и стрессовых условиях по содержанию почвенной влаги и при ее дефиците

Вариант	Масса семян		Масса соломы		Масса соломы/масса зерна	Вынос элементов зерном у яровой пшеницы, мг/растение				
	g/растение g, M±m	Отклонение от контроля, %	g/растение g, M±m	Отклонение от контроля, %		Азот	Фосфор	Калий	Кальций	Магний
Влажность почвы 60–70% от полной влагоемкости										
Вода (контроль)	0.55	100	3.64	100	6.6	11.14	5.08	5.32	6.50	4.80
Раствор треонина	0.64*	116*	3.25	89	5.1	20.48*	7.16*	5.76	6.72	4.80
Раствор наноконпозиции на основе C <sub>60</sub> -треонина	0.68*	124*	2.96*	81*	4.4*	17.34*	5.84*	4.96	6.46	3.54*
Дефицит почвенной влаги (влажность почвы 25–30% от полной влагоемкости)										
Вода (контроль)	0.34*	62*	2.76*	76*	8.1*	8.02*	2.34*	2.32*	1.56*	0.78*
Раствор треонина	0.59	107	2.80*	77*	4.8*	14.76*	3.42*	3.96*	2.40*	1.98*
Раствор наноконпозиции на основе C <sub>60</sub> -треонина	1.08*	196*	2.38*	65*	2.2*	30.88*	9.62*	6.38*	4.64*	2.82*

Примечание. \* — значение достоверно отличается от контрольного на 5%-ом уровне значимости.

леренов и наноконпозиций на их основе, по всей вероятности, и явился причиной значимого увеличения устойчивости растений ярового ячменя двух сортов к эпифитотиям в полевых экспериментах и отмечае-



**Рис. 3.** Влияние некорневой обработки яровой мягкой пшеницы сорта Ленинградская 6 растворами наноконпозиции на основе аминокислотного производного фуллерена C<sub>60</sub> с треонином и аминокислоты треонин на показатели активности антиоксидантной системы (интенсивность ПОЛ и активность СОД) растений при их выращивании в регулируемых благоприятных условиях и при действии стресса, вызванного дефицитом почвенной влаги (25–30% от полной влагоемкости почвы). N C<sub>60</sub>-thr — наноконпозиция на основе аминокислотного производного фуллерена C<sub>60</sub> с треонином; Thr — аминокислота треонин; SMD — дефицит почвенной влаги; POL — интенсивность перекисного окисления липидов; SOD — активность супероксиддисмутазы.

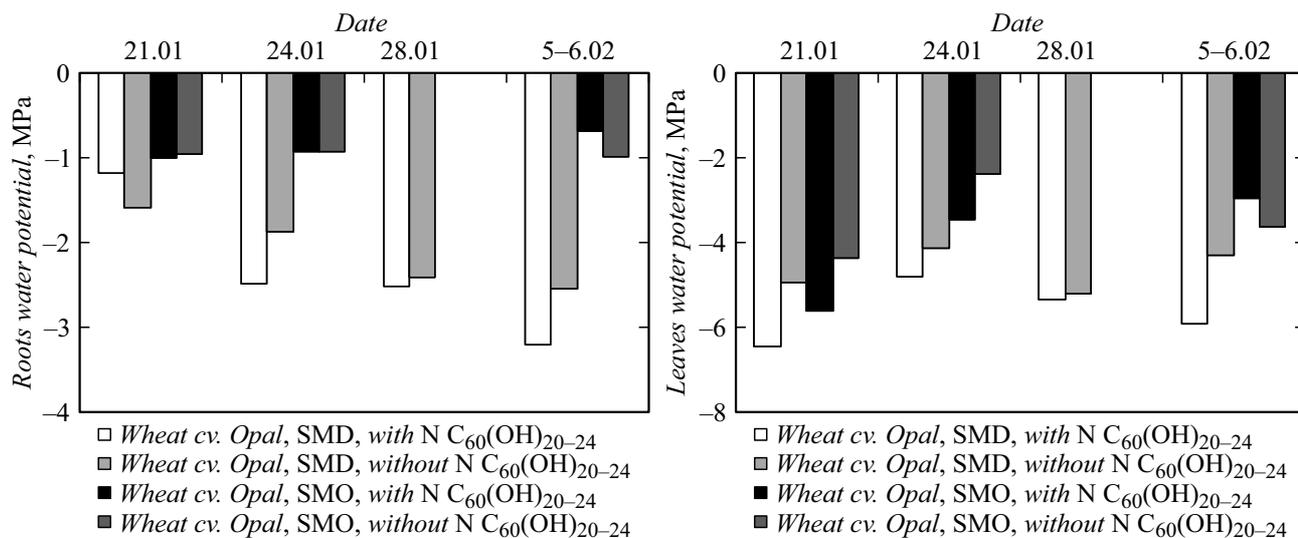
мого существенного повышения при комбинированном использовании эффективности применения химических фунгицидов в половинных дозах — до уровней, близких к эффектам этих агрохимикатов в полных дозах [26], что открывает перспективы снижения дозовой нагрузки пестицидов на агроэкосистемы.

