

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«ЮЖНЫЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи



ЧЕРНИКОВА НАТАЛЬЯ ПЕТРОВНА

ТРАНСФОРМАЦИЯ И МИГРАЦИЯ МИКРО- И НАНОФОРМ
ОКСИДОВ МЕДИ И ЦИНКА В СИСТЕМЕ ПОЧВА-РАСТЕНИЯ

ДИССЕРТАЦИЯ

На соискание ученой степени
кандидата биологических наук

1.5.19. Почвоведение (биологические науки)

Научный руководитель:
доктор биологических наук, профессор Минкина Т. М.

Ростов-на-Дону – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

СОКРАЩЕНИЯ И ОБОЗНАЧЕНИЯ	3
ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1 Производство и применение наночастиц тяжелых металлов.....	10
1.2 Трансформация микро- и наночастичек тяжелых металлов в почве.....	15
1.3 Миграция микро- и наночастичек тяжелых металлов в растения	21
1.4 Токсичность микро- и наночастичек тяжелых металлов для растений	24
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	29
2.1 Проведение вегетационных опытов	31
2.1.1 Фитотестирование	31
2.1.2 Модельный опыт	34
2.2 Определение содержания меди и цинка в почве	35
2.3 Методика определения меди и цинка в растениях	37
2.4 Физиолого-биохимические исследования	38
2.5 Проведение микроскопических исследований	40
2.6. Статистический анализ.....	41
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	42
3.1 Фитотоксичность чернозема обыкновенного карбонатного при загрязнении микро- и наночастичками оксидов меди и цинка	42
3.2 Трансформация микро- и наночастичек оксидов меди и цинка в почве.....	46
3.3 Миграция меди и цинка в системе почва-растения.....	56
3.4 Рост и развитие ярового ячменя при загрязнении почвы микро- и наночастичками оксидов меди и цинка.....	60
3.4.1 Морфометрические параметры ярового ячменя	60
3.4.2 Физиолого-биохимические показатели стресса ярового ячменя.....	64
3.4.3 Строение тканей корней и листьев при внесении микро- и наночастичек оксидов меди и цинка в почву	70
ВЫВОДЫ	79
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	82

СОКРАЩЕНИЯ И ОБОЗНАЧЕНИЯ

ААС – атомно-абсорбционная спектрофотометрия

АК – акропетальный коэффициент

КАТ – каталаза

КН – коэффициент накопления

МДА – малоновый диальдегид

НС – непрочно связанные соединения

НЧ – наночастицы

СОД – супероксиддисмутаза

ТМ – тяжелые металлы

ТЭМ – просвечивающая электронная микроскопия

BF – фактор биологической доступности

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Искусственно синтезированные наночастицы оксидов тяжелых металлов (ТМ) размером до 100 нм относятся к новым техногенным факторам воздействия на почвенный покров и биоту (Osman et al., 2024; Nazir et al., 2024). Рост производства и применения материалов на основе CuO и ZnO, в том числе в сельском хозяйстве, повышает вероятность их поступления в почвы и растения. По сравнению с микродисперсными аналогами наноформы характеризуются большей удельной поверхностью, реакционной способностью и потенциальной скоростью растворения. В Российской Федерации не установлены предельно допустимые концентрации наноформ CuO и ZnO в почвах и растительной продукции. Для черноземов юга России, играющих основную роль в аграрном производстве, закономерности трансформации микро- и наноформ CuO и ZnO и влияния на растения практически не изучены.

Цель исследования: изучение трансформации и миграции микро- и наноформ CuO и ZnO в черноземе обыкновенном карбонатном, их аккумуляции и токсичности на сельскохозяйственные культуры на примере ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.).

Основные задачи исследования:

1. Оценить фитотоксичность чернозема обыкновенного карбонатного при различных уровнях поступления микро- и наноформ CuO и ZnO.
2. Выявить роль почвенных компонентов в трансформации микро- и наноформ CuO и ZnO в почве при разных дозах их внесения.
3. Дать оценку подвижности и биодоступности Cu и Zn в черноземе обыкновенном карбонатном при разных уровнях загрязнения микро- и наноформами CuO и ZnO.

4. Изучить закономерности поступления и распределения Cu и Zn по органам *Hordeum vulgare* L. в зависимости от дозы внесения микро- и наночастиц оксидов металлов в почву.

5. Установить действие микро- и наночастиц CuO и ZnO на физиолого-биохимические параметры и развитие *Hordeum vulgare* L. на органном, тканевом и клеточном уровнях организации.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Трансформация микро- и нанодисперсных форм CuO и ZnO в черноземе обыкновенном сопровождается перераспределением соединений металлов между фракциями различной прочности связи с почвенными компонентами: уменьшается доля остаточной фракции и возрастает содержание подвижных и потенциально подвижных соединений. Для соединений Cu определяющее значение в процессах закрепления имеет органическое вещество почвы, тогда как для Zn — гидроксиды и оксиды Fe и Mn.

2. Наночастицы CuO и ZnO формируют более высокий пул непрочно связанных соединений Cu и Zn в черноземе обыкновенном по сравнению с микроформами. При внесении микро- и наночастиц ZnO и микроформ CuO в группе непрочно связанных соединений металлов сохраняется последовательность: специфически сорбированные > комплексные > обменные; при внесении наночастицы CuO доля комплексных соединений металла становится преобладающей.

3. Нанодисперсные формы CuO и ZnO характеризуются более высокой биологической доступностью и обеспечивают более интенсивное накопление Cu и Zn в *Hordeum vulgare* L., преимущественно в корневой системе. Повышение концентрации металлов в почве сопровождается усилением барьерной функции корней и снижением транслокации элементов в надземные органы. Наиболее выраженные структурные повреждения тканей и клеток корней и листьев, а также физиолого-биохимические проявления

стресса развиваются при воздействии высоких концентраций наночастиц металлов, особенно ZnO.

Научная новизна. Впервые выявлена роль почвенных компонентов в трансформации наночастиц CuO и ZnO в черноземе обыкновенном карбонатном при разных уровнях загрязнения и проведено сопоставление с их распределением при поступлении в почву в форме микроформ. Внесение наночастиц металлов приводит к увеличению доли их прочно связанных соединений в почве. При этом потенциальная подвижность Zn выше, чем Cu. Отмечена специфичность поведения металлов при формировании пула прочно связанных форм: в случае Cu преимущественно возрастает доля комплексных соединений, тогда как для Zn более характерно накопление специфически сорбированных и обменных форм. Показано, что различия между формами внесения наиболее выражены на границе почва–корень, а усиление корневого барьера при высокой нагрузке ограничивает перенос Cu и Zn в надземные органы. Изучено действие микро- и наночастиц CuO и ZnO на рост *H. vulgare* и ответные морфологические изменения корней и листьев на тканевом и клеточном уровнях.

Теоретическое и практическое значение. Установлена роль алюмосиликатов, карбонатов, органического вещества, а также гидроксидов и оксидов Fe и Mn в перераспределении Cu и Zn, внесенных в чернозем обыкновенный карбонатный в составе CuO и ZnO разной дисперсности. Показано, что нанодисперсные формы формируют более высокий пул прочно связанных соединений и обеспечивают более интенсивное накопление металлов в корнях *H. Vulgare*. Выявлены анатомо-морфологические и физиолого-биохимические изменения корней и листьев при накоплении Cu и Zn, внесенных в форме микро- и наночастиц; охарактеризованы ультраструктурные повреждения клеточных органелл методом просвечивающей электронной микроскопии.

Комплекс показателей, включающий фракционный состав, группу непрочно связанных соединений, фактор потенциальной биологической доступности, коэффициенты накопления и транслокации, а также морфометрические, анатомические и антиоксидантные реакции растений, может использоваться как методическая основа оценки экологического риска металлосодержащих наноматериалов. Полученные закономерности могут быть учтены при разработке подходов к контролю состояния загрязненных почв и зерновых культур и при обосновании нормативов безопасного содержания наночастиц Cu и Zn в почве.

Степень достоверности и апробация результатов. Степень достоверности результатов диссертационной работы обусловлена проведением модельных опытов и аналитических исследований согласно стандартизированным международным методикам, использованием научно-технической базы Южного федерального университета и статистической обработкой полученных результатов. Основные результаты диссертационной работы были опубликованы и представлены на международных и российских конференциях, школах, форумах и съездах: XII Международная биогеохимическая школа, посвященная 175-летию со дня рождения В. В. Докучаева, 2021, г. Тула; XVII Ежегодная молодежная научная конференция «Наука и технологии Юга России», 2021 г. Ростов-на-Дону; Международная научная конференция XXVII Докучаевские чтения «Традиции и инновации в почвоведении», 2024, г. Санкт-Петербург; Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов», 2020-2025, г. Москва; III Международная научная конференция «Современное состояние черноземов», 2023, г. Ростов-на-Дону; IX съезд Общества почвоведов им. В.В. Докучаева, 2024, г. Казань; Международная конференция "Водосбор-река-устье: исследования эрозии почв, русловых и устьевых процессов" и XL совещание Межвузовского научно-координационного Совета по проблеме эрозионных, русловых и устьевых процессов при МГУ, 2025, г. Ростов-на-Дону.

Личный вклад автора. Цель и задачи исследования определены соискателем совместно с научным руководителем. Проведены модельные вегетационные опыты, выполнены анализы по содержанию тяжелых металлов в черноземе обыкновенном и яровом ячмене, а также физиолого-биохимические и микроскопические исследования корней и листьев. Экспериментальная работа, обработка, анализ и описание результатов выполнены лично автором в период с 2020 по 2026 год.

Публикации. Общий объем научных публикаций насчитывает 122 работы. Среди них – 29 статей, размещенных в журналах, индексируемых в базах Scopus и Web of Science. В рамках тематики диссертации опубликовано 25 научных работ: 6 статей в журналах первого и второго квартилей, индексируемых в Scopus и Web of Science, 2 статьи размещены в российских журналах из перечня ВАК.

Структура и объем работы. Структура диссертации включает введение, три основные главы, заключительные выводы и библиографический список. Объем работы составляет 101 страницу и включает 13 таблиц и 19 иллюстраций, 167 источников литературы.

Соответствие паспорту специальности. Тема диссертации соответствует паспорту научной специальности 1.5.19. Почвоведение (биологические науки) по п. 6. Теоретические и научно-методические вопросы химии почв. Изучение взаимодействия органических и минеральных компонентов почв. Техногенное и агрогенное химическое загрязнение почв, изменение их естественной кислотности, химического состава и физико-химических свойств; и п. 9. Теоретические и научно-методические вопросы экологического почвоведения. Функции почв в биосфере и жизни человека, в обеспечении экологической безопасности.

Финансовая поддержка работы. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (№ FENW-2024-0001, № 075-15-2025-686), гранта Российского научного фонда (проект №21-77-20089-П) и Программы стратегического академического лидерства

Южного федерального университета "Приоритет-2030". Аналитические работы выполнены на оборудовании ЦКП «Биоинженерия почв», научно-исследовательской лаборатории «Мониторинга биосферы» и ЦКП «Современная микроскопия» в Южном федеральном университете.

Благодарности. Автор благодарит своего научного руководителя – профессора, доктора биологических наук Татьяну Михайловну Минкину за ценные рекомендации и всестороннюю поддержку при подготовке работы. Особая признательность выражается главному научному сотруднику, кандидату биологических наук Сагларе Сергеевне Манджиевой, а также ведущим научным сотрудникам кандидатам биологических наук Бурачевской Марине Викторовне и Татьяне Владимировне Бауэр.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Производство и применение наночастиц тяжелых металлов

В последние годы нанотехнологии заняли одну из лидирующих позиций среди динамично-развивающихся научных направлений – эта сфера считается весьма перспективной для современного общества. Область объединяет фундаментальные и прикладные исследования, а также технические разработки, ориентированные на работу с объектами размером от 1 до 100 нм с уникальными свойствами (Forster et al., 2011; Klaine et al., 2008). Их свойства связаны прежде всего с высокой удельной поверхностью, повышенной реакционной способностью, изменением оптических, магнитных, каталитических и сорбционных характеристик, а также с возможностью образования устойчивых дисперсных систем и агрегатов. Активное развитие сектора наноматериалов открывает новые возможности для применения в разных сферах – от сельского хозяйства и нанесения покрытий до пищевой и текстильной промышленности, производства красок, пластмасс и очистки сточных вод (Borkow et al., 2010).

Одними из наиболее используемых в наноиндустрии являются нанопорошки на основе Cu и Zn (Balažova et al., 2018), что обусловлено их широким спектром применения в различных сферах. На данный период глобальное производство согласно отраслевым отчетам от IndexBox и Verified Market Reports НЧ CuO и ZnO оценивается в 500–800 и 8 000–10 000 тонн в год, основная доля сосредоточена в Азиатско-Тихоокеанском регионе (до 85%), причем значительную часть обеспечивает Китай. Производство наночастиц осуществляется несколькими способами: химическим (Liu et al., 2012), физическим (Blosi et al., 2011) и биологическим (Lee et al., 2013). В ходе промышленного производства наноматериалов технология выстраивается так, чтобы обеспечить формирование частиц с требуемым набором физико-химических характеристик. К химическим методам синтеза относят:

1. золь-гель метод, основанный на гидролизе прекурсора с последующей

конденсацией и термообработкой (например, использование цинка ацетата дигидрата в метаноле с LiOH приводит к образованию НЧ ZnO размером 5–10 нм); 2. соосаждение, заключающееся в добавлении щелочи (NaOH, KOH) к раствору соли металла (например, $\text{Cu}(\text{OH})_2$ выпадает в осадок при pH 8–9, затем дегидратируется до CuO при нагреве 60–90 °C); 3. Гидротермальный и сольвотермальный синтез проводится в автоклавах при температурах 100–250 °C и давлении выше атмосферного (например, использование $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ и гексаметилентетрамина (НМТА) приводит к образованию гексагональных наностержней).

Физические методы включают: 1. лазерная абляция, механизм получения – лазерный луч (Nd:YAG) фокусируется на металлической мишени (Zn, Cu) в жидкости (пример, НЧ CuO размером 5–20 нм получены абляцией медной мишени в воде); 2. механохимический синтез заключается в размоле порошков CuO или ZnO в шаровых мельницах с высокочастотными ударами, интенсивным трением и контролируемым круговым движении стакана до 2000 об/мин.

Биологический синтез основан на обработки солей металлов фенольными соединениями и флавоноидами экстрактов растений, которые выступают как восстановители и стабилизаторы (пример, синтез НЧ ZnO размером 20–50 нм с использованием экстракта *Aloe vera*; синтез НЧ CuO с экстрактом коры *Syzygium alternifolium*).

НЧ CuO и ZnO обладают выраженными антимикробными и противовирусными свойствами, применяются как компоненты антимикробных покрытий для предотвращения инфекций. Они проявляют активность против грамположительных (*S. aureus*) и грамотрицательных (*E. coli*) бактерий за счет повреждения клеточной мембраны, индуцируя окислительный стресс (Applerot et al., 2009). Доказана способность НЧ ZnO индуцировать апоптоз в раковых клетках (HeLa) при минимальной токсичности для здоровых клеток (Hanley et al., 2008). При этом из общего объема производства НЧ фармацевтический сегмент занимает меньшую долю

по тоннажу (около 10–15%) согласно отраслевым отчетам от IndexBox и Verified Market Reports, однако приносит существенную прибыль из-за более высоких цен на высокочистые соединения в биофармацевтике и клеточных технологиях.

Благодаря малому размеру частиц и выраженным термофизическим характеристикам наночастицы ZnO и CuO преимущественно востребованы в электронике и технических устройствах – например, при создании полупроводников и электронных чипов, в хеморезистивных сенсорах для детекции H₂S (CuO) и этанола (ZnO) (Ebrahimnia-Bajestan et al., 2011).

Помимо этого, их применяют в ряде других направлений: для изготовления газовых датчиков (Li et al., 2007), в катализе (Carnes et al., 2003), а также в производстве солнечных и литиевых батарей (Sau et al., 2010). НЧ CuO и ZnO являются эффективными фотокатализаторами для разложения органических загрязнителей (красители, фенолы) под УФ- и видимым светом (Rao et al., 2013). НЧ ZnO используются как электрон-транспортный слой в перовскитных солнечных батареях благодаря высокой подвижности электронов.

В сельском хозяйстве НЧ применяют в качестве наноудобрений и стимуляторов роста, а также нанопестицидов и биоцидных покрытий, поскольку проявляют выраженную активность против фитопатогенов (Zhao et al., 2021; Abd-Elsalam et al., 2020). Для наночастиц CuO или ZnO предполагаются повышенная эффективность доставки и возможность уменьшения дозы действующего вещества, однако эти преимущества должны подтверждаться в почвенных опытах и сопоставляться с риском накопления металлов в почве и растениях (Юрина и др., 2021; Сушилина, Монькина, 2011). Для агрохимического применения особенно важен баланс между полезным и токсическим действием. Повышение растворимости и доступности Cu или Zn может улучшать питание при дефиците, но при избытке усиливать фитотоксичность и перенос металлов по трофическим цепям (Zahra et al., 2022). Поэтому перспективные наночастицы должны оцениваться по принципу

«безопасность через проектирование»: с контролем растворения, агрегации, дозы, длительности воздействия и остаточного содержания элемента в почве и продукции.

С ростом применения нанотехнологий увеличивается экологическая нагрузка на компоненты биосферы (Khan et al., 2021). На каждом этапе жизненного цикла наноматериалов, включая производство, транспортировку, переработку и их утилизацию, возможно поступление наноразмерных частиц в окружающую среду (Холоденко и др., 2009). Физико-химические характеристики (электропроводность, механическая прочность, оптические и магнитные свойства, и др.) металлических наночастиц уникальны и могут оказывать эффекты на биоту, отличные от их объемных аналогов (стандартных соединений ТМ) (Rajput et al., 2023). Наноспецифический эффект обоснован только тогда, когда он сохраняется при сравнении с микродисперсным материалом, растворимой солью и ионной фракцией при сопоставимой дозе элемента (Gomes et al., 2015). В почвы они могут поступать при целевом агрохимическом применении, с отходами и осадками сточных вод, а также при износе и утилизации содержащих их изделий. Широкое использование и способность CuO и ZnO к частичному растворению обуславливают необходимость изучения их поведения именно в системе почва-растения (Balažova et al., 2018; Navratilova et al., 2015).

Для почвоведения и экологической токсикологии особое значение имеют металлсодержащие наночастицы, в том числе наноформы CuO и ZnO . Расширение масштабов производства и использования наночастиц CuO и ZnO повышает риск их попадания в почвенный покров. Cu и Zn являются биофильными микроэлементами, необходимыми для нормального роста растений, но при избыточном поступлении способны проявлять токсические свойства. В наноразмерной форме их поведение в почве и растениях определяется не только химической природой элемента, но и размером частиц, степенью агрегации, зарядом поверхности, растворимостью, способностью к

сорбции на почвенных компонентах и биотрансформации в ризосфере (Вершинина, 2024).

Согласно результатам моделирования распространения НЧ CuO в окружающей среде, почва может выступать ключевым резервуаром для этих соединений, поступающих вследствие промышленной деятельности. При этом прогнозируется, что со временем концентрация наночастиц в почвах будет превышать их содержание в водных объектах и атмосферном воздухе (Моргалев и др., 2010; Navratilova et al., 2015). В силу особенностей своей структуры наноматериалы характеризуются повышенной реакционной способностью по сравнению с более крупнодисперсными соединениями аналогичного состава. Это обуславливает возможность формирования ими комплексных соединений, обладающих ранее не описанными свойствами. Вместе с тем ограниченность данных о токсикологических характеристиках наноматериалов и особенностях их трансформации и миграции в природных средах существенно затрудняет количественную и качественную оценку их влияния на экосистемы и организм человека. По этой причине загрязнение окружающей среды наночастицами относят к числу трудноконтролируемых и сложных для прогнозирования типов антропогенного воздействия.

В нормативном блоке необходимо различать требования к безопасному обращению и экологические нормативы содержания. Международная организация по стандартизации (ISO) выпустила базовый стандарт ISO/TR 12885:2008, регламентирующий управление рисками при работе с наноматериалами. В документе систематизированы данные о промышленных наноматериалах и ключевых технологических процессах, представлены подходы к оценке их воздействия, рассмотрены вопросы профессиональных рисков, а также описаны методики контроля и обеспечения безопасности здоровья сотрудников. В России также утверждены стандарты безопасности – ГН 1.2.2633–10 «Гигиенические нормативы содержания приоритетных наноматериалов в объектах окружающей среды», однако сих пор не установлены предельно допустимые концентрации в почве и продуктах

питания для наноматериалов на основе ТМ с широким спектром биологической активности в растительных и животных организмах (Egorova et al., 2016). При отсутствии таких нормативов оценка риска должна опираться на совокупность показателей: трансформацию в почве, подвижность, биодоступность, накопление в растениях и биологические эффекты, а не только на номинальную дозу внесения.