Таким образом, резюмируя результаты проведенных комплексных междисциплинарных исследований можно сделать заключение о следующих основных механизмах воздействия на растения разработанных наноконпозиций на основе водорастворимых производных фуллерена C<sub>60</sub>:

- антиоксидантные свойства — способность предотвращать развитие окислительного стресса в органах растений посредством прямого взаимодействия со свободными радикалами, а также активизации метаболических процессов в растениях, приводящих к нейтрализации содержащих радикальные группировки соединения;

- регуляторное воздействие на активность работы фотосинтетического аппарата, процессы первичного и вторичного метаболизма с усилением образования и/или сохранения содержания хлорофиллов, а также соединений с адаптогенными, антиоксидантными, протекторными свойствами (флавонолы, каротиноиды и др.), активизацией ферментов (каталаза, супероксиддисмутазы, пероксидаза), способных нейтрализовать свободные радикалы;

- прямое (при попадании в почву) и опосредованное (через растение) существенное регуляторное воздействие на численный состав и активность микроорганизмов различных таксономических и эколого-трофических



**Рис. 4.** Динамика водных потенциалов корней и листьев яровой мягкой пшеницы сорта Опал после некорневой обработки раствором наноконпозиции на основе полигидроксиллированного фуллерена  $C_{60}$  ( $\Phi$ ), в условиях дефицитного и оптимального содержания влаги в почве. SMD — дефицит почвенной влаги (влажность почвы — 25–30% от полной влагоемкости), SMO — оптимальное содержание влаги в почве (влажность почвы — 60% от полной влагоемкости).

групп, биологические и химические процессы в почве, количественный состав основных макроэлементов и их подвижных форм;

— отсутствие фунгицидных и бактерицидных свойств у большинства испытываемых полигидроксиллированного, аминокислотных производных фуллерена  $C_{60}$  во всем диапазоне концентраций, оптимальных для роста и развития растений, в отношении ряда ключевых фитопатогенов грибной и бактериальной природы. Только у синтезированного карбоксилированного производного фуллерена  $C_{60}$  — трисмалоната фуллерена  $C_{60}$  и у его композиции с антимикробными полипептидами из структурного семейства тионинов в определенных концентрациях проявилась слабая фунгистатическая и бактерицидная способность против указанных патогенов;

— регуляторное воздействие на транспорт и перераспределение элементов питания по органам растений, а именно усиление поступления макро- и микроэлементов в растения; стимуляция аттракции элементов питания репродуктивными органами из непродуктивной вегетативной части растений, что в совокупности определяет повышение устойчивости растений к дефициту влаги в почве, дефициту содержания ряда микроэлементов, что показано на примере цинка и марганца, а также к другим стрессорам вследствие меньших затрат энергии и ресурсов растениями на протяжении их адаптации к стрессам.

Выявленное положительное влияние синтезированных водорастворимых производных фуллерена  $C_{60}$  и наноконпозиций на их основе в определенных концентрациях на продукционный процесс растений, их устойчивость к возникновению окислительного стресса, высокая эффективность данных веществ в малых концентрациях, и

соответственно низкая стоимость затрат на их применение, экологическая безопасность свидетельствуют о перспективности дальнейшего изучения механизмов влияния данных веществ на почвенно-растительную систему с целью создания и использования в растениеводстве высокоэффективных нанопрепаратов на их основе.