1.2 Трансформация микро- и наночастиц тяжелых металлов в почве

Почва является одним из основных конечных резервуаров инженерных наноматериалов, поступающих в окружающую среду на разных этапах их жизненного цикла: при производстве, транспортировке, использовании, переработке и утилизации (Zhang, 2020). В отличие от водных систем, почва представляет собой полидисперсную, химически гетерогенную и биологически активную среду, где наночастицы быстро вовлекаются в процессы растворения, агрегации, сорбции, комплексообразования, окислительно-восстановительных превращений и биотической трансформации (Гладкова, Терехова, 2013). Поэтому экологический риск наночастиц определяется не только их исходными свойствами, но и теми формами, которые они приобретают после поступления в почвенную матрицу (Zhang, 2020). Переход к наноразмерному состоянию обычно увеличивает удельную поверхность и долю поверхностных атомов, что может изменять растворение, сорбцию, каталитические и окислительно-восстановительные свойства материала. Однако «наноэффект» не является автоматическим следствием размера: его выраженность зависит от состава, морфологии, поверхностной модификации, агрегации и выбранной метрики дозы. Поэтому корректное сравнение требует сопоставления наночастицы с микродисперсным аналогом и растворимой солью при одинаковом содержании элемента (Gomes et al., 2015).

Попадая в почвенные экосистемы, наночастицы подвергаются различным преобразованиям под влиянием физических, химических и

биологических взаимодействий в почвенной матрице. После поступления в почву наночастицы ТМ не сохраняют неизменную исходную форму (Joško, 2019; Qafoku, 2010). Их дальнейшая судьба определяется совокупностью физико-химических и биологических процессов, которые могут как снижать экологический риск за счет иммобилизации частиц, так и повышать его вследствие мобилизации металлов и образования более биодоступных форм.

Физические преобразования наночастиц на основе ТМ связаны прежде всего с изменением размера, морфологии и агрегатного состояния (Cornelis et al., 2014; Ahmed et al., 2021). Гомоагрегация объединяет частицы одного состава, тогда как гетероагрегация происходит при их взаимодействии с глинистыми минералами, оксидами металлов, органическим веществом и другими природными коллоидами. Высокая ионная сила и присутствие многозарядных катионов обычно снижают электростатическую устойчивость дисперсий и способствуют укрупнению частиц, что ограничивает их дальний перенос, но не обязательно устраняет растворение и токсическое действие.

К основным направлениям трансформации наночастиц ТМ в почве относятся растворение и высвобождение ионов, агрегация и гетероагрегация, сорбция на минеральных и органических компонентах, взаимодействие с растворенным органическим веществом, сульфидирование, окислительно-восстановительные реакции и биотическая трансформация (Haydar et al., 2025). Для оксидов CuO и ZnO ключевым процессом является высвобождение ионов, скорость которого определяется размером и удельной поверхностью частиц, pH, составом почвенного раствора, растворенным органическим веществом и корневыми экссудатами (Mudunkotuwa et al., 2012; Hortin et al., 2020). Образующиеся ионы и комплексы далее сорбируются почвенными компонентами или включаются во вторичные фазы, поэтому химическая судьба металла не тождественна сохранению исходных наночастиц.

Растворение является одним из ключевых процессов для НЧ оксидов металлов, прежде всего ZnO и CuO. Скорость растворения зависит от размера частиц, площади их поверхности, pH, ионной силы почвенного раствора,

состава органических лигандов и длительности контакта с почвой. Чем меньше размер частиц, тем выше их удельная поверхность и, как правило, выше потенциальная скорость высвобождения ионов (Mudunkotuwa et al., 2012). Для ZnO протон-индуцированное растворение усиливается при снижении pH. В карбонатных почвах нейтральная или слабощелочная реакция обычно ограничивает растворимость ZnO, однако локальное подкисление и комплексообразование в ризосфере могут поддерживать поступление Zn^{2+} .

Для НЧ CuO растворение также зависит от pH и присутствия органических кислот. В ризосферной зоне корневые экссудаты, прежде всего лимонная, щавелевая и другие низкомолекулярные органические кислоты, могут усиливать растворение CuO и ZnO, переводя металлы в ионные или комплексные формы. В то же время гуминовые вещества и глинистые минералы способны сорбировать высвобождающиеся ионы и снижать их подвижность (Gao et al., 2018). Таким образом, растворение НЧ в почве нельзя рассматривать изолированно: оно сопряжено с комплексообразованием, сорбцией и последующей фиксацией металлов на почвенных компонентах.

Агрегация и гетероагрегация существенно изменяют миграционную способность НЧ. В почвенном растворе высокая ионная сила, присутствие Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} и других катионов, а также изменение pH могут разрушать электростатическую стабилизацию частиц и приводить к их укрупнению (Zhang et al., 2017). При гомоагрегации взаимодействуют частицы одного типа, а при гетероагрегации НЧ связываются с природными коллоидами — глинистыми минералами, гумусовыми веществами, оксидами Fe и Mn, клетками микроорганизмов и продуктами их метаболизма. Образование таких агрегатов обычно снижает дальнюю миграцию НЧ в профиле почвы, однако не обязательно устраняет токсический эффект, поскольку агрегаты могут сохранять реакционно-активную поверхность и служить источником ионов (Cornelis et al., 2014).

Сорбция на твердой фазе почвы НЧ и высвобождающихся из них ионов является важнейшим механизмом их иммобилизации. Почва содержит

большое количество природных ультрадисперсных частиц, формирующих почвенные коллоиды (Марчик, Ефремова 2006). Глинистые минералы, органическое вещество, карбонаты, аморфные и кристаллические (гидр)оксиды Fe и Mn обладают высокой поверхностной активностью и участвуют в закреплении металлов. С уменьшением размера почвенных частиц возрастает их суммарная поверхность, поэтому мелкодисперсные фракции, как правило, характеризуются повышенной способностью к накоплению ТМ. Это особенно важно для черноземов тяжелосуглинистого гранулометрического состава, где физическая глина и ил играют ключевую роль в сорбции Cu и Zn (Минкина и др., 2016).

Органическое вещество почвы оказывает двойственное влияние на поведение НЧ. С одной стороны, растворенное органическое вещество и гуминовые кислоты могут формировать на поверхности частиц органическое покрытие, блокирующее доступ протонов и кислорода и тем самым замедляющее растворение. С другой стороны, органические макромолекулы способны обеспечивать стерическую стабилизацию НЧ, препятствуя агрегации и повышая их миграционную способность (Delay et al., 2015). Для Cu значение органического вещества особенно велико, поскольку этот металл проявляет выраженную органофильность и образует устойчивые комплексы с карбоксильными, фенольными, аминными и тиольными функциональными группами органических веществ (Студеникина, 2000).

Корневые экссудаты растений усиливают растворение оксидных НЧ, комплексируют высвобождающиеся ионы и могут повышать их поступление в растения (Huang et al., 2017; Li J. et al., 2019). После поглощения металлы связываются фитохелатинами, органическими кислотами, белками и компонентами клеточных стенок, что изменяет их форму и токсичность.

Сульфидирование является значимым процессом в анаэробных и переувлажненных условиях, а также в микроразонах почвы с низким окислительно-восстановительным потенциалом. Сульфатредуцирующие микроорганизмы способны продуцировать сероводород и другие

восстановленные формы серы, которые взаимодействуют с металлосодержащими НЧ (Levard et al., 2012). В результате Ag, Cu, Zn и другие металлы могут переходить в малорастворимые сульфидные формы. Для ряда наноматериалов сульфидирование приводит к снижению растворимости и токсичности, однако экологический эффект зависит от состава образующихся фаз, степени кристалличности, размера частиц и устойчивости сульфидов при последующем окислении.

Окислительно-восстановительные превращения НЧ определяются режимом увлажнения и аэрации, активностью микроорганизмов, содержанием органического вещества и корневых экссудатов (Collin et al., 2014). В почве могут формироваться резкие градиенты Eh: от окислительных условий в аэрируемых порах до восстановительных микрозон в агрегатах и ризосфере. НЧ Cu^0 способны окисляться до Cu_2O и CuO , тогда как CuO при участии органических веществ и биоты может частично восстанавливаться до Cu(I) -содержащих форм. Такие превращения принципиально важны, поскольку Cu(I) является высоко реакционноспособной формой меди и способен участвовать в реакциях, сопровождающихся образованием активных форм кислорода.

Длительное пребывание НЧ в почве сопровождается процессами старения: ростом кристаллов, изменением поверхности, переходом между фракциями различной прочности связи, сорбцией органических молекул и образованием вторичных минеральных фаз (Islam, 2025). В результате исходная наноформа может постепенно трансформироваться в комплекс почвенных соединений металла, включающий обменные, специфически сорбированные, связанные с органическим веществом, оксидами Fe и Mn, карбонатами и алюмосиликатами формы. Поэтому для оценки риска НЧ недостаточно определять валовое содержание Cu и Zn: необходимо анализировать фракционный состав, подвижность и биодоступность металлов.

Наиболее информативными для изучения трансформации НЧ в почве являются методы последовательной экстракции, рентгенофлуоресцентного

анализа, атомно-абсорбционной спектрофотометрии, электронной микроскопии, XANES/EXAFS-спектроскопии, рентгеноструктурного анализа и spICP-MS. Использование современных синхротронных, рентгеноструктурных и рентгеноспектральных методов при изучении состава наночастиц в почве и растениях являются наиболее технологичными и точными за счет элементной избирательности и чувствительности к локальной структуре большого спектра элементов, низким пределам обнаружения, высокого пространственного разрешения и простой пробоподготовки (Nevidomskaya et al., 2016; Minkina et al., 2016). Эти методы позволяют охарактеризовать не только общее содержание металлов, но и их распределение по фракциям, локализацию в почвенных компонентах и растительных тканях, а также изменения химического состояния.

В настоящем исследовании особое значение имеет фракционный подход, поскольку именно перераспределение Cu и Zn между фракциями различной прочности связи определяет их подвижность, биодоступность и последующее поступление в *Hordeum vulgare*.

Химическое состояние, в котором металлы связаны с почвами (легкообменные ионы, карбонаты металлов, оксиды, сульфиды, металлоорганические соединения, металлы в кристаллических решетках минералов) определяет их миграционную способность (биодоступность) в растения. В зависимости от изменения физико-химических свойств и биологической активности они могут менять форму, переходить в другие компоненты почвы и, таким образом, становиться более доступными для растений (Burachevskaya et al., 2022). Зависимость миграции Zn в системе почва–растения от физико-химических свойств почв и концентрации элемента показана в серии работ В. С. Анисимова и соавторов (Anisimov et al., 2015; Анисимов и др., 2016; Анисимов и др., 2018; Переволоцкая, Анисимов, 2018). Эти данные обосновывают необходимость интерпретировать коэффициенты накопления совместно с pH, гранулометрическим составом и подвижностью элемента.

1.3 Миграция микро- и наночастиц тяжелых металлов в растения

Особый интерес представляют исследования способности НЧ ТМ проникать и накапливаться в живых и биокосных системах ввиду их высокой химической активности (Wang et al., 2017; Rajput et al., 2023). Приближаясь к корням растений, наночастицы сначала адсорбируются на их поверхности (Wang et al., 2023). Корни растений имеют шероховатую поверхность из-за наличия корневых волосков, которые могут выделять слизь или небольшие молекулы, например органические кислоты, поэтому поверхность корней обычно имеет отрицательный заряд (de la Rosa et al., 2021). Из-за этих особенностей наночастицы с положительным поверхностным зарядом с большей вероятностью адсорбируются и накапливаются на поверхности корней (Gao et al., 2023; Wang et al., 2023). Для того чтобы наночастицы смогли поглотиться растением и переместиться по его тканям, им необходимо пройти через ряд физиологических преград – от поверхности корня до сосудов ксилемы. К таким барьерам относятся: эпидермис, кортекс, эндодерма, а также пояски Каспари. Завершающим этапом транспорта становится поступление частиц в побеги по ксилеме (Rani et al., 2023). Кутикула, покрывающая корень, по своему строению и функциональному назначению сопоставима с кутикулой листа. При этом вопрос о способности наночастиц преодолевать кутикулярный барьер на корне пока остается открытым – достоверных данных на этот счет нет. Однако кутикула слабо развита на поверхности корневых волосков и развивающихся кончиков основных и вторичных корней, поэтому в этих областях наночастицы могут напрямую контактировать с эпидермисом (Wang et al., 2023). Наночастицы ТМ могут поступать в растительную клетку с помощью транспортных белков или ионных каналов, а также путем эндоцитоза, который является основным механизмом их поступления (Фастовец и др., 2018; Nair et al., 2011).

При приближении к корневому эпидермису у высших растений существует два основных пути поглощения и транспортировки наночастиц. В научной литературе преимущественно анализируется апопластический путь транспорта наночастиц: сначала они попадают в поры клеточной стенки, далее распространяются в межклеточном пространстве либо в зоне между клеточной стенкой и плазматической мембраной, при этом не проникая непосредственно через мембрану (Azim et al., 2023; Rani et al., 2023). НЧ ТМ наблюдаются в апопластическом пространстве корней. (Duan et al., 2026). Например, наночастицы ZnO размером 20 нм в корнях райграсса, наночастицы Au размером 12 нм в корнях *Arabidopsis thaliana*, наночастицы Ag размером 20–80 нм в корнях *Arabidopsis thaliana*, наночастицы CuO размером 43 нм в корнях *Elsholtzia splendens*, и наночастицы La₂O₃ размером 22 нм в корнях огурца. Неразрешимая проблема заключается в том, что диаметр пор в клеточных стенках растений, по оценкам, составляет от 5 до 20 нанометров (de la Rosa et al., 2021; Nazeer et al., 2023; Djanaguiraman et al., 2024; Zhang, Su, 2024; Jia et al., 2023; Upadhyaya, Roychoudhury, 2024). Логично предположить, что через клеточные стенки могут проникать только наночастицы размером менее 20 нанометров. Однако в межклеточных пространствах было обнаружено множество наночастиц размером более 20 нанометров. Один из возможных механизмов заключается в том, что наночастицы могут разрушать клеточную стенку и увеличивать размер пор (Li et al., 2023). Другая гипотеза заключается в том, что наночастицы попадают в межклеточные пространства или даже в ксилему через пораженные болезнью корни или в результате физических повреждений, нанесенных подземными травоядными животными и механическими травмами, например при пересадке саженцев (Djanaguiraman et al., 2024; Rani et al., 2023). В целом, по апопластическому пути НЧ ТМ могут проходить через эпидермис, кортекс и достигать энтодермы, но им препятствует каспарова полоска, пояс из специализированного материала клеточной стенки, герметизированный липофильными углеводородами, расположенными в соседних клетках энтодермы вокруг сосудистой системы

(Uradhyaya, Roychoudhury, 2024). НЧ ТМ могут проникать в сосудистую систему и обходить каспарову полосу через апопласт корня, например, через кончик корня. область, где каспариевая полоска еще не сформировалась, или латеральное корневое соединение, где каспариевая полоска отсоединена (Rani et al., 2023; Yavas et al., 2025). С помощью просвечивающей электронной микроскопии, микрорентгеноспектрального анализа и флуоресцентного отслеживания установлено, что наночастицы ZnO размером 30 нм скапливаются в месте соединения боковых корней кукурузы и внутри связанного с ними цилиндра ксилемы (Zhao et al., 2012; Shukla et al., 2016). Таким образом, соединение боковых корней может быть важным апопластным путем, по которому наночастицы попадают в сосудистую систему.

Другой предполагаемый путь – симпластический, то есть межклеточный. Помимо клеточной стенки, существуют еще два барьера, через которые наночастицы могут проникать по симпластическому пути. Первый — проникновение наночастиц через клеточную мембрану в цитоплазму (Zhao et al., 2011). Второй — перенос наночастиц в соседние клетки после проникновения в клетку через плазмодесмы (Duan et al., 2026). Было выдвинуто несколько гипотез о трансмембранном транспорте наночастиц растительными клетками, например через аквапорины, взаимосвязанные ионные каналы, путем эндоцитоза и интрузии через поврежденную мембрану (de la Rosa et al., 2021). Однако ионные каналы пропускают только определенные ионы, и, хотя аквапорины неселективны по своей природе, диаметр белковых каналов аквапоринов обычно не превышает 1 нм (Сергеев, 2001). Согласно литературным данным, наиболее вероятным механизмом проникновения наночастиц через мембрану является эндоцитоз (Manzanares, Seña, 2020). Однако недавние исследования интернализации наночастиц с использованием изолированных растительных клеток позволяют предположить, что в этом процессе участвуют механизмы эндоцитоза. С помощью метода конфокальной микроскопии с лазерным сканированием наблюдали как клатрин-независимый, так и клатрин-зависимый пути

эндоцитоза наночастиц золота в протопластах табака (Lv et al., 2019). Поверхностные свойства наночастиц играют решающую роль в эндоцитозе растительных клеток (Li et al., 2016). Мезопористые наночастицы диоксида кремния, функционализированные триэтиленгликолем, поглощались протопластами мезофилла табака, в то время как нефункционализированные не поглощались (Sarkar et al., 2022). Интернализованные наночастицы оставались в эндоцитозных везикулах в цитоплазме размером от 0,2 до 3 мкм (Behzadi et al., 2017).

С использованием сканирующего микроскопа, была показана высокая способность НЧ ZnO к адгезии на поверхности корней райграса (*Lolium perenne*), при этом покрытие наночастицами поверхности корня увеличивалась с повышением концентрации нано-ZnO (Lin and Xing, 2008). Известно, что некоторые НЧ ТМ (до 30 нм) способны проникать в растительные клетки без предварительного растворения на ионы, при этом современные знания о механизмах поглощения и транслокации НЧ в растениях остаются весьма ограниченными и не носят систематического характера (Azeem et al., 2022; Yadav et al., 2022). Попадая в клетку, НЧ связываются с нуклеиновыми кислотами и белками, встраиваются в мембраны клеточных органелл и тем самым изменяют функции биоструктур (Attarilar S. et al., 2020). Для доказательства специфического переноса НЧ необходимы взаимодополняющие методы - электронная микроскопия с элементным анализом, XAS, spICP-MS или изотопное мечение - и контроль растворенной фракции (Lv et al., 2019; Duan et al., 2026).

1.4 Токсичность микро- и наночастиц тяжелых металлов для растений

Особенности воздействия инженерных частиц металлов в наночастиц на почву и биоту обеспечиваются их уникальными свойствами – чрезвычайно высокой проникающей способностью через биологические мембраны,

значительной удельной поверхностью и многократно повышенной реакционной способностью. Однако из этих исключительных свойств следует и негативное воздействие – нанотоксичность (Chen et al, 2006). Поэтому термин «нанотоксичность» целесообразно использовать для эффектов, которые доказанно отличаются от действия микродисперсного материала и растворимой формы того же элемента (Gomes et al., 2015).

Медь и цинк, как химические элементы, широко распространены в тканях растений и являются важными микроэлементами для их роста. Ионы Zn участвуют в функционировании более 200 различных ферментов, активно участвующих в метаболизме растения (Palmer and Guerinot, 2009; Sturikova et al., 2018), в том числе и фотосинтеза (Hänsch and Mendel, 2009). Физиологическая активность Cu связана с включением ее в состав активных центров окислительно-восстановительных ферментов, участием в процессе фотосинтеза и усвоением азота растениями.

Существует большое количество исследований, посвященных влиянию НЧ ТМ на растения с использованием относительно нечувствительных конечных показателей на организменном уровне (например, всхожесть, биомасса, урожайность и содержание питательных веществ) (Faizan et al., 2023; Wang et al., 2023; Francis et al., 2024). Однако изучение стрессовых механизмов, лежащих в основе реакции растений на поступление и накопление НЧ является трудной задачей, поскольку зависит от биологических свойств конкретного элемента, видовых особенностей растений, эдафических факторов и концентрации металла (Lin and Xing, 2007; Prasad et al., 2012; Oleszczuk et al., 2019). На популяционно-ценотическом уровне длительное техногенное воздействие тяжелых металлов сопровождается изменением структуры ценопопуляций, стратегий адаптации и продуктивности травянистых сообществ (Безель и др., 1998; Жуйкова и др., 1999; Безель и др., 2001; Жуйкова и др., 2015). Эти данные подтверждают необходимость рассматривать морфологические и биохимические ответы *Hordeum vulgare* L.

как элементы многоуровневой адаптации, а не только как прямое повреждение.

Токсическое действие НЧ CuO связано преимущественно с двумя процессами: растворением НЧ CuO с высвобождением ионов Cu^{2+} и развитием окислительного стресса во внеклеточном и внутриклеточном пространстве (Gabbay et al., 2006; Wang, 2012). Находящиеся во внеклеточном пространстве НЧ оксида меди и ионы Cu^{2+} проходят через клеточную мембрану и поступают в цитоплазму путем эндоцитоза и через медь-транспортные белки (или белки-переносчики меди).