### Финансирование работы

Работа выполнена при финансовой поддержке Агрофизического научно-исследовательского института из средств Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы, этап № 0667-2019-0013 в части обеспечения проведения вегетационных и полевых экспериментов, при частичной финансовой поддержке РФФИ № 19-016-00003 в части оценки влияния композиции фуллеренола с микроэлементами марганцем или цинком на устойчивость растений огурца, и РНФ № 22-26-00267 в части изучения влияния композиций трис-малоната фуллерена  $C_{60}$  с комплексом тионинов на физиологическое состояние растений.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### Список литературы

- [1] Г.Г. Панова, К.Н. Семенов, О.А. Шилова, Ю.В. Хомяков, Л.М. Аникина, Н.А. Чарыков, А.М. Артемьева, Е.В. Канаш, Т.В. Хамова, О.Р. Удалова. Агрофизика, 4, 37–48 (2015).

- [2] D. Deryabin, O. Davydova, Z. Yankina, A. Vasilchenko, S. Miroshnikov, A. Kornev, A. Ivanchikhina, P. Troshin. *J. Nanomater.*, **9**, 907435 (2014). <http://dx.doi.org/10.1155/2014/907435>
- [3] T. Baati, F. Bourasset, N. Gharbi, L. Njim, M. Abderrabba, A. Kerkeni, H. Szwarc, F. Moussa. *Biomaterials*, **33**, 4936–4946 (2012). DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.03.036
- [4] J.J. Yin, F. Lao, J. Vehg, P.P. Fu, Y.L. Zhao, G. Xing, X. Gao, B. Sun, P.C. Wang, C. Chen, X.-J. Liang. *Mol. Pharmacol.*, **74**, 1132–1140 (2008). DOI: 10.1124/mol.108.048348
- [5] F. Beuerle, R. Lebovitz, A. Hirsch. *Carbon Mater. Chem. Phys.*, **1**, 51–78 (2008).
- [6] J.J. Yin, F. Lao, P.P. Fu, W.G. Wamer, Y. Zhao, P.C. Wang, Y. Qiu, B. Sun, G. Xing, J. Dong, X.-J. Liang. *C. Chen. Biomaterials*, **30** (4), 611–621 (2009). DOI: 10.1016/j.biomaterials.2008.09.061
- [7] С.В. Ширинкин, М.И. Чурносос, Г.В. Андриевский, Л.В. Васильченко. *Клиническая медицина*, **5**, 56–58 (2009).
- [8] L.V. Gerasimova, N.A. Charykov, K.N. Semenov, V.A. Keskinov, A.V. Kurilenko, Zh.K. Shaimardanov, B.K. Shaimardanova, N.A. Kulenova, D.G. Letenko, A. Kanbar. *Nanosystems: Phys., Chem., Mathem.*, **12** (3), 346–362 (2021). DOI: 10.17586/2220-8054-2021-12-3-346-362
- [9] Q. Zhao, Y. Li, J. Xu, R. Liu, W. Li. *Int. J. Radiat. Biol.*, **81** (2), 169–175 (2005). DOI: 10.1080/09553000400029536
- [10] F. Langa, J.-F. Nierengarten. *Fullerenes: Principles and Applications* (Royal Society of Chemistry, 2007)
- [11] S. Trajkovic, S. Dobric, V. Jacevi, V. Dragojevic-Simi, Z. Milovanovic, A. Dordevi. *Colloid. Surface B*, **58** (1), 39–43 (2007). DOI: 10.1016/j.colsurfb.2007.01.005
- [12] Н.Н. Шершакова, С.М. Андреев, Е.Н. Барабошкина, Д.Д. Шабанова, Э.А. Макарова, М.Р. Хайтов. *Иммунология*, **37** (6), (2016). DOI: 10.18821/0206-4952-2016-37-6-329-331
- [13] S. Lin, J. Reppert, Q. Hu, J.S. Hudson, M.L. Reid, T.A. Ratnikova, A.M. Rao, H. Luo, P.C. Ke. *Small*, **5**, 1128–1132 (2009). DOI: 10.1002/smll.200801556
- [14] R. Avansi, W.A. Jackson, B. Sherwin, J.F. Mudge, T.A. Anderson. *Environ. Sci. Technol.*, **48** (5), 2792–2797 (2014). DOI: 10.1021/es405306w
- [15] C. Liang, H. Xiao, Z. Hu, X. Zhang, J. Hu. *Environ. Pollut.*, **235**, 330–338 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.062>
- [16] R. Chen, T.A. Ratnikova, M.B. Stone, S. Lin, M. Lard, G. Huang, J.S. Hudson, P.C. Ke. *Small*, **6**, 612–617 (2010). DOI: 10.1002/smll.200901911
- [17] J. Gao, Y. Wang, K.M. Folta, V. Krishna, W. Bai, P. Indeglia, A. Georgieva, H. Nakamura, B. Koopman, B. Moudgi. *PLoS ONE*, **6** (5), e19976 (2011). DOI: 10.1371/journal.pone.0019976
- [18] C. Kole, P. Kole, K.M. Randunu, P. Choudhary, R. Podila, P.C. Ke, A.M. Rao, R.K. Marcus. *BMC Biotechnol.*, **13**, 37–58 (2013). DOI: 10.1186/1472-6750-13-37