Ионы Cu^{2+} , высвобождаемые с поверхности наночастиц оксида меди, являются основной причиной их высокой токсичности для организмов (Gabbay et al., 2006). Большие количества Cu^{2+} могут высвобождаться из наночастиц оксида меди как в суспензии, так и в клеточной среде (Gunawan et al., 2011). НЧ меди могут катализировать производство свободных радикалов и реакции Фентона, приводя к повреждению липидов, белков и нуклеиновых кислот (Festa, 2011; Hartwig, 2013). Кроме того, внутриклеточные НЧ CuO могут попадать в различные органеллы (лизосомы, митохондрии) или контактировать с нуклеиновыми кислотами, могут также выделять Cu^{2+} , приводя к окислительному стрессу и повреждениям ДНК (Valko et al., 2005; Ahamed et al., 2010; Cuillel et al., 2016).

В настоящее время количество исследований фитотоксичности ZnO, как и CuO, разной дисперсности ограничено. Было показано, что обработка семян микро- и наноформой ZnO (250–2000 мг/л) не оказывает вредного воздействия на их прорастание, деление клеток, рост корней и побегов *Triticum aestivum*, при этом нано ZnO значительно увеличивают содержание хлорофилла и белка (Ramesh et al., 2014). В исследовании на растениях *Brassica napus* и *Medicago sativa* показано, что токсичность нано ZnO ниже, чем токсичность Zn^{2+} или ZnO (Mousavi et al., 2014, 2015). С другой стороны, обработка семян НЧ ZnO в концентрации 300 мг/л снижала рост на 80 %, а содержание хлорофилла более чем на 50% у *Arabidopsis thaliana* (Wang et al., 2016). Токсический

эффект на рост и развитие растений *A. Thaliana* также выявлен при воздействии более низких концентраций нано ZnO (Nair and Chung, 2017; Wan et al., 2019). Обработка нано ZnO значительно ингибировала рост корней и побегов томатов (*Solanum lycopersicum*), снижала содержание хлорофиллов а и b, а также снижала эффективность фотосинтеза и некоторые другие параметры флуоресценции хлорофилла в зависимости от концентрации (Wang et al., 2018). Авторы предположили, что защитный ответ растений на действие нано ZnO связан с увеличением активности антиоксидантных ферментов. Имеются данные о большем негативном воздействии нано формы ZnO по сравнению с ионами Zn^{2+} на растения *Alium sera*, что, предположительно, связано с более высокой продукцией АФК (Kumari et al., 2011). С другой стороны, было показано, что микродисперсная и нанодисперсная формы ZnO в равной степени вызывают перекисное окисление липидов, АФК-опосредованное набухание митохондрий и хромосомные аномалии в корнях *A. Sera* (Ahmed et al., 2017). Увеличение биомассы проростков риса (*Oryza sativa*), под воздействием нано формы ZnO в низкой концентрации (50 мг/л), связывают с большей активизацией антиоксидантной системы и снижением генерации АФК (Singh, 2018).

Анализ литературы показывает, что ZnO в зависимости от размера, формы, концентрации и объекта исследования вызывает широкий спектр физиологических реакций, общим звеном которых является нарушение окислительно-восстановительного гомеостаза и генерация активных форм кислорода (Ghosh et al., 2016; Baskar et al., 2021).

Несмотря на наличие множества исследований, посвященных воздействию НЧ на живые организмы и почву, проблема получения новых знаний о механизмах воздействия НЧ на различные объекты остается чрезвычайно актуальной. Имеющиеся сведения зачастую имеют разрозненный характер и еще не позволяют в полной мере оценить риск от поступления НЧ в пищевые цепи как экологические, так и социально-

экономические для агроэкосистем, определить ПДК НЧ в различных средах, установить различия в воздействии НЧ и частиц более крупного размера.

Таким образом, анализ литературы показывает, что для оценки экологического риска НЧ CuO и ZnO необходимо рассматривать не только их фитотоксичность, но и трансформацию в почве, распределение между фракциями различной прочности связи, биодоступность и барьерные механизмы растений. Наименее изученными остаются сравнительные закономерности поведения микро- и нанодисперсных форм CuO и ZnO в карбонатных черноземах и их миграция в системе «почва — растения», что определяет актуальность настоящего исследования.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты исследования – чернозем обыкновенный карбонатный среднемощный тяжелосуглинистый на лессовидных суглинках и тест-культура – яровой ячмень двурядный *Hordeum vulgare* L.

В современной классификации почв России (Шишов и др., 2004), чернозем обыкновенный относится к чернозему миграционно-сегрегационному, а согласно классификации Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (ФАО) и Мировой реферативной базе почвенных ресурсов (WRB) носит название *Typlic Chernozem* (WRB, 2022). Почва была отобрана с особо охраняемой природной территории «Персиановская заповедная степь» (Рисунок 1, 2).

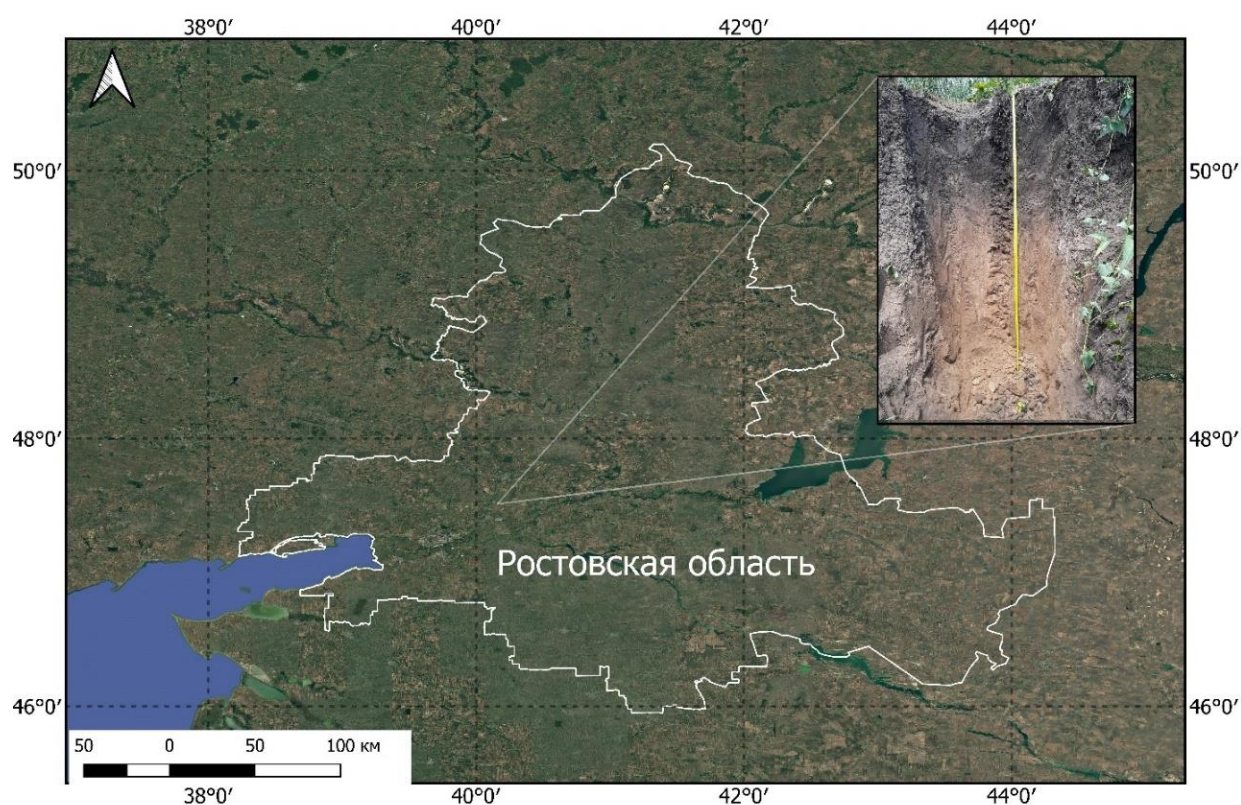


Рисунок 1. Картосхема расположения отбора чернозема обыкновенного карбонатного с территории ООПТ «Персиановская заповедная степь»



Рисунок 2. Общий вид площадки мониторинга, с которой произведен отбор проб почвы для модельного эксперимента

Чернозем обыкновенный (0–20 см) представлен тяжелосуглинистой разновидностью и характеризуется среднегумусной степенью гумусированности, невысоким содержанием карбонатов в верхнем горизонте, слабощелочной реакцией почвенной среды, ЕКО в основном представлена обменными катионами Ca^{2+} и Mg^{2+} (Таблица 1). Почва обладает высокой степенью обеспеченности нитратного азота (N-NO_3) – 32,9 мг/кг и подвижного калия (K_2O) – 511 мг/кг, средней степенью обеспеченности аммонийного азота (N-NH_4) – 25,3 мг/кг и низкой степени обеспеченности P_2O_5 – 10,6 мг/кг.

Яровой ячмень является основной зернофуражной сельскохозяйственной культурой в России и одной из широко используемых продовольственных зерновых культур во всем мире, а также используется в качестве биоиндикатора для оценки воздействия содержания и накопления ТМ (Arendt et al., 2013; Mandzhieva et al., 2016).

Таблица 1 – Физические и химические свойства чернозема обыкновенного с ООПТ «Персиановская заповедная степь»

Физическая глина ($<0,01\text{мм}$)	Ил ($<0,001\text{мм}$)	CaCO_3 акт	Сорг	Свов	pHвод	ЕКО	Обменный	
							Ca^{2+}	Mg^{2+}
%					ед.		$\text{сМ}(+)^*\text{кг}^{-1}$	
47,6	26,7	2,6	2,4	56	7,5	29,4	23,1	4,5

2.1 Проведение вегетационных опытов

2.1.1 Фитотестирование

Для определения фитотоксичности почвы при внесении микро- и наночастиц оксидов меди и цинка проведен модельный опыт с использованием эталонных соединений CuO и ZnO (ЧДА, ГОСТ 16539-79, ГОСТ 10262-73) и коммерческих наночастиц с заявленным размером 30-80 нм (Alfa Aesar, Германия). С помощью трансмиссионного электронного микроскопа Tescan G2 Spirit BioTweeN (FEI, Нидерланды) на базе Центра коллективного пользования «Современная микроскопия» Академии биологии и медицины им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета (АБиМ ЮФУ) исследованы форма и размерность частиц оксидов металлов. На ТЭМ-изображениях микроформы оксидов металлов представлены крупными агрегированными конгломератами и массивными кристаллитами субмикронного масштаба до 500-700 нм, тогда как наночастицы состоят преимущественно из мелких индивидуальных частиц и мелких агрегатов размером до 100 нм (Рисунок 3). В микроформе ZnO дополнительно видны удлиненные призматические частицы и стержни, а в наночастицах – более короткие и тонкие кристаллиты.

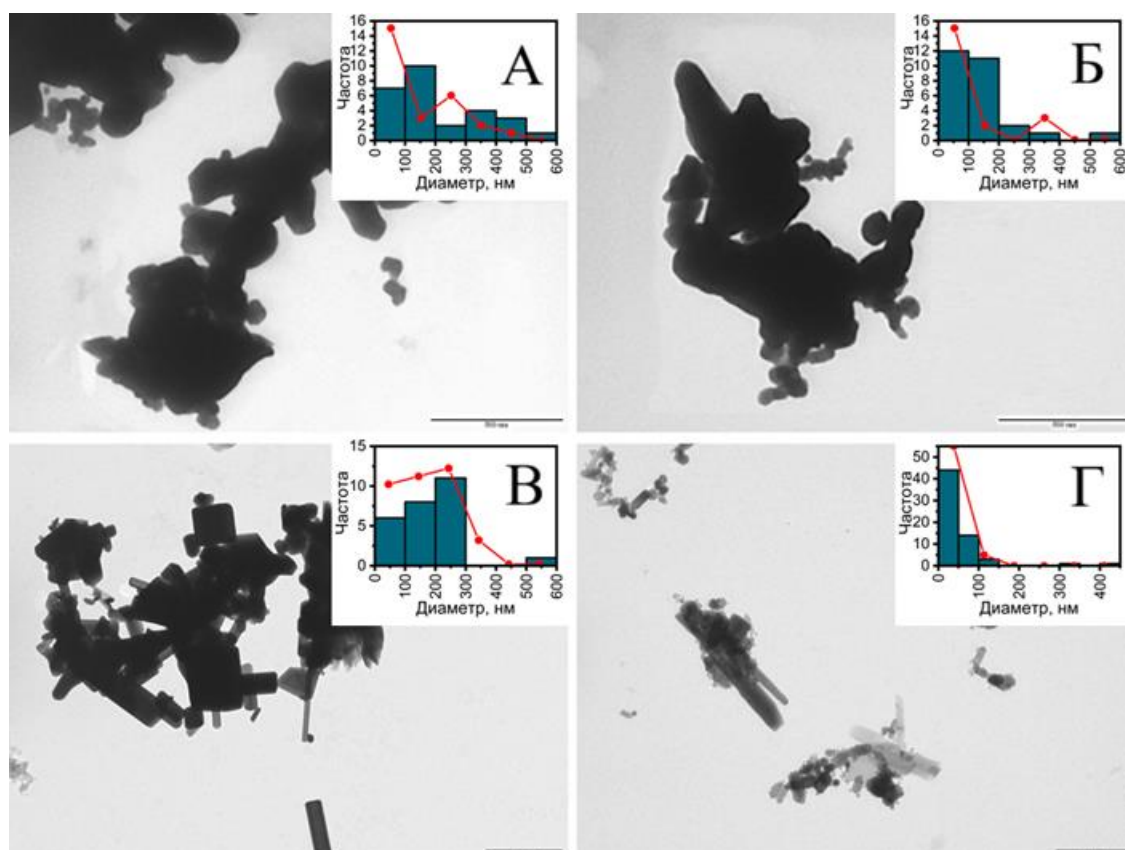


Рисунок 3. ТЭМ-фотографии используемых микро- и наночастиц оксидов металлов: А, В – микроформа CuO и ZnO; Б, Г – наночастицы CuO и ZnO

Чернозем обыкновенный был очищен от растительных остатков и просеян через сито с диаметром отверстий 3 мм. В чашки Петри со 100 г почвы вносили оксиды металлов в сухом виде согласно схеме опыта в 3-х кратной повторности: 1) контроль (чистая почва, без внесения); 2) 150 мг/кг; 3) 300 мг/кг; 4) 1000 мг/кг; 5) 2000 мг/кг; 6) 3000 мг/кг. Выбор доз металлов осуществлялся по литературным данным (Shemawar et al., 2021; Joško et al., 2021) и в соответствии с существующим диапазоном варьирования содержания в почвах черноземной зоны на техногенных территориях (Minkina et al., 2018; Linnik et al., 2020). Доза 2000 мг/кг металлов по данным исследователей является критической для сельскохозяйственных культур (Vishnu et al., 2021; Fedorenko et al., 2021).

После внесения металлов почву тщательно перемешивали и инкубировали при температуре +23–25°C и поддержании наименьшей полевой влагоемкости (до 60 % от полной полевой влагоемкости) в

лабораторных условиях. Спустя 1 месяц высевали тест-культуру яровой ячмень двурядный (*Hordeum vulgare* L.) сорта Ратник семейства Мятликовые (*Poaceae*) в количестве 10 растений на 1 чашку Петри и выращивали при продолжительности светового дня 16 ч. и влажности почвы 50–65% (Рисунок 4). Согласно ГОСТ 12038–84 и ГОСТ 10968–88 проводили оценку показателей фитотоксичности чернозема: на 3 сутки измеряли энергию прорастания, а на 7 сутки – всхожесть, длину корней и побегов. Оценка класса токсичности чернозема проводили на основе расчета индекса токсичности фактора (ИТФ) по каждому варианту опыта по формуле (Волкова, 2002):

$$ИТФ = T\Phi_0 / T\Phi_k, \quad (1)$$

где $T\Phi_0$ – величина измеряемого показателя в исследуемом варианте, $T\Phi_k$ – на контроле.

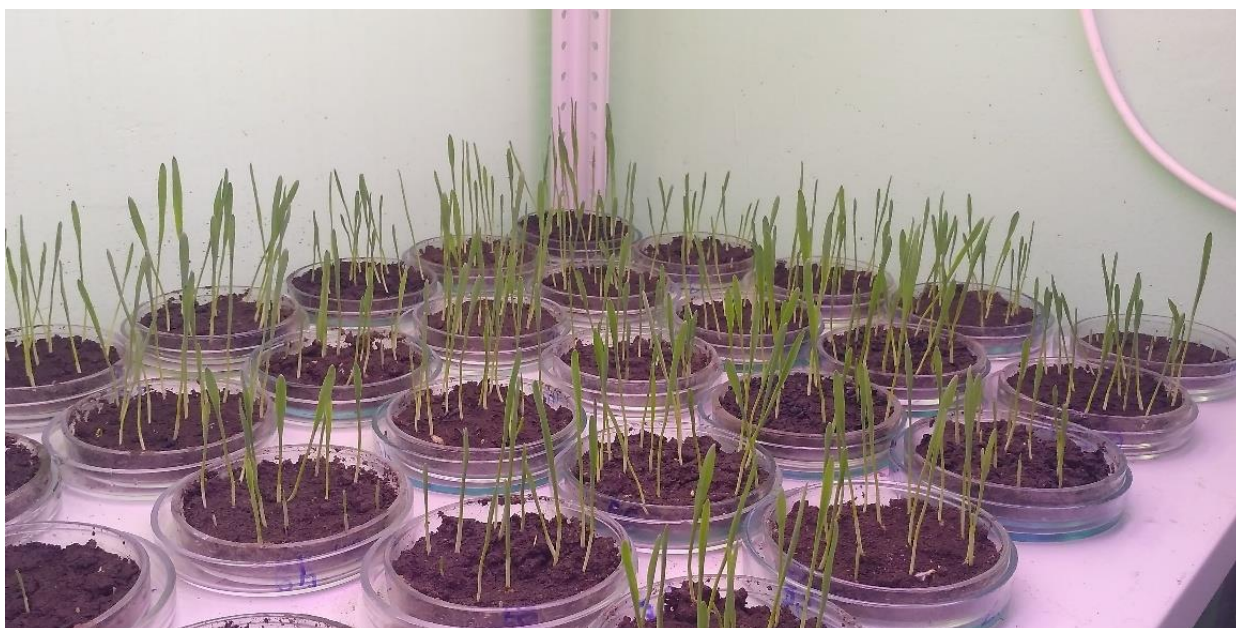


Рисунок 4. Модельный опыт по фитотоксичности почв при внесении микро- и наноформ CuO и ZnO в дозах 150–3000 мг/кг

2.1.2 Модельный опыт

По результатам фитотестирования для изучения трансформации и миграции микро- и наноформ CuO и ZnO в системе почва-растение заложен модельный вегетационный опыт в пластиковых контейнерах с 1,5 кг почвы в 3-х кратной повторности (Рисунок 5). В черноземе вносили сухие порошки оксидов металлов разной дисперсности согласно схеме опыта и тщательно перемешивали с почвой: 1) Контроль (чистая почва); 2) 300 мг/кг микро-CuO; 3) 300 мг/кг нано-CuO; 4) 2000 мг/кг микро-CuO; 5) 2000 мг/кг нано-CuO; 6) 300 мг/кг микро-ZnO; 7) 300 мг/кг нано-ZnO; 8) 2000 мг/кг микро-ZnO; 9) 2000 мг/кг нано-ZnO. Данные дозы позволяют выявить механизмы трансформации и миграции микро- и наноформ оксидов металлов при проявлении низкой, средней и высокой токсичности чернозема на рост ячменя. Инкубационный период проводили при аналогичных условиях фитотестирования в течение 3-х месяцев. Затем высевали тест-культуру в количестве 40 шт. на горшок. Растения выращивали до фазы выхода в трубку (40 дней), когда ячмень поглощает из почвы до 75% макроэлементов от общего потребления, и отбирали совместно с почвой для дальнейших анализов.



Рисунок 5. Модельный опыт при внесении микро- и наноформ CuO и ZnO в черноземе обыкновенный с тест-культурой *Hordeum vulgare* L.

2.2 Определение содержания меди и цинка в почве

Валовое содержание Cu и Zn определяли рентген-флуоресцентным методом с использованием спектрометра Спектроскан «МАКС-GV» (Спектрон, Россия) научно-исследовательской лаборатории «Мониторинга биосферы» АБиМ ЮФУ.

Фракционный состав Cu и Zn исследовали методом последовательной экстракции BCR (Ure et al., 1993) в модификации Pueyo et al. (2008) определяли кислоторастворимую (F1), восстанавливаемую (F2), окисляемую (F3) и остаточную (F4) фракции (Таблица 2). F1 рассматривается как наиболее подвижная, F2 и F3 являются потенциально биодоступными при изменении окислительно-восстановительных условий, металлы, выделяемые F4, прочно закреплены в кристаллической решетке алюмосиликатов и не участвуют в ионообменных реакциях.

Таблица 2. Модифицированная схема BCR (Pueyo et al., 2008) фракционирования тяжелых металлов

Фракции соединений	Экстрагенты
F1 – Кислоторастворимая (обменная, специфически сорбированная и связанная с карбонатами)	0,11 М CH_3COOH , pH 3, раствор взбалтывать 16 часов (соотношение почва:раствор 1:40) при температуре 22 ± 5 °C
F2 – Восстанавливаемая (связанная с гидроксидами и оксидами Fe и Mn)	0,5 М $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ взбалтывать 16 ч при температуре 22 ± 5 °C, pH 2 при подкислении реагента добавлением 2,5% (v/v) HNO_3 (почва:раствор 1:40)
F3 – Окисляемая (связанная с органическим веществом)	8,8 М H_2O_2 при нагревании (1 ч при 85 ± 5 °C и 1 ч при 85 ± 2 °C) выпарить почти досуха, затем 1 М $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$, pH 2 при подкислении реагента добавлением 2,5% (v/v)

	HNO ₃ ; взбалтывать 16 часов (почва: раствор 1:70)
F4 – Остаточная	Царскую водку (HCl (37%) и HNO ₃ (70%)) добавить после выпаривания (почва: раствор 1:9)

Соединения металлов, удерживаемые на поверхности почвенных частиц органическими и минеральными компонентами почвы в обменном и специфически сорбированном состоянии, поступают в растения и мигрируют в сопредельные среды, поэтому являются наиболее важными с экологической точки зрения. Т. М. Минкиной и др. (2008) было предложено методом параллельного экстрагирования выделить такие соединения металлов в группу непрочно связанных соединений, характеризующих общее содержание подвижных форм (Таблица 3).

Таблица 3. Схема параллельного экстрагирования непрочно связанных соединений тяжелых металлов

Непрочно связанные соединения	Определение (почва:раствор 1:10)
Обменные (актуальный запас элементов в почве)	1н CH ₃ COONH ₄ pH 4,8
Комплексные (слабо связанные с органическим веществом)	По разнице между 1% C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₈ в 1н CH ₃ COONH ₄ pH 4,8 и 1н CH ₃ COONH ₄ pH 4,8
Специфически сорбированные (кислоторастворимые формы ТМ, входящих в состав аморфных соединений и карбонатов; потенциальный запас)	По разнице между 1н HCl и 1н CH ₃ COONH ₄ pH 4,8

Содержание Cu и Zn в почвенных экстрактах определяли методом атомно-абсорбционной спектрометрии на приборе KVANT 2-AT (Kortec Ltd, Россия) с диапазоном длин волн 324,8 нм и 213,9 нм при комнатной температуре на аналитических линиях, соответствующих каждому элементу.

Для учета всех подвижных форм соединений Cu и Zn в почве был рассчитан фактор биологической доступности (BF – bioavailability factor), который определяется отношением концентраций подвижных форм к общей концентрации элемента и в целом показывает часть от общей концентрации, которая может быть поглощена растениями (Knox et al., 2000). В качестве подвижности использовали сумму непрочно связанных соединений (Burachevskaya et al., 2021). Фактор биологической доступности рассчитывали по формуле:

$$BF = C_{HC} / C_{вал}, \quad (2)$$

где C_{HC} – группа непрочно связанных соединений металла в почве, мг/кг,
 $C_{вал}$ – валовое содержание данного элемента в почве, мг/кг.

2.3 Методика определения меди и цинка в растениях

Методом кислотной экстракции определяли содержание Cu и Zn в корнях и надземных побегах. Корни предварительно отмывали от почвы, высушивали вместе с надземными побегами при 60°C в сушильном шкафу и далее образцы подвергали минерализации методом сухого озоления по ГОСТ 26929-94. Экстракцию ТМ из золы осуществляли 20%-ным раствором HCl с последующим определением методом ААС (Методические указания, 1992-04-10).

Для оценки поступления и распределения Cu и Zn рассчитывали коэффициент накопления (КН) и акропетальный коэффициент (АК), характеризующие соответственно переход элемента из потенциально

подвижного почвенного пула в корни и его относительную транслокацию из корней в надземную часть.

Величина КН рассчитывается как отношение содержания элемента в корневой части растений к его содержанию в почве (Безель и др., 2006):

$$KH = C_{\text{подземной части}} / C_{\text{почв}} \quad (3)$$

При расчете КН в качестве подвижных использовались непрочно связанные соединения ТМ в почвах.

Величина АК – отношение содержания элемента в надземной части растений к его содержанию в корнях (Авессаломова, 2007; Minkina et al., 2014):

$$AK = C_{\text{надземной части}} / C_{\text{подземной}} \quad (4)$$

Значение $AK > 1$ указывает на активную транслокацию металлов из корней в надземную часть (Serbula et al., 2012), а величина $KH > 1$ – на активное поступление металлов из почвы в корни. В случае активной работы корневого барьера на границе корень/почва $KH < 1$.

2.4 Физиолого-биохимические исследования

По окончании модельного опыта определяли энергию прорастания, всхожесть, длину корней и высоту растений. В качестве биомаркеров окислительного повреждения и адаптационного ответа оценивали содержание малонового диальдегида, активность супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионредуктазы, а также содержание восстановленного глутатиона.

Наночастицы ТМ вызывают широкий спектр физиологических реакций, общим триггером которых является нарушение окислительно-восстановительного гомеостаза в клетках растений (Baskar et al., 2020). В качестве биомаркеров окислительного стресса и адаптационного ответа оценивали содержание малонового диальдегида (МДА), отражающего повреждение мембран, активность супероксиддисмутазы (СОД), катализирующей дисмутацию супероксидного анион-радикала ($O_2^{\bullet-}$) до перекиси водорода (H_2O_2) и молекулярного кислорода (O_2), активность

каталазы (КАТ), которая катализирует разложение H_2O_2 на H_2O и O_2 , а также активность глутатимонредуктазы (ГР), которая обеспечивает восстановление окисленного глутатиона (GSSG) до восстановленного (GSH) за счет НАДФ·Н, тем самым поддерживая внутриклеточный редокс-баланс и функциональную активность глутатионовой антиоксидантной системы.

Для определения активности антиоксидантных ферментов растительный материал гомогенизировали в жидком азоте в 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,5), содержащем 0,5 мМ ЭДТА и 0,5 мМ фенилметилсульфонилфторид, затем центрифугировали при $16\,000 \times g$ и 4 °С. Супернатанты использовали для последующих анализов.

Определение содержания МДА проводили по методу Ходжеса (Hodges et al., 1999) с использованием 2-тиобарбитуровой кислоты. Измерения проводились на спектрофотометре Beckman DU800 (Beckman Coulter, Inc., США) при $\lambda=532$ нм и $\lambda=600$ нм. Для вычисления содержания МДА использован коэффициент молярной экстинкции $\varepsilon=155\text{ мМ}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$.

Общую активность СОД (КФ 1.15.1.1) оценивали по ингибированию фотохимического восстановления нитротетразолия синего (НТС) в реакции аутоокисления адреналина в адренохром в щелочной среде в условиях генерации супероксидного анион-радикала (Flohé and Ötting, 1984). Оптическую плотность регистрировали при $\lambda = 540$ нм на спектрофотометре Beckman DU 800 (Beckman Coulter, Inc., США). За единицу активности фермента принимали такое количество фермента, которое снижало показание поглощения до 50% по сравнению с контрольной реакцией.

Активность КАТ (КФ 1.11.1.6) определяли классическим титриметрическим способом (Бах, Опарин, 1947) по количеству неразложившегося H_2O_2 после инкубации с ферментным экстрактом, остаточную H_2O_2 титровали раствором KMnO_4 в кислой среде при $\lambda = 410$ нм на спектрофотометре Beckman DU 800 (Beckman Coulter, Inc., США).

Активность глутатимонредуктазы определяли по скорости окисления NADPH при 340 нм (Shigeoka et al., 1987), а содержание восстановленного

глутатиона – по образованию окрашенного тионитрофенильного аниона при 412 нм (Ellman, 1959).

2.5 Проведение микроскопических исследований

Для светооптического и электронно-микроскопического исследований растения брали высечки из центральной части второго или третьего листа (2х2мм) и средней части корня (2мм). Образцы корня для микроскопии отбирались из зоны корневых волосков. Все этапы подготовки ткани к морфологическому наблюдению (контрастирование, обезвоживание, заключение в полимеризующую смесь, получение и окрашивание полутонких срезов для светооптического изучения) проводили с использованием общепринятых методических приемов согласно Fedorenko et al. (2018). Образцы фиксировали в 2,5% растворе глutarового альдегида на фосфатном буфере (pH 7,4) в течение 2 часов под вакуумом при комнатной температуре. После двукратной промывки фосфатным буфером с сахарозой, образцы фиксировали 1% раствором OsO₄ в течение 2 часов при комнатной температуре. Затем растительную ткань обезвоживали в серии этиловых спиртов возрастающей концентрации 50%, 70%, 96%, соответственно. Перед помещением в 96% спирт образцы выдерживали в 70% спиртовом растворе уранилацетата в течение 12 часов на холоде (+4°C). Потом отмывали от уранилацетата и продолжали обезвоживание в абсолютном этаноле и ацетоне в три смены по 15 минут каждая. Высечки листьев пропитывали смолой в серии растворов эпона в ацетоне возрастающих концентраций и заливали в эпон. Полимеризацию проводили в термостате при температуре 37°C (1 сутки), 60°C (2 суток).

Полутонкие срезы толщиной 0,5-1 мкм для светооптического наблюдения дополнительно окрашивали метиленовым синим и исследовали в светооптическом микроскопе LOMO (Россия) при увеличении x100 и x400. Ультратонкие срезы получали на приборе EM UC6 (Leica, Germany) и

дополнительно контрастировали цитратом свинца и исследовали на ТЭМ Tecnai G2 (Phillips, Holland) на базе ЦКП «Современная микроскопия» ЮФУ.

Морфометрический анализ светооптических изображений включал подсчет площади и среднее количество клеток на единицу площади листовой ткани, среднюю толщину листовой пластины, площадь среза корня, площадь среза центрального цилиндра и суммарную площадь среза проводящих тканей. Количественный анализ электроннограмм учитывал среднее количество пластид на единицу площади листовой ткани, среднее количество пластид на клетку, а также визуальный анализ электронно-плотного осадка в межклетнике и вакуолях. Для измерения клеточных фрагментов использовалась автоматизированная система анализа микроизображений Olympus Soft Imagin Solution ITEM.

2.6. Статистический анализ

Все модельные опыты и аналитические исследования выполнены в трехкратной повторности. Модельные эксперименты и аналитические определения выполнены в трехкратной повторности. Статистическую обработку проводили в STATISTICA 8 и SigmaPlot 12.5. Различия между отдельными вариантами оценивали критерием Манна–Уитни при $p < 0,05$.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1.1 Фитотоксичность чернозема обыкновенного карбонатного при загрязнении микро- и наночастицами оксидов меди и цинка

Всхожесть и энергия прорастания семян ярового ячменя на вариантах с незагрязненной почвой в среднем составили 99% и 98%. Внесение в почву 150 и 300 мг/кг микро- и наночастиц CuO и ZnO разной дисперсности достоверно не повлияло на измеряемые посевные качества ярового ячменя (Рисунок 6 А, Б). При дозе 1000 мг/кг всхожесть семян снизилась на 14–22 % в вариантах с CuO и на 25–27 % в вариантах с ZnO, а энергия прорастания — на 22–30 и 46–48 % соответственно (Черникова и др., 2021). Достоверных различий между вариантами опыта с различной размерностью частиц ZnO не установлено, тогда как посевные качества ячменя при наночастицах CuO на 8–9% меньше по сравнению с микроформой. При повышении дозы до 2000 и 3000 мг/кг снижение всхожести и энергии прорастания было более выражено в вариантах с наночастицами. При дозе 3000 мг/кг в вариантах с наночастицами CuO всхожесть и энергия прорастания снизились на 74 и 81 %, а с наночастицами ZnO — на 87 и 94 % соответственно. При добавлении микро- и наночастиц CuO и ZnO в дозе 20–80 мг/ в питательные среды, как отмечено в работе (Вардуни, 2020), наблюдался обратный эффект на посевные качества ячменя, что связано с невысокими концентрациями металлов и возможным слипанием в жидких средах и, вследствие, к снижению их растворимости.

Установлено, что средняя длина корня и высота побега ярового ячменя, выращенного на незагрязненной почве (контроль), составили, в среднем, 110 и 106 мм, соответственно. Внесение в почву 150 мг/кг наночастиц CuO и ZnO оказало стимулирующее действие на рост корней и побегов, увеличив среднюю длину корня на 6–7%, а высоту побега – на 5–14%. Микроформы CuO и ZnO в той же дозе достоверно не повлияли на рассматриваемые морфометрические показатели. Использование низких концентраций

наночастиц металлов и незначительное их поглощение семенами может быть одной из причин повышения биомассы произрастающих растений, длины корней и высоты побегов. Стимулирующий эффект низкой дозы наночастиц согласуется с данными литературы. В работе Awasthi et al. (2017) обработка семян пшеницы 50 мг/л^{-1} наночастицами ZnO улучшила всхожесть семян и биомассу растений. В работах Bandyopadhyay et al. (2015), Patra et al. (2013) установлено, что при дозе нано-ZnO 250 и 500 мг/кг энергия прорастания и всхожесть семян люцерны и бобов относительно контроля увеличилась, однако длина корней и высота побегов снизились. В исследованиях Sharma et al., 2018 и Singh et al., 2020 показано, что при внесении в почву наночастиц CuO в дозах 50 и 100 мг/кг энергия прорастания семян сои и гороха на 1–2-е сутки была сопоставима с контрольными значениями, однако к 5-м суткам отмечалось снижение длины корней на 23–37% и высоты побегов на 15–22% относительно контроля. На примере семян кукурузы продемонстрировано, что низкие концентрации наночастиц CuO (10 мг/л) вызывали кратковременную стимуляцию метаболической активности зародыша, тогда как при увеличении концентрации до 100 мг/л уже в первые 48 часов фиксировали снижение митотической активности в меристематической зоне корня и угнетением роста корневой системы (Ghosh et al., 2016). Высокие дозы ТМ способны снижать активность деления клеток и вызывать различные хромосомные aberrации в меристематической зоне корня уже на 1–2 сутки прорастания семян, вызывая торможение роста и нарушение поглощения воды и минеральных веществ (Титов и др., 2011).

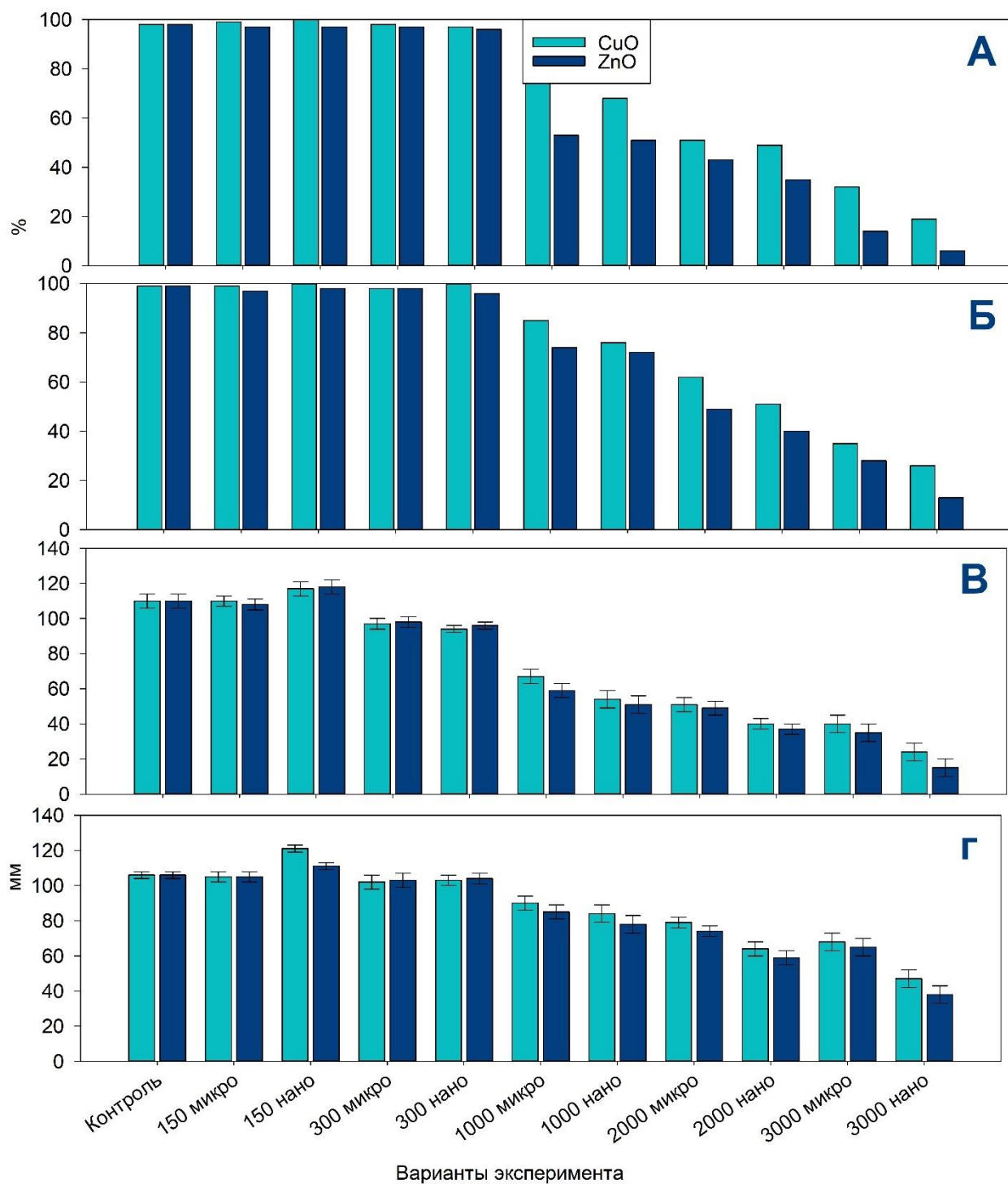


Рисунок 6. Морфометрические параметры *Hordeum vulgare* L. при фитотестировании почвы, загрязненной различными дозами CuO и ZnO в микро- и нанодисперсной формах А – энергия прорастания, Б – всхожесть, В – длина корней, Г – высота побегов

По результату проведенного фитотеста установлено наибольшее ингибирование роста ячменя характерно для корней, особенно на вариантах с наночастицами В диапазоне доз 300–3000 мг/кг длина корней уменьшалась на 11–68 % при внесении микроформы ZnO и на 12–64 % при внесении микроформы CuO; для наночастиц соответствующие диапазоны составляли 13–86 и 15–78 % (Рисунок 6 В,Г). Уменьшение длины корней и высоты побегов растений в концентрациях 300–3000 мг/кг при воздействии CuO и ZnO разной дисперсности согласуется с данными других исследователей (Lin and Xing, 2007; Dimkpa et al., 2012; Priester et al., 2012). При дозах 1000–3000 мг/кг наночастицы оксидов металлов проявляли более выраженный токсический эффект, чем микроформы. Это может быть связано с более высокой скоростью растворения наночастиц вследствие их меньшего размера (Born et al., 2006; Young and Xie, 2006).

Определено (Рисунок 7), что внесение в чернозем обыкновенный 150–300 мг/кг CuO и ZnO в микродисперсной форме не привело к изменению класса токсичности почвы для ярового ячменя и соответствовало V классу (норме). При внесении 150 мг/кг наночастиц оксидов металлов наблюдается стимулирующий эффект на рост растений, что соответствует VI классу токсичности (стимуляции), тогда как при концентрации 300 мг/кг CuO и ZnO чернозем обыкновенный проявляет низкую токсичность (IV класс). Внесение в почву 1000 – 2000 мг/кг ТМ оказало ингибирующий эффект на рост ячменя, тем самым повысив класс токсичности почвы до среднего и высокого, а большие различия между микро- и наночастицами выражена на концентрации 2000 мг/кг. Чернозем обыкновенный при внесении 3000 мг/кг ZnO вне зависимости от размера частиц обладал более высоким классом токсичности по сравнению с CuO.