- [19] S. Samadi, B.A. Lajayer, E. Moghiseh, S. Rodríguez-Couto. *Environ. Technol. Innov.*, **21**, 101323 (2021). DOI: 10.1016/j.eti.2020.101323
- [20] T. Kovac, T. Marcek, B. Šarkanj, I. Borišev, M. Ižakovic, K. Jukic, A. Loncaric, T. Kraska, M. Sulyok, R. Kraska. *J. Fungi.*, **7**, 236 (2021). <https://doi.org/10.3390/jof7030236>
- [21] G.G. Panova, I.N. Ktitorova, O.V. Skobeleva, N.G. Sinjavina, N.A. Charykov, K.N. Semenov. *Plant Growth Regul.*, **79**, 309–317 (2016). DOI: 10.1007/s10725-015-0135-x
- [22] F. Tai, Sh. Wang, B. Liang, Y. Li, J. Wu, Ch. Fan, X. Hu, H. Wang, R. He, W. Wang. *J. Nanobiotechnol.*, **20**, 15 (2022). <https://doi.org/10.1186/s12951-021-01222-7>
- [23] I. Andreev, A. Petrukhina, A. Garmanova, A. Babakhin, S. Andreev, V. Romanova, P. Troshin, O. Troshina, L. DuBuske. *Fuller. Nanotub. Car. N.*, **16**, 89–102 (2008). DOI: 10.1080/15363830701885831
- [24] C. Wang, H. Zhang, L. Ruan, L. Chen, H. Li, X.-L. Chang, X. Zhang, S.-T. Yang. *Environ. Sci. Nano.*, **4**, 1–7 (2016). DOI: 10.1039/C5EN00276A
- [25] K.N. Semenov, A.A. Meshcheriakov, N.A. Charykov, M.E. Dmitrenko, V.A. Keskinov, I.V. Murin, G.G. Panova, V.V. Sharoyko, E.V. Kanash, Y.V. Khomyakov. *RSC Advances*, **7** (25), 15189–15200 (2017). DOI: 10.1039/C6RA26621E
- [26] G.G. Panova, E.V. Kanash, Y.V. Khomyakov, A.M. Shpanev, E.B. Serebryakov, K.N. Semenov, O.S. Shemchuk, E.V. Andrusenko, N.E. Podolsky, V.V. Sharoyko, N.A. Charykov, L.L. Dulneva. *J. Nanomater.*, **2306518** (2019). <https://doi.org/10.1155/2019/2306518>
- [27] N.P. Bitvitskii, K.L. Yakkonen, K.A. Lukina, K.N. Semenov, G.G. Panova. *J. Plant Growth Regul.*, **40**, 1017–1031 (2020). <https://doi.org/10.1007/s00344-020-10160-x>
- [28] G.G. Panova, A.S. Zhuravleva, Y.V. Khomyakov, V.E. Vertebnyi, S.V. Ageev, V.V. Sharoyko, K.N. Semenov, A.V. Petrov, N.E. Podolsky, E.I. Morozova. *J. Mol. Struct.*, **1235**, 130163 (2021). DOI: 10.1016/j.molstruc.2021.130163
- [29] *Способ получения смеси фуллеренолов*: пат. 2495821 Рос. Федерация. Семенов К.Н., Чарыков Н.А., Намазбаев В.И., Кескинов В.А.; № 2010122963/05; заявл. 04.06.2010; опубл. 20.10.2013, Бюл. № 29.
- [30] *Способ получения фуллеренолов*: пат. 2481267 Рос. Федерация. Семенов К.Н., Чарыков Н.А., Кескинов В.А., Кескинова М.В., Сафьяников Н.М., Шубина В.А.; № 2011106276/05; заявл. 11.02.2011; опубл. 10.05.2013, Бюл. № 13.
- [31] A.S. Vasilchenko, A.N. Smirnov, S.K. Zavrjev, E.V. Grishin, A.V. Vasilchenko, E.A. Rogozhin. *Int. J. Pept. Res. Ther.*, **23**, 171–180 (2017). <https://doi.org/10.1007/s10989-016-9549-1>
- [32] Г.Г. Панова, К.Н. Семенов, О.А. Шилова, Д.Л. Корнюхин, А.М. Шпанев, Л.М. Аникина, Т.В. Хамова, А.М. Артемьева, Е.В. Канаш, Н.А. Чарыков, О.Р. Удалова, А.С. Галушко, А.С. Журавлева, П.С. Филиппова, Д.В. Кудрявцев, С.Ю. Блохина. *Агрофизика*, **3**, 48–58 (2018). DOI: 10.25695/AGRPH.2018.03.09
- [33] А.И. Ермаков, В.В. Арасимович, М.Н. Смирнова-Иконникова, Н.П. Ярош, Г.А. Луковникова. *Методы биохимического исследования растений*. Под ред. А.И. Ермакова (Агропромиздат, Ленинградское отд., Л., 1987), 430 с.
- [34] E.M. Martinez, J.J. Cancela, T.S. Cuesta, X.X. Neira. *Span J. Agric. Res.*, **9** (1), 313–328 (2011).
- [35] А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук, Н.Н. Колотилова, И.Б. Котова, Е.В. Семенова, Н.Ю. Татаринова, Н.В. Уголькова, Е.А. Цавкелова, А.Ф. Бобкова, А.Г. Богданов, И.В. Данилова, Т.Ю. Динариева, В.В. Зинченко, А.Д. Исмаилов, А.В. Курвков, В.Н. Максимов, Е.С. Милько, Е.П. Никитина, Е.П. Рыжкова, А.М. Семенов, Д.В. Хомякова, Т.А. Чердынцева, Т.Г. Юдина. *Практикум по микробиологии* (Академия, М., 2005), 608 с.