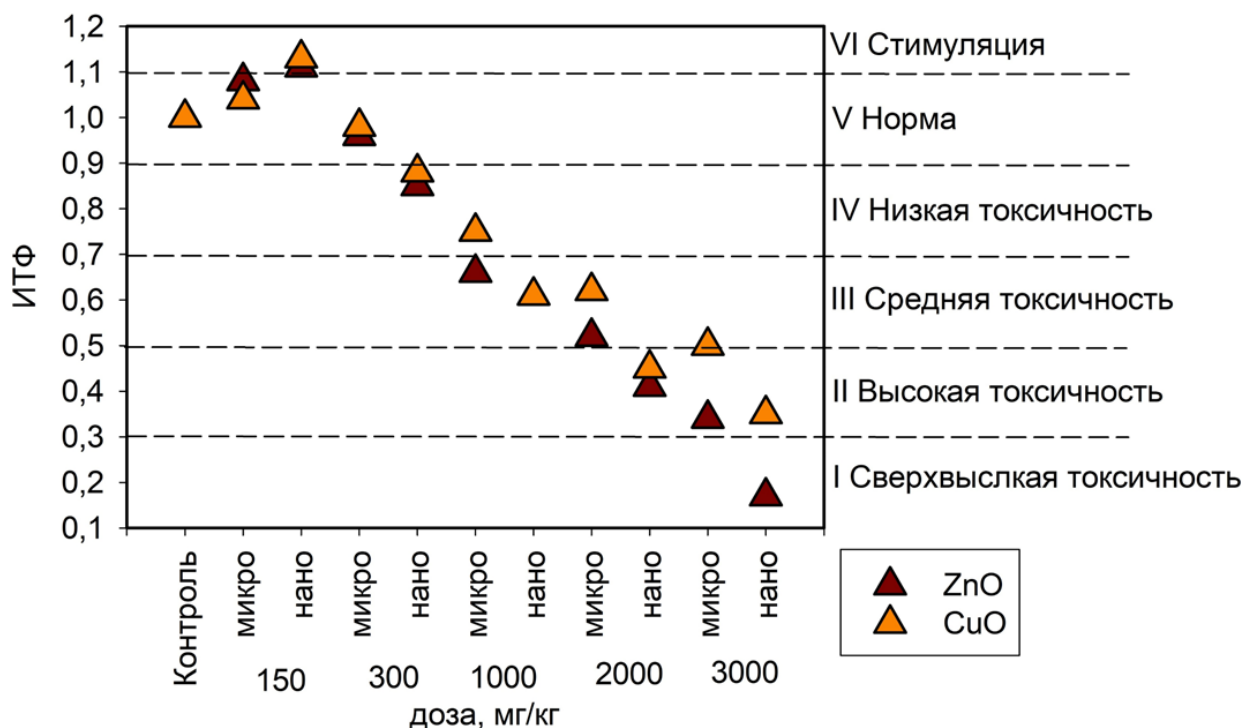


Рисунок 7. Класс токсичности чернозема обыкновенного по результатам расчета индекса токсичности фактора (ИТФ) при разном уровне внесения в нее микро-/нано- формы CuO и ZnO

Таким образом, фитотоксичность чернозема обыкновенного определялась прежде всего дозой внесения и дисперсностью частиц; при 3000 мг/кг ZnO проявлял более выраженный токсический эффект, чем CuO. Для проведения вегетационного опыта по изучению трансформации микро- и наночастиц CuO и ZnO в почве были выбраны два уровня (300 мг/кг и 2000 мг/кг) загрязнения чернозема обыкновенного, проявляющего в зависимости от дисперсности частиц низкую, среднюю и высокую фитотоксичность.

3.2 Трансформация микро- и наночастиц оксидов меди и цинка в почве

Валовое содержание Cu и Zn в контрольном черноземе составило соответственно 39 и 60 мг/кг, что соответствовало фоновому уровню и не превышало ориентировочно допустимые концентрации для близких к

нейтральным суглинистых и глинистых почв – 132 и 220 мг/кг (СанПиН 1.2.3685-21). В загрязненных вариантах при дозах 300 и 2000 мг элемента на кг почвы валовое содержание Cu составляло соответственно 2,3 и 15,1 ОДК, а Zn – 1,4 и 9,1 ОДК.

Распределение ТМ в почвах обусловлено сорбционными процессами в системе «раствор-твёрдая фаза», где последняя включает органические и минеральные компоненты (Sparks, 2003). Во фракционном составе Cu и Zn в черноземе обыкновенном контрольного варианта доминируют прочно связанные соединения металлов в структуре первичных и вторичных минералов (87% и 80% от суммы фракций, соответственно) (Таблица 4, 5). Высокое содержание металлов в остаточной фракции обусловлено региональными особенностями минералогического состава черноземов Предкавказья, заимствованным от их материнских пород (Акимцев и др., 1962). В минералогическом составе чернозема обыкновенного на лессовидном суглинке преобладают монтмориллонит (27,6%), иллит (53,0%) и каолинит (11,2%) (Пинский и др., 2018).

Таблица 4. Валовое содержание и фракционный состав соединений Cu в черноземе обыкновенном при внесении микро- и наночастичек оксида металла, мг/кг (n=3)

Варианты опыта	Валовое содержание	I Фракция	II Фракция	III Фракция	IV Фракция
Контроль	41±2	0,41±0,02	2,05±0,11	2,82±0,15	35,31±2,01
300 микро	340±21	6,8±0,36	23,8±1,33	38,33±1,99	267,66±15,25
300 нано	353±23	24,71±1,31	31,77±1,78	61,71±3,21	234,80±13,38
2000 микро	2031±110	121,86±6,46	182,79±10,24	385,89±20,06	1299,84±74,09
2000 нано	1957±125	313,12±16,60	234,84±13,15	450,11±23,41	958,93±54,66

При повышении концентрации металлов в почве, особенно при внесении наночастичек оксидов, происходит перераспределение во фракционном составе

металлов (Рисунок 8; Таблица 4, 5). Так, при концентрации металлов 2000 мг/кг относительное содержание Cu в остаточной фракции снижается до 66% (микро-CuO) и 49% (нано-CuO), Zn – до 56% (микро-ZnO) и 46% (нано- ZnO), соответственно. При этом данная фракция остается доминирующей, как и в контрольном варианте, что обусловлено преимущественным содержанием металлов в составе первичных и вторичных минералов исследуемой почвы. Преобладание остаточной фракции также может быть связано с неполным растворением оксидов металлов в жидкой фазе почвы (Ладонин, 2016).

Таблица 5. Валовое содержание и фракционный состав соединений Zn в черноземе обыкновенном при внесении микро- и наночастичек оксида металла, мг/кг (n=3)

Варианты опыта	Валовое содержание	I Фракция	II Фракция	III Фракция	IV Фракция
Контроль	68±4	2,04±0,11	6,45±0,36	5,40±0,28	54,11±3,08
300 микро	371±24	18,55±0,98	48,23±2,70	37,10±1,93	267,12±15,23
300 нано	365±23	32,85±1,74	62,04±3,47	40,15±2,09	229,95±13,11
2000 микро	2074±117	248,88±13,19	414,8±23,20	248,84±12,94	1161,47±66,20
2000 нано	2110±109	400,91±21,25	464,20±26,03	274,33±14,26	970,60±55,32

По данным Joško (2019), длительность инкубации существенно влияет на перераспределение наночастиц Cu и Zn между фракциями: в разных почвах за 24 месяца увеличивалась доля более устойчивых соединений. Ионы Cu^{2+} и Zn^{2+} преимущественно закрепляются в виде поверхностных комплексов на $\equiv\text{Si}-\text{OH}$, $\equiv\text{Al}-\text{OH}$ и $\equiv\text{Fe}-\text{OH}$ -группах и участвуют в ионном обмене на слоистых силикатах (Ладонин, Карпухин, 2011; Pinskii et al., 2022). В настоящем исследовании после трехмесячной инкубации нанодисперсные формы, напротив, формировали больший кислоторастворимый и непрочно связанный пул, чем крупнодисперсные аналоги. Это различие может отражать

более раннюю стадию старения и более высокую скорость растворения наноформ.

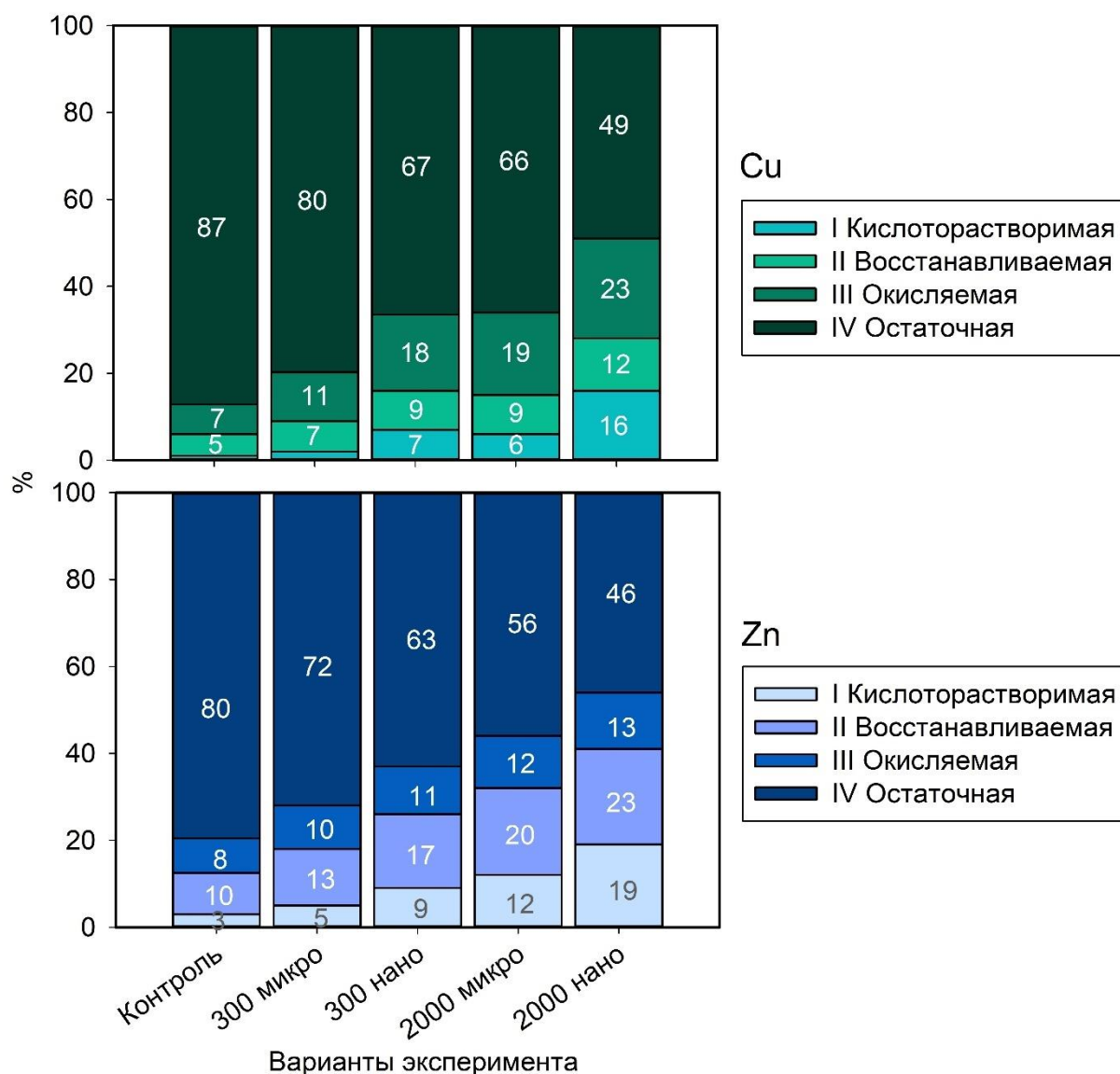


Рисунок 8. Фракционный состав соединений Cu и Zn в черноземе обыкновенном при внесении микро- и наноформ оксидов металлов

Содержание Cu, связанной с органическим веществом, занимала второе место после остаточной фракции со слоистыми алюмосиликатами, что обусловлено высокими значениями констант устойчивости этого металла в соединениях с органическими лигандами (Nielsen et al., 2015). Физическими методами XANES и EXAFS на молекулярном уровне показана доминирующая

роль гуминовых кислот в адсорбции Cu^{2+} , которая в их составе представлена атомами, связанными в бидентантные комплексы с кислородом и (или) азотом функциональных групп (Strawn, Baker, 2009). При внесении оксида металла в дозе 300 мг/кг в чернозем обыкновенный относительное содержание Cu в данной фракции увеличивается с 7% до 11% (микро-CuO) и 18% (нано-CuO), при 2000 мг/кг – до 19% (микро-CuO) и 23% (нано-CuO) (Рисунок 8). В исследованиях (Joško, 2019; Grillo et al., 2015) также отмечалась более высокая концентрация металла, связанная с органическим веществом, на вариантах наночастиц CuO и Cu по сравнению с микроформой CuO и легкорастворимым CuCl_2 . Показано, что наночастицы CuO в концентрации 1000 мг/кг могут ускорять разложение и (или) минерализацию органического вещества (Shi et al., 2018).

Относительное содержание Zn в окисляемой фракции контрольного варианта идентично содержанию Cu, тогда как в условиях загрязнения органическое вещество играет меньшую роль в поглощении Zn, чем Cu (Рисунок 8). При внесении оксида металла в концентрации 300 мг/кг в чернозем обыкновенный содержание Zn в данной фракции увеличивается с 8% до 10% (микро- ZnO) и 11% (нано- ZnO), при 2000 мг/кг – до 12% (микро- ZnO) и 13% (нано- ZnO). В работе (Zhang et al., 2020) в окисляемой фракции отмечалось 14–21% Zn и 20–29% Cu при внесении 50, 100 и 500 мг/кг наночастиц CuO и ZnO в почву рисовых чеков. Спустя 2 года инкубации наночастиц CuO и ZnO в разных типах почв (Joško, 2019) доля окисляемой фракции снизилась на 12–17% по Cu и на 4–7% по Zn, а доля восстанавливаемой фракции, связанной с гидроксидами и оксидами Fe и Mn, увеличилась.

Оксиды и гидроксиды Fe и Mn обладают более высокой удельной сорбционной емкостью по сравнению с органической частью твердой фазы почвы для некоторых ТМ (Tessier, 1989). Во фракционном составе соединений Zn в черноземе обыкновенном восстанавливаемая фракция превалирует над окисляемой, тогда как для Cu наблюдается обратная закономерность (Рисунок

8). Иммобилизация ионов ТМ в оксидах и гидроксидах Fe и Mn преимущественно обусловлена специфической адсорбцией на поверхности твердых фаз почвы при взаимодействии с активными центрами $\equiv\text{Fe}-\text{OH}$ и $\equiv\text{Mn}-\text{OH}$ (Пятова и др., 2023; Переломов, Пинский, 2003). В черноземе обыкновенном карбонатном роль оксидов Mn в закреплении металлов незначительна в связи с низким содержанием, несмотря на их высокую активность в поглощении ТМ (Водяницкий, 2005).

С увеличением концентрации ТМ в почве возрастает содержание фракции, связанной с гидроксидами и оксидами Fe и Mn, более выраженное для Zn (Таблица 4–5). Доля восстанавливаемой фракции соединений Cu и Zn при концентрации 300 мг/кг увеличивается на 2–4% и 4–8%, а при 2000 мг/кг – на 4–7% и 11–13%, соответственно. Содержание данной фракции в 1,1–1,3 раза на вариантах с внесением наноформы оксидов металлов по сравнению с микроформами.

Суммарное содержание обменной и связанной с карбонатами фракций, характеризующих подвижность металлов в почве, низкое и составляет 1% и 3% от суммы всех фракций Cu и Zn (Таблица 4, 5). В черноземах отмечается (Минкина и др., 2016; Самохин и др., 2002) значимый вклад карбонатов во фракционном составе ТМ за счет механизмов поверхностной сорбции, соосаждения и изоморфного вхождения в кальцит. С увеличением концентрации Cu и Zn содержание подвижной (обменной и связанной с карбонатами) фракций увеличивается до 7–9% при 300 мг/кг и до 16–19% при 2000 мг/кг, как и содержание потенциально подвижных соединений, связанных с органическим веществом и Fe–Mn-(гидр)оксидами. Наиболее заметные различия между микро- и наноформами оксидов металлов, особенно для Cu, проявляются в доли кислоторастворимой фракции (Рисунок 8), что указывает на большую растворимость наночастиц. Так, содержание подвижной фракции Cu и Zn при внесении наноформ оксидов металлов в концентрации 2000 мг/кг в 2,6 и 1,6 раза выше, чем при внесении микроформ. В работах (Rajput et al. 2017; Zhang et al. 2011; Deng et al., 2013) показано частичное окисление и

растворение наночастиц CuO до свободных ионов Cu²⁺ до 22% в течение 7-14 дней. При концентрации 1000 мг/кг CuO в затопляемых почвах под рисом содержание металла, экстрагированного CaCl₂, со временем снижалось, тогда как количество металла, экстрагированного ЭДТА, наоборот, увеличивалось, при этом микроформа CuO характеризовалась значительно более низкой биодоступностью (Shi et al. 2018).

Химические превращения НЧ включают растворение, комплексообразование, окисление, восстановление и сульфидирование. Для оксидов CuO и ZnO ключевым процессом является высвобождение ионов, скорость которого определяется размером и удельной поверхностью частиц, pH, составом почвенного раствора, растворенным органическим веществом и корневыми экссудатами (Mudunkotuwa et al., 2012; Hortin et al., 2020). Образующиеся ионы и комплексы далее сорбируются почвенными компонентами или включаются во вторичные фазы, поэтому химическая судьба металла не тождественна сохранению исходных наночастиц.

Результаты анализа группового состава непрочно связанных соединений (Таблица 6,7) свидетельствуют об ослаблении прочности закрепления Cu и Zn почвенными компонентами вследствие перераспределения металлов между фракциями различной подвижности. Отмечается очень низкое содержание подвижных форм Cu (8,3 мг/кг) в контроле, что является региональной особенностью чернозема обыкновенного (Минкина и др., 2016), характеризующегося высоким содержанием органического вещества, физической глины и ила и характеризующегося наличием высокодисперсных форм карбонатов (Таблица 6). Содержание непрочно связанных соединений не превышает 6% от валового содержания металла и представлено в основном специфически сорбированными формами.

Полученные значения ВФ подтверждают увеличение потенциальной биологической доступности Cu при возрастании уровня загрязнения и уменьшении размера частиц оксида. Внесение Cu в микро- и наноформах приводит к увеличению НС соединений металла в почве. Чем выше доза

внесения, тем сильнее увеличивается подвижность металла в почве, обусловленная возрастанием обменных, комплексных и специфически сорбированных форм. С возрастанием дозы внесения металла наибольшее увеличение характерно для самых подвижных форм Cu – обменных и комплексных. При этом установлены особенности трансформации Cu в почве, внесенной в нанодисперсной форме, связанные с большим увеличением непрочно связанных соединений металла (на 10-24%) по сравнению с микродисперсной формой CuO (на 5-12%). Основную роль в увеличении непрочно связанных соединений Cu сыграли комплексные соединения металла, особенно в наноформе (Рисунок 9). В группе непрочно связанных соединений Cu изменилось соотношение слагающих ее форм: увеличилась доля комплексных форм на 30-33% и обменных на 4-12% при одновременном уменьшении доли специфически сорбированных соединений металла на 37-42%. При внесении Cu в нанодисперсной форме доля комплексных форм металла в группе непрочно связанных соединений становится доминирующей.

Таблица 6. Состав и относительное содержание группы непрочно связанных соединений (НС) Cu в почве при внесении металла в микро- и наноформе, мг/кг

Варианты внесения CuO	Обменные	Комплексные	Специфически сорбированные	BF*
Контроль	0,40±0,02	0,32±0,02	1,85±0,08	0,06
300 микро	5,3±0,3	8,7±0,4	21,3±1,0	0,11
2000 микро	90,6±4,4	121,6±5,7	160,7±7,5	0,16
300 нано	11,4±0,6	25,8±1,3	20,1±0,9	0,18
2000 нано	166,4±8,0	246,6±11,6	180,7±8,5	0,30

BF – фактор биологической доступности

Внесение Zn в микро- и наноформах сопровождается увеличением содержания непрочно связанных соединений металла преимущественно за счет обменных (на 9-19%) и комплексных соединений (на 18-26%), однако

преобладает доля специфически сорбированных форм, которая составляет 38–51%. Как и в случае с Cu, трансформация Zn в загрязненной почве зависит от уровня загрязнения и дисперсности частиц ZnO (Таблица 7). Доля непрочно связанных соединений Zn от общего содержания металла в почве при внесении микродисперсной формы ZnO увеличивается на 11–20%, а нанодисперсной – на 18–33% (Рисунок 9).

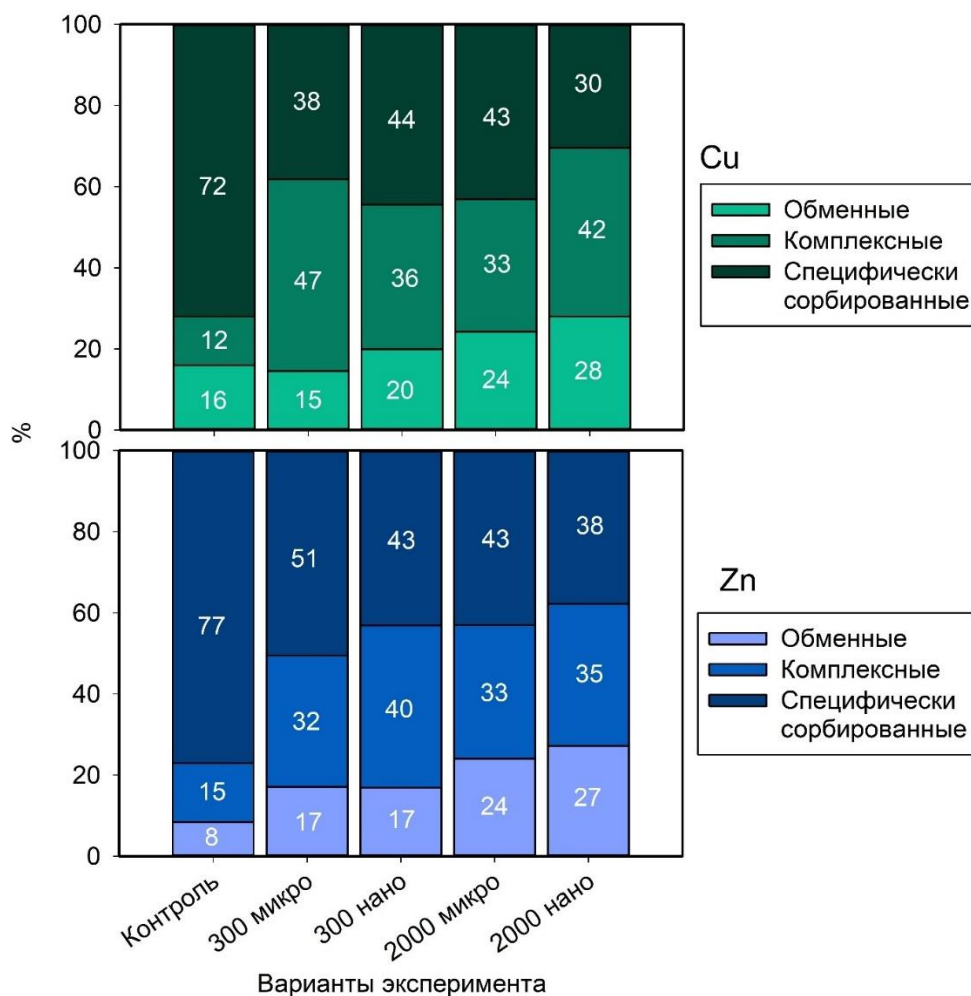


Рисунок 9. Состав и относительное содержание группы непрочно связанных соединений Cu и Zn в черноземе обыкновенном при внесении металла в микро- и наноформе, %

Установлено, что чем выше уровень техногенной нагрузки на почву, тем выше показатель BF (Таблица 6,7). Значения BF для Zn во всех вариантах превышают аналогичные показатели для Cu, особенно при внесении

наночаорм оксидов, что свидетельствует о более высокой потенциальной биологической доступности и подвижности Zn.

Таблица 7. Состав и относительное содержание группы НС Zn в почве при внесении металла в микро- и наночаорме, мг/кг

Варианты внесения ZnO	Обменные	Комплексные	Специфически сорбированные	BF
Контроль	0,76±0,04	1,22 ±0,07	6,4 ±0,4	0,12
300 микро	14,7±1,6	27,8 ±1,6	43,4 ±2,4	0,23
2000 микро	161,8±9,1	222,0±12,9	289,8±15,6	0,32
300 нано	18,3±1,0	43,5±2,5	46,7±2,3	0,30
2000 нано	260,5±14,6	335,7±19,5	362,1±19,9	0,45

BF – фактор биологической доступности

Таким образом, анализ фракционного состава соединений Cu и Zn, а также непрочно связанных форм металлов показал, что внесение микро- и наночаорм оксидов сопровождается изменением механизмов взаимодействия металлов с почвенными компонентами. Повышение уровня загрязнения приводит к перераспределению Cu и Zn между фракциями различной подвижности, снижению доли остаточной фракции и увеличению содержания подвижных и потенциально подвижных соединений, что свидетельствует об ослаблении прочности закрепления металлов органическим веществом, карбонатами, алюмосиликатами и оксидами Fe и Mn. Наиболее выраженные изменения характерны для наночаорм оксидов, способствующих накоплению обменных, комплексных и специфически сорбированных соединений, увеличению потенциальной биологической доступности металлов и изменению характера их взаимодействия с твердой фазой почвы. При этом Zn характеризуется более высокой подвижностью по сравнению с Cu, особенно при внесении наночаорм оксидов металлов.

3.3 Миграция меди и цинка в системе почва-растения

Почва является основным депонирующим компонентом для инженерных наночастиц, поступающих в окружающую среду в результате производственной деятельности (Shah and Belozeroва, 2009; Dinesh et al., 2012). После попадания в почву наночастицы подвергаются растворению, агрегации, сорбции и другим трансформационным процессам, определяющим их подвижность, биодоступность и последующее поступление в растения. Поэтому изучение миграции микро- и наночастиц CuO и ZnO в системе «почва – растение» имеет принципиальное значение для оценки экологического риска их применения. Полученные результаты показали, что независимо от дисперсности оксидов меди и цинка основная часть поступивших металлов аккумулировалась в корневой системе *H. vulgare*, что характерно для всех растений семейства Мятликовые (Chaplygin et al., 2020). Подобный характер распределения характерен как для Cu, так и для Zn и свидетельствует о формировании эффективного физиологического барьера, ограничивающего транслокацию металлов в надземные органы растений. Следовательно, яровой ячмень можно отнести к растениям, обладающим выраженной способностью ограничивать перенос тяжелых металлов в надземную биомассу. Более интенсивное накопление Cu при внесении наночастиц, вероятно, обусловлено совокупностью нескольких факторов. Во-первых, наночастицы обладают значительно большей удельной поверхностью, вследствие чего скорость их растворения и образование ионов Cu^{2+} выше по сравнению с микродисперсными аналогами. Отмечается, что за счет меньшего размера частиц растворение нанодисперсной формы CuO происходит быстрее, чем в микродисперсной форме (Богословская и др., 2007). Во-вторых, результаты предыдущего раздела показали, что внесение наночастиц сопровождается увеличением содержания непрочных соединений Cu и, соответственно, повышением биологической доступности металла для растений.

Относительно контроля при 300 мг/кг содержание Cu увеличилось в корнях и побегах в 2,4 и 2,2 раза для микро-CuO и в 10,5 и 6,2 раза для нано-CuO; при 2000 мг/кг - соответственно в 16,9 и 4,5 раза и в 36,0 и 10,2 раза. При одинаковой дозе содержание Cu в корнях после внесения нано-CuO превышало соответствующее значение после внесения микро-CuO в 4,4 раза при 300 мг/кг и в 2,1 раза при 2000 мг/кг, а в надземной части - в 2,8 и 2,3 раза (Таблица 8). Следовательно, различия между формами наиболее выражены на границе почва-корень.

Таблица 8. Содержание Cu в *Hordeum vulgare* L., коэффициент накопления (КН) и акропетальный коэффициент (АК) при внесении CuO в почву в крупнодисперсной и нанодисперсной формах

Варианты внесения CuO, мг/кг	Содержание Cu (мг/кг) в		КН	АК
	подземной части	надземной части		
Контроль	11,8±0,6 ^а	10,1±0,6 ^а	4,72	0,86
300 микро	28,4±1,5 ^б	22,3±1,6 ^б	0,79	0,79
2000 микро	199,5±11,0 ^в	45,2±2,8 ^в	0,54	0,23
300 нано	124,0±16,1 ^г	62,7±2,5 ^г	2,16	0,51
2000 нано	425,2±44,0 ^д	102,9±8,4 ^д	0,72	0,16

Примечание: буквы указывают на значительные различия в накоплении Cu подземной и надземной частей растений, произрастающих при разном уровне и типе загрязнения почвы по результатам критерия Краскела-Уолиса при n=3 и p<0.05

Следует отметить, что большие различия в накоплении металла в зависимости от формы внесения наблюдались в корнях, а меньшие различия надземных частях ячменя. Это свидетельствует о том, что именно корень является первым физиологическим барьером на пути поступления наночастиц и продуктов их растворения.

В отсутствии техногенной нагрузки интенсивность накопления Cu ячменем из незагрязненной почвы (контроль) очень высокая, что связано с его важной ролью как микроэлемента в развитии растений. При внесении в почву 300 мг/кг CuO в микро- и наноформе интенсивность поглощения металла оставалась высокой ($KH = 1,5; 2,3$), что свидетельствует о беспрепятственном поступлении металла из почвы в растения. Только при высокой дозе загрязнения (2000 мг/кг) почвы Cu значение KH меньше единицы, что отражает проявление барьерных функций корневой частью ярового ячменя в условиях загрязнения. О существовании защитных механизмов растений, свидетельствует величина АК, которая на всех вариантах опыта составляла менее единицы и имела закономерность к снижению данного показателя с ростом уровня загрязнения. Так величина АК уменьшается от 0,8 и 0,5 при 300 мг/кг микро- и нано-CuO до 0,2 при 2000 мг/кг для обеих форм. Таким образом, с ростом нагрузки усиливается относительное удерживание Cu в корнях и ограничение его транслокации в надземную часть. При внесении различных доз Cu в микродисперсной форме накопление металла ниже по сравнению с его наноформой. Несмотря на более интенсивное накопление металлов в корнях при внесении наноформ, увеличение содержания Cu в надземной части было существенно менее выраженным, что подтверждает высокую эффективность барьерной функции корневой системы ярового ячменя.

Распределение Zn в вегетативных частях ячменя по сравнению с Cu в контрольном варианте одинаково, что связано с физиологической ролью данного металла как микроэлемента (Таблица 9). Однако в случае загрязнения почвы происходит увеличение аккумуляции Zn в растения и преимущественное накопление в подземной части ячменя. При внесении различных доз Zn в нанодисперсной форме накопление металла выше по сравнению с его микроформой. Так, относительно контроля при 300 мг/кг содержание Zn в корнях и побегах увеличилось в 5,3 и 5,1 раза для микро-ZnO и в 14,5 и 6,0 раза для нано-ZnO; при 2000 мг/кг - в 27,7 и 10,7 раза и в 46,9 и 9,2 раза соответственно. При одинаковой дозе содержание Zn в корнях после

внесения нано-ZnO превышало соответствующее значение после внесения микро-ZnO в 2,8 раза при 300 мг/кг и в 1,7 раза при 2000 мг/кг. В побегах различие составляло 1,18 раза при 300 мг/кг, а при 2000 мг/кг содержание Zn после микро-ZnO, напротив, было примерно на 16% выше, чем после нано-ZnO. Поэтому вывод о большей миграции наноформы подтверждается прежде всего для корневой части, но не для всех органов (Таблица 9).

Таблица 9. Содержание Zn в *Hordeum vulgare* L., коэффициент накопления (КН) и акропетальный коэффициент (АК) при внесении ZnO в почву в микро- и наноформе

Варианты внесения ZnO, мг/кг	Содержание Zn (мг/кг) в		КН	АК
	подземной части	надземной части		
Контроль	19,9±2,3 ^а	17,5±1,6 ^а	2,40	0,88
300 микро	104,5±18,5 ^б	89,4±8,0 ^б	1,22	0,86
2000 микро	550,7±37,6 ^в	186,9±7,9 ^в	0,82	0,34
300 нано	289,2±23,4 ^г	105,8±6,5 ^г	2,67	0,37
2000 нано	934,0±54 ^д	261,3±24,7 ^д	0,97	0,28

Примечание: буквы указывают на значительные различия в накоплении Zn подземной и надземной частей растений, произрастающих при разном уровне и типе загрязнения почвы по результатам критерия Краскела-Уолиса при $n=3$ и $p<0.05$

Проведенный расчет показателя КН выявил наибольшее поступление Zn в корневую систему ячменя на контрольном варианте и варианте внесения наноформы оксида металла в дозе 300 мг/кг, в то время как наименьшим поступлением характеризуется вариант с загрязнением 2000 мг/кг микро-ZnO. Такое поведение элемента вызвано проявлением барьерных функций корня, проявляющихся только в условиях опасного для растения уровня загрязнения почвы и снижающих аккумуляцию ТМ. С использованием сканирующего

микроскопа, ранее была показана высокая способность наночастиц ZnO к адгезии на поверхности корней райграса (*Lolium perenne*), при этом покрытие НЧ поверхности корня увеличивалась с повышением концентрации наночастиц ZnO (Lin and Xing, 2008). Полученные результаты расчетов показателя АК меньше единицы на всех рассматриваемых вариантах опыта. АК снижался от 0,9 и 0,4 при 300 мг/кг микро- и нано-ZnO до 0,3 и 0,2 при 2000 мг/кг, что подтверждает усиление барьера на границе корень-побег. Как и в случае с КН, самые низкие величины наблюдаются в вариантах с максимальным загрязнением (2000 мг/кг) и связаны с наличием у растения барьера на границе корень-стебель, препятствующего избыточному накоплению поллютантов в надземной части.

В совокупности результаты показывают, что нанодисперсные CuO и ZnO повышали абсолютное накопление металлов прежде всего в корнях, тогда как относительная транслокация в побеги с ростом дозы уменьшалась. Более высокая подвижность Zn в почве, установленная по ВФнс, согласуется с его высоким содержанием в растениях, но связь между почвенной фракцией и накоплением не является линейной из-за корневого барьера и барьера на границе-корни-стебли.

3.4 Рост и развитие ярового ячменя при загрязнении почвы микро- и наночастицами оксидов меди и цинка

3.4.1 Морфометрические параметры ярового ячменя

Одним из критериев оценки уровня загрязнения почв ТМ является определение их влияния на рост и развитие растений. Внесение CuO в микро- и нанодисперсных формах повлияло на рост и развитие ярового ячменя. Большие изменения отмечались при внесении Cu в форме наночастиц, однако, на ранней стадии развития ячменя существенные изменения наблюдались только при внесении высокой дозы (2000 мг/кг) Cu. Высота растений

варьировала несущественно относительно контроля на вариантах с загрязнением почвы 300 мг/кг CuO, однако, отмечалось существенное снижение (на 13%) длины корней при внесении наночастиц CuO (Таблица 10).

С увеличением дозы внесения металла изменяются все рассматриваемые показатели. Внесение высоких доз Cu обусловило снижение посевных качеств, длины корней и высоты растений по всем исследуемым формам внесения (Таблица 10). Например, при внесении в почву 2000 мг/кг CuO в микродисперсной форме по сравнению с контролем происходит уменьшение: энергии прорастания и всхожести на 22 и 16%, длины корней – на 26%, высоты растений – на 12%, а при поступлении в почву наноксида Cu данные изменения составили 34%, 28%, 43%, 31%.

Таблица 10. Посевные качества и морфометрические параметры *Hordeum vulgare* L. при внесении в почву CuO в микро- и наноформе

Варианты внесения CuO, мг/кг	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %	Длина корня, см	Высота побега, см
Контроль (без внесения)	98	99	19,7±2,6	37,2±3,0
300 микро	98	98	19,9±3,2	36,4±3,1
300 нано	95	97	17,1±2,0	35,5±3,6
2000 микро	76	83	14,5±2,7	32,7±3,2
2000 нано	64	71	11,2±3,1	25,6±3,5

Наибольшее воздействие при загрязнении CuO как в микро-, так и в наноформе, установлено для корневой части растений ячменя (Рисунок 10). Снижение роста корней, количества корневых волосков приводит к уменьшению площади поверхности для поглощения воды и, следовательно, влияет на рост растений. Наиболее выраженная реакция отмечена для корней, а при одинаковой дозе средние значения всех показателей на варианте нано-

CuO были ниже, чем при микро-CuO. Эта закономерность согласуется с более высоким содержанием непрочно связанных соединений Cu в почве и более высоким накоплением Cu корнями на вариантах наноформы.

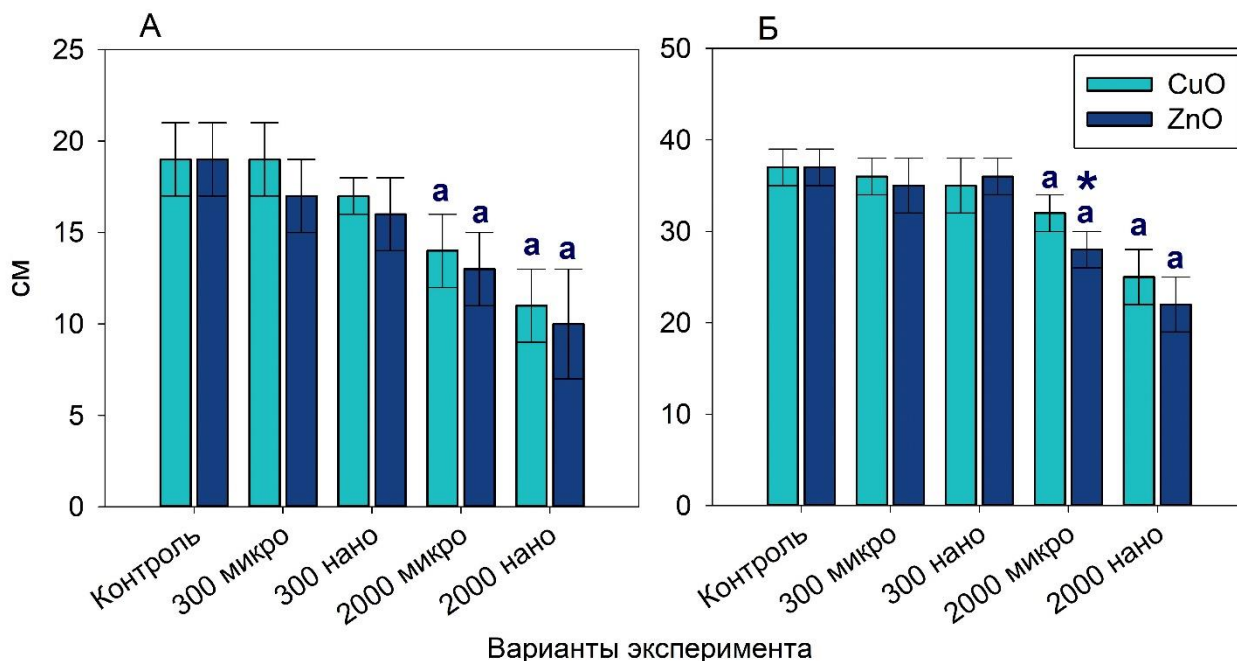


Рисунок 10. Длина корней и высота побегов *Hordeum vulgare* L. при внесении в почву микро- и наноформ CuO и ZnO

В более ранних исследованиях отмечено, что наноформы CuO снижали прорастание семян *Raphanus sativus* (70%) в концентрации наночастиц 100 мг/кг, а малые дозы по отношению к ростовым процессам растений оказывали ингибирующий эффект, а большие – стимулирующий. Максимальная стимуляция роста корневой системы растений для *Raphanus sativus* наблюдалась в дозе 400 мг/кг. Наночастицы CuO снижали на 90% биомассу тыквы (*Cucur bitapepo*) (Stampoulis et al., 2009) уменьшали рост проростков фасоли (*Phaseolu sradiaatus*) и пшеницы (*Triticum aestivum*) (Lee et al., 2008). В контролируемых условиях сильное ингибирование роста растений наноформой CuO также наблюдалось у редьки (*Raphanus sativus*), многолетнего райграса (*Lolium perenne*) и однолетнего райграса (*Lolium Hardum*) (Atha et al., 2012). У лука (*Allium cepa*) наночастицы CuO повреждали

корневой чехлик и меристематическую зону, что также приводило к снижению роста корней (Deng et al., 2016).

Всхожесть и энергия прорастания семян на вариантах с незагрязненной почвой в среднем составили 99% и 98% (Таблица 11). Внесение в почву 300 мг/кг ZnO разной дисперсности достоверно не повлияла на измеряемые посевные качества ярового ячменя. Так, при 300 мг/кг ZnO энергия прорастания и всхожесть отличались от контроля на 1–3 процентных пункта. Средняя длина корней была ниже контроля на 9 % при микро ZnO и на 17 % при нано-ZnO; высота побегов отличалась не более чем на 4 %. С увеличением содержания поллютанта в почве (2000 мг/кг) наибольшая токсичность на посевные качества характерна для вариантов с использованием нано ZnO. Так, на варианте опыта с внесением 2000 мг/кг Zn в почву, при нанодисперсной форме металла всхожесть и энергия прорастания снизились на 39 и 43%, а при микродисперсной – на 30 и 35%, соответственно.