- [36] *Методические указания по определению тяжелых металлов в почвах с/х угодий и продукции растениеводства* (ЦИНАО, 1992), <http://docs.cntd.ru/document/1200078918>
- [37] *Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов*, под ред. проф. чл.-кор. МАИ И.М. Скурихина, акад. В.А. Тутельяна (Брандес: Медицина, М., 1998), 341 с.
- [38] Т.А. Банкина, М.Ю. Петров, Т.М. Петрова, М.П. Банкин. *Хроматография в агроэкологии* (НИИ Химии СПбГУ, СПб., 2002), 580 с.
- [39] A.C. Purvid, R.L. Shewfeld, J.W. Gegogeine. *Physiol. Plantarum*, **94**, 743–749 (1995). DOI: 10.1111/j.1399-3054.1995.tb00993.x
- [40] А.С. Лукаткин. *Физиология растений*, **49**, 697–702 (2002).
- [41] Х.Н. Починок. *Методы биохимического анализа растений* (Наукова Думка, Киев, 1976), 334 с.
- [42] *Методические указания по определению нитратов и нитритов в продукции растениеводства МУ № 5048-89*. (Министерство здравоохранения СССР, Госагропром СССР, Москва, 1989), 52 с.
- [43] Э. Гойман. *Инфекционные болезни растений* (Ил., М., 1954), 610 с.
- [44] R. Biczak, A. Telesiński, B. Pawłowska. *Plant Physiol. Bioch.*, **107**, 248–256 (2016). DOI: 10.1016/j.plaphy.2016.05.016
- [45] B. Zhang, X. Li, D. Chen, J. Wang. *Protoplasma*, **250**, 103–110 (2013).
- [46] R. Jbir-Koubaa, S. Charfeddine, W. Ellouz, M.N. Saidi, N. Drira, R. Gargouri-Bouzid, O. Nouri-Ellouz. *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.*, **120** (3), 933–947 (2015). DOI: 10.1007/s11240-014-0648-4
- [47] R.A. Azevedo, M. Lancien, P.J. Lea. *Amino Acids*, **30**, 143–162 (2006). DOI: 10.1007/s00726-005-0245-2