Таблица 11. Посевные качества и морфометрические параметры я *Hordeum vulgare* L. при внесении в почву ZnO в микро- и наноформе

Варианты внесения ZnO, мг/кг	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %	Длина корня, см	Высота побега, см
Контроль (без внесения)	98	99	19,7±2,6	37,2±3,0
300 микро	97	98	17,9±3,0	35,6±3,9
300 нано	96	96	16,3±2,8	36,7±3,4
2000 микро	63	69	13,5±3,2	28,0±3,2
2000 нано	55	60	10,6±3,5	19,8±3,7

Установлено, что средняя длина корня и высота побега ярового ячменя, выращенного на незагрязненной контрольной почве, составили, в среднем, 19,7 и 37,2 см (Рисунок 10). Использование низких концентраций наночастиц

Zn и минимальное их поглощение семенами может быть одной из причин повышения их всхожести, биомассы растений, длины корней и высоты побегов. Предполагается, что при оптимальной концентрации наночастиц ZnO можно использовать в качестве стимулятора роста растений или удобрения. В работе Awasthi et al. (2017) обработка семян пшеницы (*Triticum aestivum*) 50 мг/л-1 НЧ ZnO улучшила всхожесть семян и биомассу растений. В работах Bandyopadhyay et al. (2015), Patra et al. (2013) было установлено, что при концентрации наночастиц ZnO 250 и 500 мг/кг энергия прорастания и всхожесть семян люцерны и бобов относительно контроля увеличилась, однако длина корней и высота побегов снизились. Фитотоксичность Zn заключается прежде всего в окислительном стрессе, сопровождающимся перекисным окислением липидов, что в итоге приводит к повреждению мембран на клеточном уровне (Singh and Singh, 2016).

По результату проведенного исследования, наибольшее ингибирование роста ячменя характерно для корней. Так, длина корней уменьшается на 38% при внесении 2000 мг/кг ZnO в микродисперсной форме, а при нанодисперсной форме на 46% (Рисунок 10). Уменьшение длины корней и высоты побегов растений при воздействии ZnO разной дисперсности хорошо согласуется с данными других исследователей (Lin and Xing, 2007; Dimkra et al., 2012; Priester et al., 2012). Очевидно, что нано ZnO при высоких дозах загрязнения (2000 мг/кг) в большей степени проявляет токсический эффект на ячмень, чем ZnO в микродисперсной форме. Этот факт объясняется большей скоростью растворения наночастиц ZnO, обусловленной их меньшими размерами частиц.

3.4.2 Физиолого-биохимические показатели стресса ярового ячменя

Устойчивость растений к действию повреждающих факторов среды обитания, наряду с наличием специфических генетически детерминированных механизмов, во многом определяется уровнем функционирования

антирадикальной защиты организма. Снижение резервов антирадикальной защиты организма непосредственно отражается на состоянии антиокислительного статуса – одного из центральных звеньев в молекулярных механизмах формирования неспецифической резистентности к воздействию стресс-индуцирующих факторов. Подобные факты указывают на то, что устойчивость к стрессовым воздействиям может зависеть от способности организма контролировать интенсивность свободно-радикальных реакций и процессов перекисного окисления липидов. Для целей исследования механизмов адаптации к антропогенным факторам среды, а также механизмов токсического действия поллютантов крайне важна оценка состояния антирадикальной системы растений при действии стресс-факторов.

Образование активных форм кислорода (АФК) и последующее перекисное окисление липидов являются основными причинами фитотоксичности (Lin and Xing, 2008). Генерацию АФК связывают как с физическим взаимодействием ТМ с корнями, так и с поглощением растворенных ионов растениями (Kouhi et al., 2014). Содержание МДА – одного из маркеров перекисного окисления липидов и окислительного стресса (Morales and Munne-Bosch, 2019), в корнях и побегах ячменя при внесении 300 мг/кг оксидов ТМ разной дисперсности в почву находилось в пределах физиологической нормы, т. е. соответствовало контрольному варианту (Рисунок 11). Уровень МДА сильнее увеличивается в корнях, чем в побегах, при этом в корнях в большей степени выражена разница в дисперсности частиц и виде металла. Содержание МДА в корнях ячменя увеличилось в 1,9 и 2,3 раза на вариантах 2000 мг/кг микроформы CuO и ZnO, а в наноформе – в 2,8 и 2,9 раза. Это связано с тем, что корни являются первым барьером на пути миграции ТМ в растения и аккумулируют их большую часть, вызывая генерацию АФК и атакуя липиды мембран (Ajmal et al., 2022).

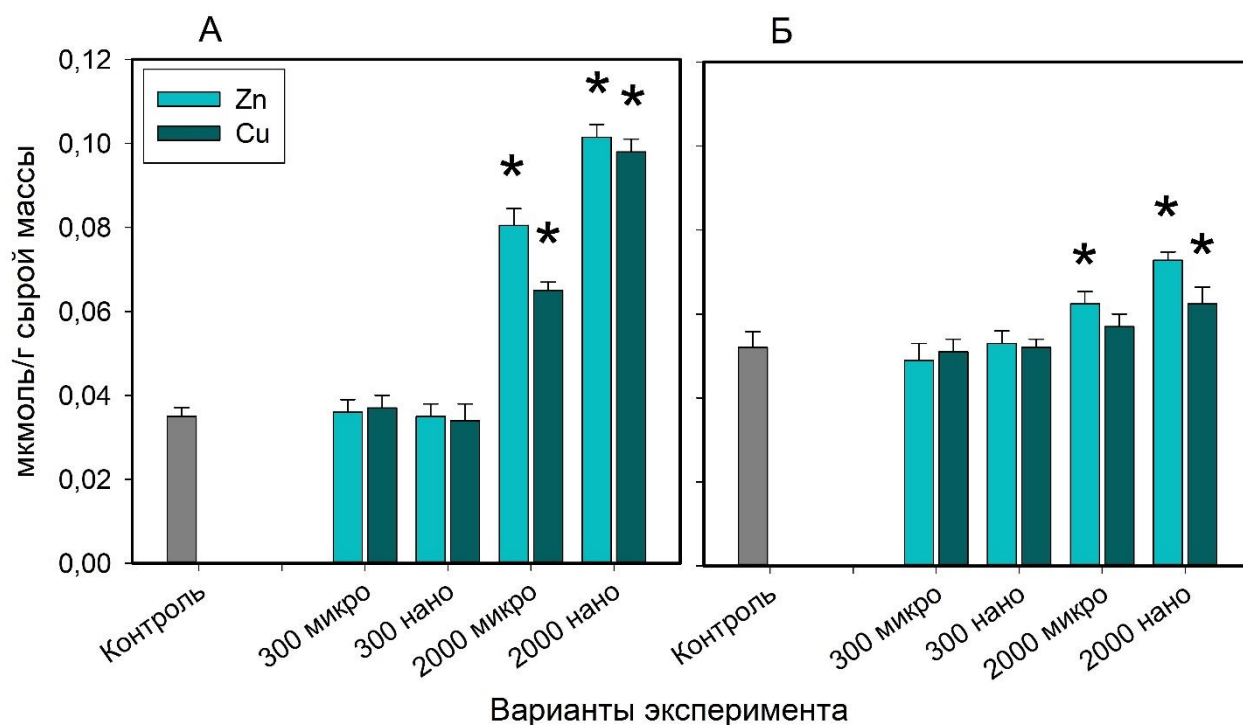


Рисунок 11. Содержание малонового диальдегида (МДА) в корнях и побегах *Hordeum vulgare* L. в условиях загрязнения микро- и наночастицами CuO и ZnO чернозема обыкновенного: А – корни, Б - побеги

Активность антиоксидантных ферментов в корнях и побегах изменялась разнонаправленно. При 300 мг/кг активность СОД в корнях возрастала в 1,3–1,8 раза, а в побегах – только при внесении нанодисперсных форм, в 1,2–1,5 раза (Рисунок 12). При 2000 мг/кг крупнодисперсных CuO и ZnO активность СОД сохраняла адаптивное повышение, тогда как в вариантах с нанодисперсными формами снижалась, что указывало на истощение или повреждение антиоксидантной защиты. Нелинейная реакция СОД при увеличении дозы согласуется с литературными данными для зерновых культур (Awasthi et al., 2017; Cui et al., 2019).

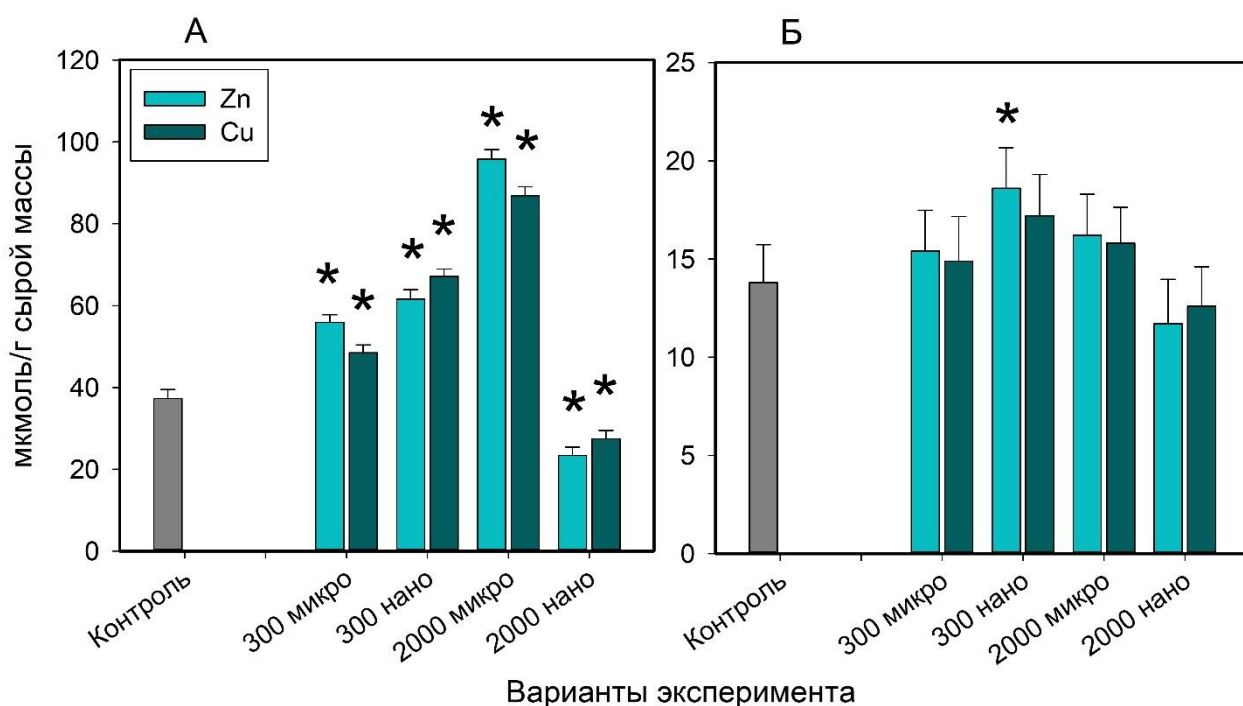


Рисунок 12. Активность супероксиддисмутазы (СОД) в корнях и побегах *Hordeum vulgare* L. в условиях загрязнения микро- и наночастицами CuO и ZnO чернозема обыкновенного: А – корни, Б - побеги

Активность каталазы (КАТ) увеличилась в корнях ячменя в 1,7 раза при 300 мг/кг наночастиц ТМ и в 1,9–2,7 раза при 2000 мг/кг микро- и наночастиц, а в побегах только на вариантах с большей концентрацией ТМ – в 1,5–2,2 раза (Рисунок 13). Активность КАТ возрастала с ростом концентрации ТМ в почве и степенью дисперсности частиц, тогда как вид металла не оказывал существенного влияния. Увеличение каталазной активности под влиянием наночастиц ZnO было показано в корнях пшеницы и арабидопсиса (Landa et al., 2012), а также листьях томата (Amooaghaie et al., 2016).

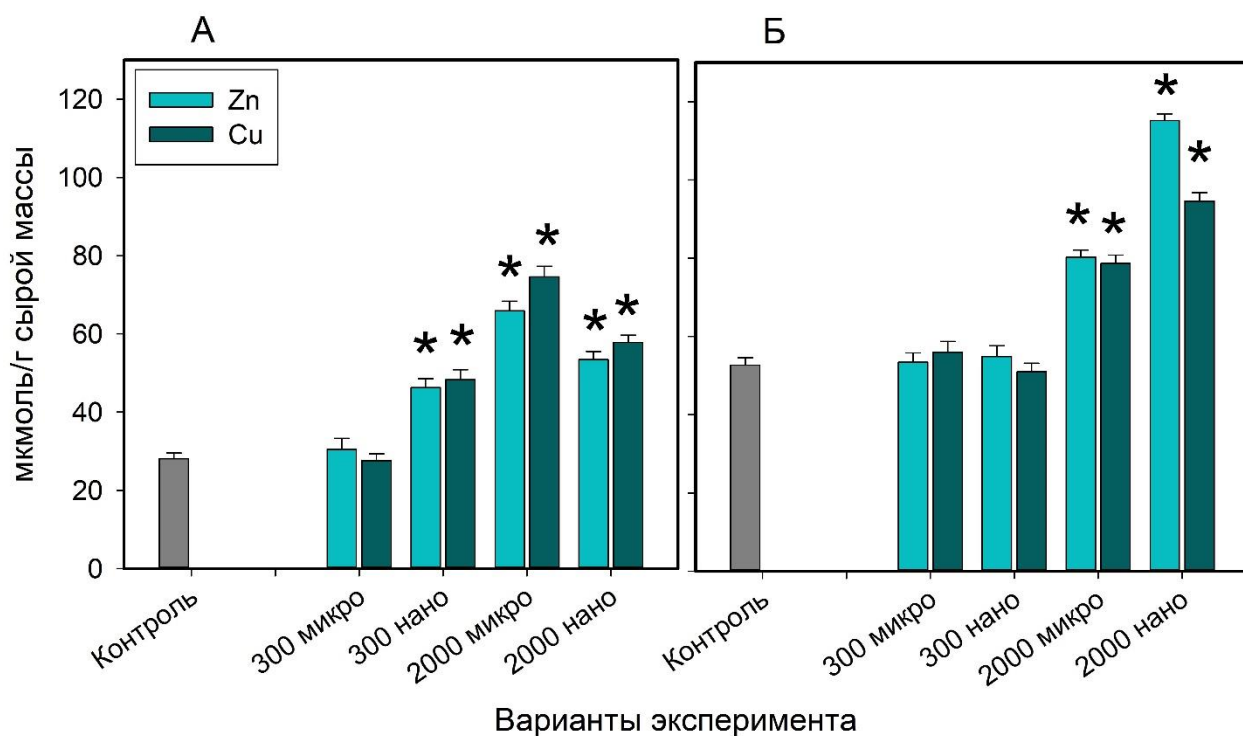


Рисунок 13. Активность каталазы (КАТ) в корнях и побегах *Hordeum vulgare* L. в условиях загрязнения микро- и наночастицами CuO и ZnO чернозема обыкновенного: А – корни, Б - побеги

Активность глутатионредуктазы возрастает относительно контроля во всех вариантах опыта (Рисунок 14). С повышением активности глутатионредуктазы, в проростках ячменя также возрастает содержание восстановленной формы глутатиона (Рисунок 15). Наибольшее увеличение активности данного фермента наблюдали в клетках корня и побега под действием CuO и ZnO в концентрации 300 мг/кг. Ключевую роль в поддержании окислительно-восстановительного гомеостаза у растений играет глутатион-аскорбатный цикл. Он функционирует в цитозоле, митохондриях, пластидах и пероксисомах и его основные этапы сводятся к восстановлению пероксида с использованием аскорбата и фермента аскорбатпероксидазы, далее регенерацию дигидроаскорбата за счет глутатиона и восстановление окисленного глутатиона глутатионредуктазой (Bartoli et al., 2017). В побегах ячменя, выращенных на вариантах с загрязнением, отмечается повышение

глутатионредуктазной активности и пула восстановленного глутатиона в 1,2–1,5 раза.

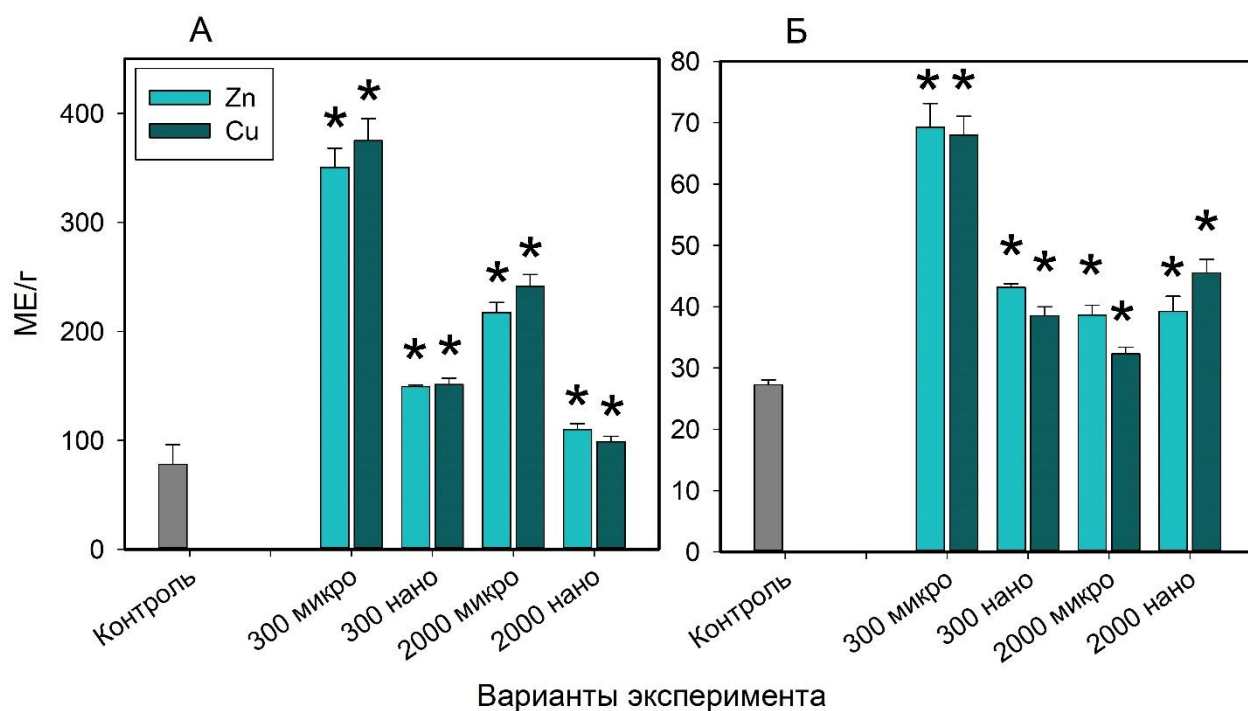


Рисунок 14. Активность глутатионредуктазы в корнях и побегах *Hordeum vulgare* L. при внесении микро- и наночастиц CuO и ZnO: А- корни, Б- побеги

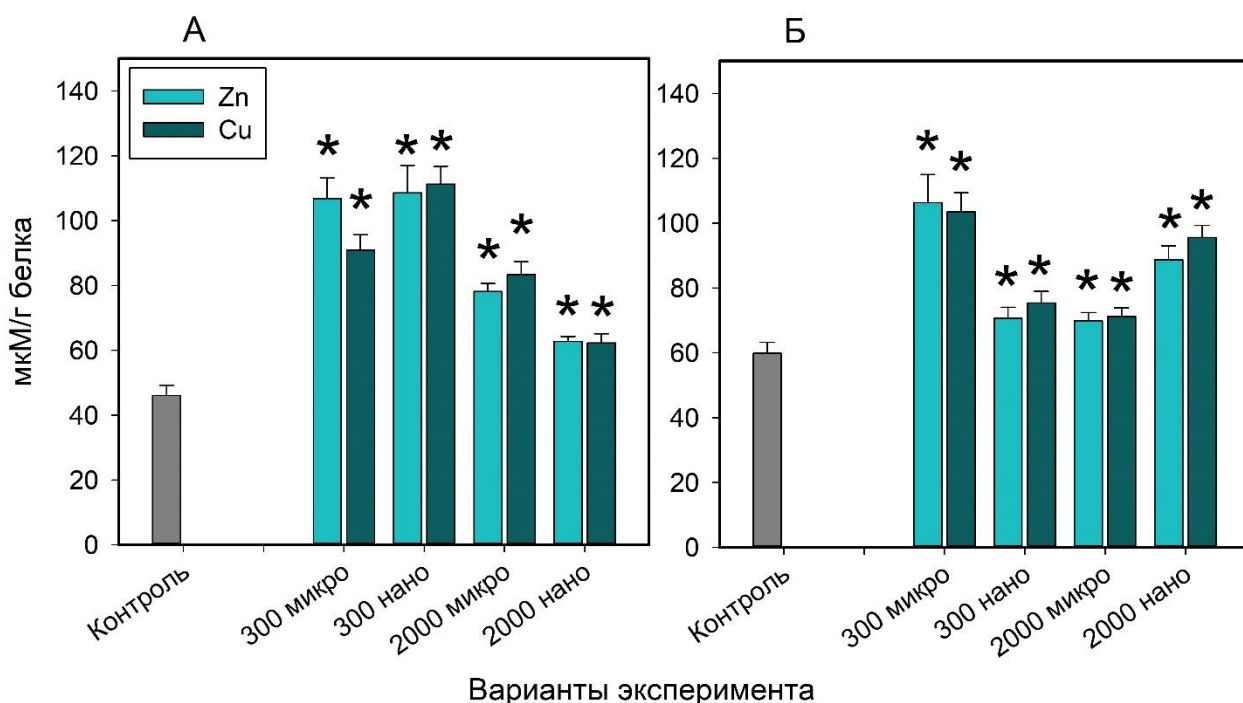


Рисунок 15. Содержание глутатиона в корнях и побегах *Hordeum vulgare* L. при внесении микро- и наночастиц CuO и ZnO: А- корни, Б- побеги

В целом, изменения активности компонентов глутатион-аскорбатного цикла выражены в корнях больше, чем в побегах, и не имеют линейной зависимости от концентрации и размерности CuO и ZnO. Последнее обстоятельство, в свою очередь, свидетельствует о высокой динамичности процессов в глутатион-аскорбатном метаболическом пути.

3.4.3 Строение тканей корней и листьев при внесении микро- и наночастиц оксидов меди и цинка в почву

Структурные и ультраструктурные изменения корней и листьев напрямую влияют на обменные и физиологические процессы растений (Fedorenko et al, 2021). Микроскопическое исследование срезов корней ярового ячменя, выращенного на контрольном варианте, показало анатомическое строение корня однодольного растения (Rajput et al, 2018). На поперечных срезах корня контрольных растений различались эпиблема (ризодерма) с корневыми волосками, первичная кора, эндодерма и центральный цилиндр (Рисунок 16а). Корневые волоски имели длину 150–200 мкм. Клетки первичной коры располагались несколькими слоями; внутренний слой формировал эндодерму с утолщенными радиальными и внутренними стенками. Центральный цилиндр включал перицикл и радиально организованные проводящие ткани – ксилему и флоэму. Клетки перицикла более крупные, слегка вытянуты по радиусу и имеют тонкие клеточные оболочки. Большие сосуды ксилемы окружены живыми клетками ксилемной паренхимы. Крупные поры в клеточных стенках соединяют их с сосудами. Флоэма состоит из ситовидных трубок, клеток-спутниц и флоэмной паренхимы.

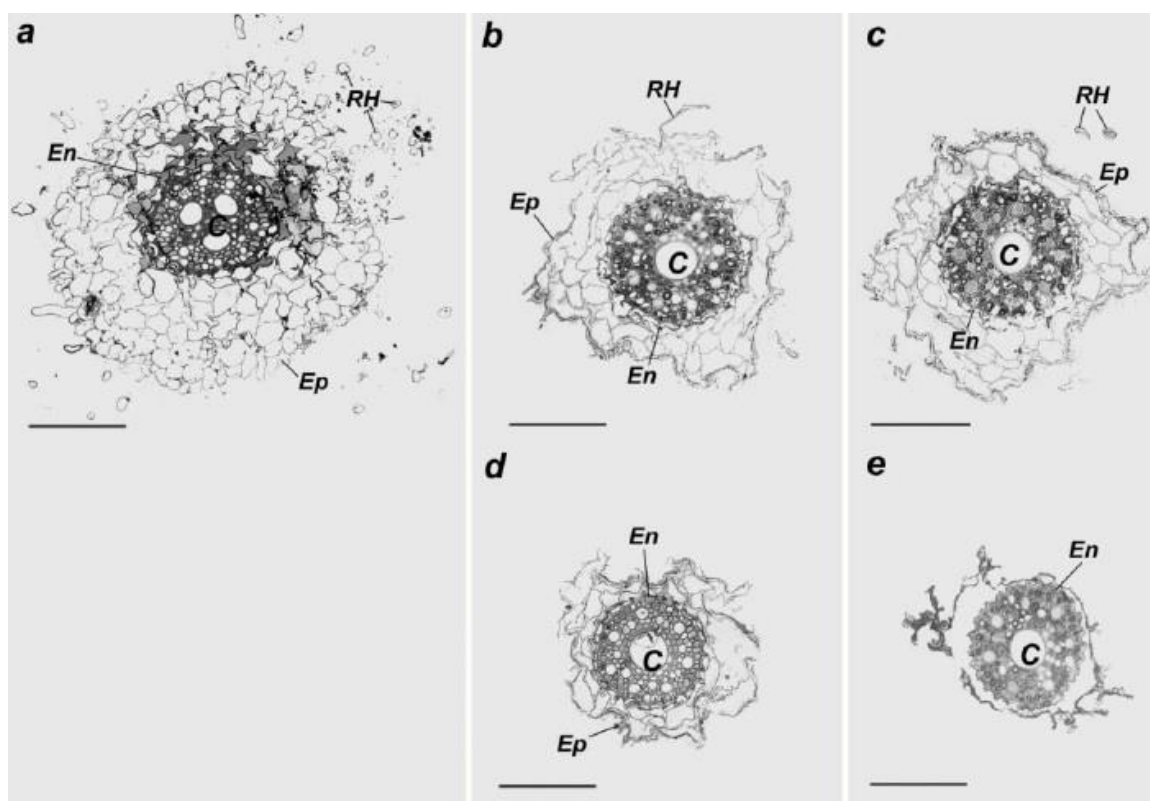


Рисунок 16. Поперечные срезы корней листа *Hordeum vulgare* L.: а – контроль, б – 2000 мг/кг микро CuO, с – 2000 мг/кг микро ZnO, d – 2000 мг/кг нано CuO, е – 2000 мг/кг нано ZnO. RH – корневые волоски, Ep – эпиблемма, En – эндодерма, C – центральный цилиндр. Масштабный отрезок - 100 мкм

На вариантах с загрязнением CuO наружный слой эпиблеммы корня ячменя, как и в контроле, имеет живые клетки с корневыми волосками (Рисунок 16 б, d). Однако на варианте с микродисперсной формой при внесении 2000 мг/кг CuO корневые волоски намного короче и реже, чем в контроле, а на варианте нано-CuO они почти не визуализировались. Паренхимальный слой, находящийся под слоем эпидермиса, редуцирован по сравнению с контролем. Толщина первичной коры и размеры ее клеток уменьшались, а организация клеток становилась менее упорядоченной (Таблица 12). Клетки, преимущественно, не имеют цитоплазмы и органелл и состоят только из клеточных стенок, несущих механическую функцию. Имеются участки, где целостность клеточных стенок нарушена и несколько клеток объединены в одну полость. Клетки эндодермы расположены в 1 слой.

Их клеточные стенки также имеют неравномерную толщину, увеличивающуюся к центру. В исследуемом образце доля центрального цилиндра в общем сечении корня заметно превышает аналогичный показатель контрольного образца. Перицикл представлен одним слоем клеток, которые имеют легкую вытянутость в радиальном направлении. Сосудистые пучки сформированы по радиальному принципу, при этом четкая радиальная симметрия в их организации прослеживается слабо. В центральной части имеется крупный сосуд, от которого расходятся более мелкие пучки флоэмы и ксилемы. Сосуды ксилемных лучей имеют более крупные просветы к периферии.

Таблица 12. Цитоморфометрические параметры корней листа *Hordeum vulgare* L. при внесении в почву CuO и ZnO в микро- и наноформе

Варианты внесения CuO и ZnO, мг/кг	Площадь сечения корня, мкм ²	Площадь сечения ЦЦ, мкм ²	Отношение площади коры к площади ЦЦ	Средний размер клетки коры, мкм ²
Контроль	82472±2154	12900±617	5,1	439±32
2000 микро CuO	49211±1931	15178±552	2,2	337±39
2000 нано CuO	29131±976	10744±527	1,7	207±46
2000 микро ZnO	41832±801	14361±610	1,9	219±53
2000 нано ZnO	21986±804	12583±721	0,8	-

На вариантах с загрязнением ZnO анатомическое строение корней также, как и при загрязнении CuO, имеет ряд существенных различий от контрольных образцов. Клетки эпидермиса сильно дифференцированные, преимущественно не имеют цитоплазмы и ядра и состоят лишь из клеточных стенок. Эпидермис имеет редкие и более короткие, чем в контроле корневые волоски при микродисперсной форме внесения металла, а при наноформе отсутствуют (Рисунок 16 с, е). Паренхимальные клетки коры при

нанодисперсной форме внесения ZnO сильно редуцированы и состоят из одного слоя клеток, а на некоторых участках полностью отсутствуют. Клетки эндодермы отчетливо наблюдаются и расположены в 1 слой. Их клеточные стенки имеют неравномерную толщину, увеличивающуюся к центру. Центральный цилиндр, занимая в среднем значительно большую долю от общего сечения корня, чем в контрольном образце, состоит из перицикла и проводящих тканей. При этом абсолютная суммарная площадь проводящих тканей во всех вариантах примерно такая же, как в контроле (Таблица 12).

Клетки перицикла лежат в один слой, слегка вытянуты по радиусу и имеют тонкие оболочки. За перициклом расположены клетки, составляющие проводящие ткани. Сосудистые пучки, как и в контроле, построены по радиальному типу и имеют в центральной части центрального цилиндра один крупный сосудистый пучок, от которого радиально расходятся более мелкие пучки флоэмы и ксилемы. Увеличение относительной доли центрального цилиндра обусловлено преимущественно потерей площади коры.

Морфометрический анализ показал, что площадь сечения корней при загрязнении почвы ТМ в дозе 2000 мг/кг, средний размер клеток коры, отношение площади сечения корня к площади центрального цилиндра уменьшаются по сравнению с контролем, особенно на вариантах с внесением нанодисперсных форм металлов (Таблица 12). Zn оказал больший токсический эффект на структуру корней по сравнению с Cu. Средняя площадь клеток коры была ниже контроля на 23 % при микро-CuO, на 53 % при нано-CuO и на 50 % при микро-ZnO; для нано-ZnO – на 96 %. Отношение площади коры к площади центрального цилиндра снизилось с 5,1 в контроле до 2,2; 1,7; 1,9 и 0,8 соответственно. Эти данные согласуются с более сильным ингибированием длины корней и с преимущественным накоплением Cu и Zn в корнях.

Электронно-микроскопический анализ показал, что корни контрольного варианта имели нормальные ультраструктурные характеристики: неповрежденные клеточные стенки, митохондрии овальной формы с типичной морфологией, большую центральную вакуоль, мембраны не демонстрировали

признаков деструкции, электронно-светлый матрикс и хорошо развитые кристы (Рисунок 17 а). В вариантах внесения 2000 мг/кг микро- и наночастиц CuO и ZnO наблюдались ультраструктурные изменения независимо от дисперсности частиц и вида металла: клеточные стенки имели нарушения и перфорации в своей ламеллярной структуре, а в некоторых местах и разрушения; основные органеллы отечные и набухшие; электронноплотное ядро с ядерным хроматином, сконденсированным в плотные глыбки; митохондрии округлой формы с электронноплотным матриксом и набухшими кристами (Рисунок 17 b, c, f, h). Помимо центральной вакуоли в цитоплазме наблюдались множественные вторичные вакуоли на вариантах с наночастицами, а на клеточных стенках и плазмолеммах наблюдалось образование электронно-плотного осадка (Рисунок 17 d, e, g, c, i).

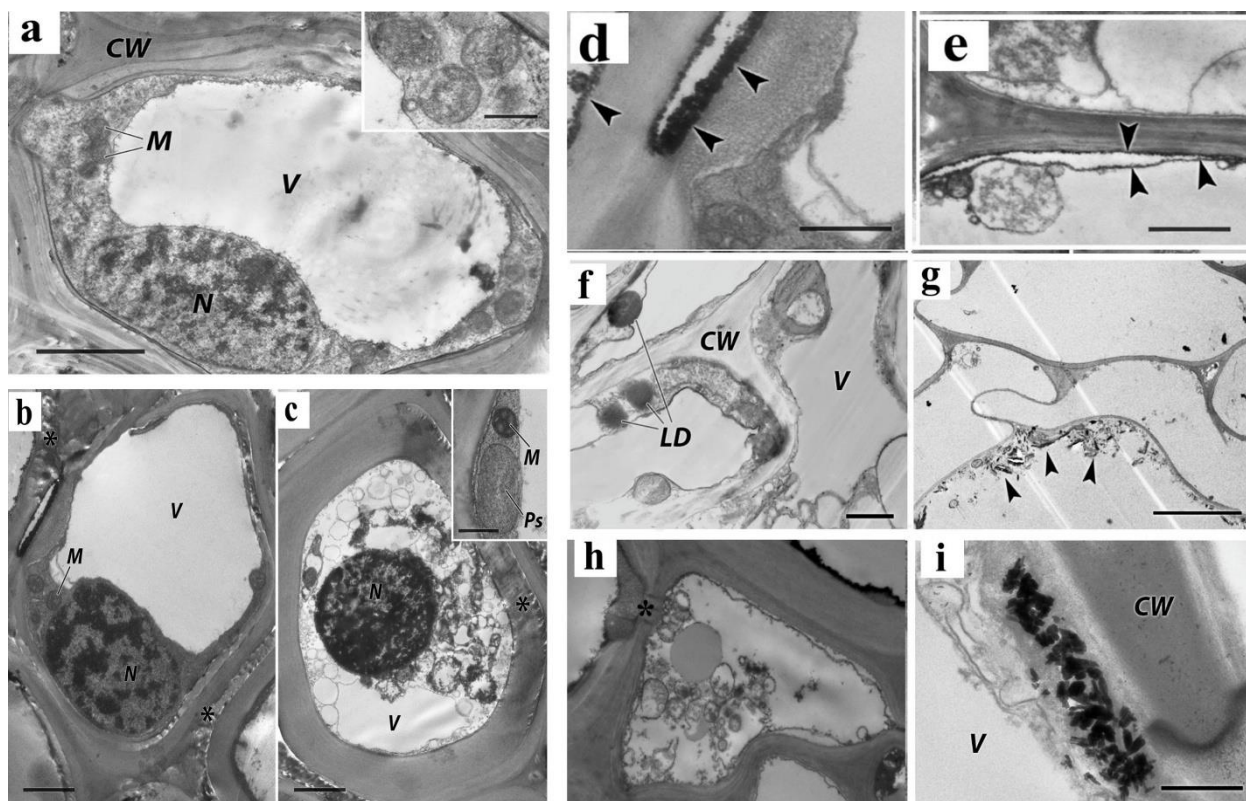


Рисунок 17. Ультраструктура клеток центрального цилиндра корней *Hordeum vulgare* L.: а – контроль; b, f – микроформа CuO и ZnO; c, e, d – наночастица CuO; g, h, i – наночастица ZnO. CW – клеточная стенка; V – вакуоль; М – митохондрия; N – ядро; Ps – пластида; стрелки – электронно-плотный материал; * – участки повреждения клеточной стенки.

Строение тканей листовой пластины контрольного варианта характеризуются упорядоченной организацией и равномерной локализацией клеток в хлоренхиме листа (Рисунок 18 а). Деление клеток мезофилла на палисадную и губчатую паренхиму прослеживается слабо. Под верхним эпидермальным слоем в один ряд располагаются клетки палисадной паренхимы – на их долю приходится около четверти общей толщины среза листовой пластинки. Эти клетки отличаются округлой формой и характеризуются плотной упаковкой, практически без межклеточных пространств. В центральной и нижней зонах листа, в непосредственной близости от нижнего эпидермиса, размещена губчатая паренхима. Ее клетки имеют более вытянутую форму по сравнению с клетками палисадной ткани. Для их пространственной организации характерна незначительная доля плотно контактирующих клеток и наличие обширного межклеточного пространства.

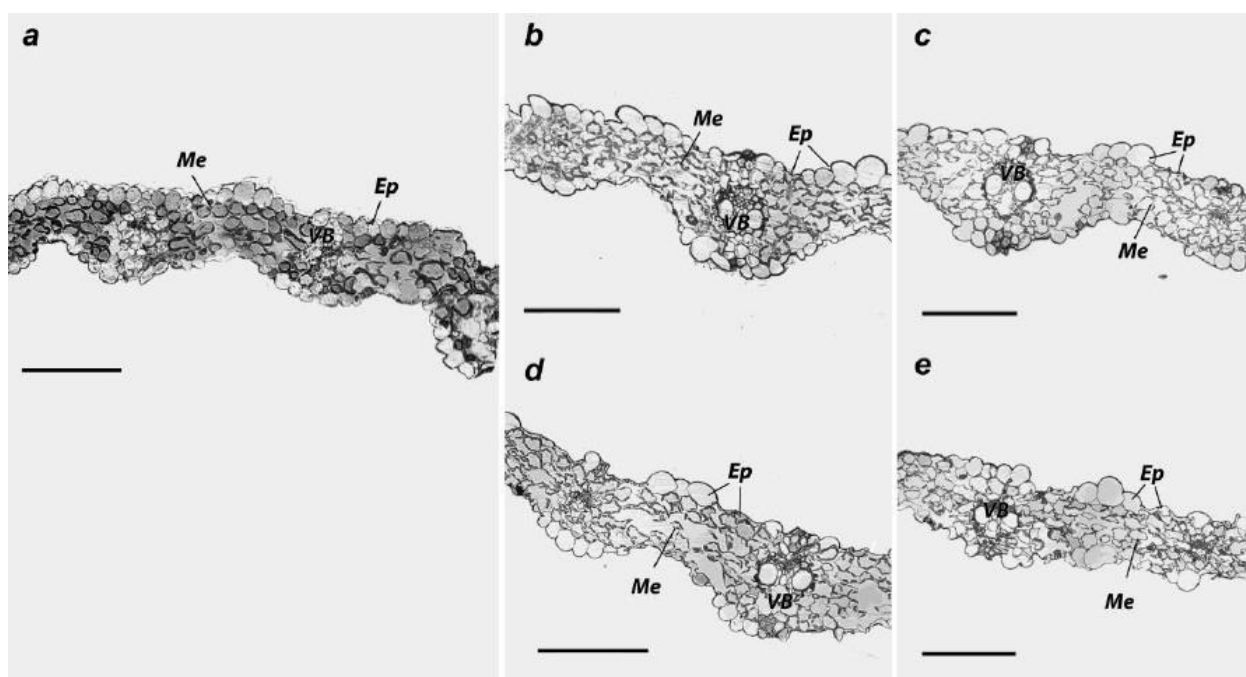


Рисунок 18. Поперечные срезы листовых пластин листа *Hordeum vulgare* L.: а – контроль, b – 2000 мг/кг микро CuO, с – 2000 мг/кг микро ZnO, d – 2000 мг/кг нано CuO, е – 2000 мг/кг нано ZnO. Ep – эпидермис, Me – мезофилл, VB – проводящий пучок. Масштабный отрезок – 100 мкм

При загрязнении почвы 2000 мг/кг CuO организация клеток хлоренхимы листа была менее упорядоченной, а межклеточные пространства – более выраженными на варианте наноформы, чем в контроле (Рисунок 18 b, d). Клетки палисадной паренхимы располагались в один ряд, становились несколько шире и менее плотно прилегали друг к другу; клетки губчатой паренхимы были уплощены вдоль продольной оси листа. По приведенным данным статистически значимых различий цитоморфометрических показателей не установлено (Таблица 13).

Таблица 13. Цитоморфометрические параметры листовой пластины ярового ячменя при внесении в почву CuO и ZnO в микро- и наноформе

Варианты внесения CuO и ZnO, мг/кг	Число клеток хлоренхимы на мм ²	Отношение пл. клеток к п. межклеточного пр-ва	Средний размер клетки хлоренхимы, мкм ²	Количество пластид в клетке паренхимы
Контроль	2927±213	0,6	132±15	6,7±0,8
2000 микро CuO	2723±182	0,6	128±13	6,3±0,8
2000 нано CuO	2658±194	0,5	122±11	6,1±0,7
2000 микро ZnO	2737±205	0,6	134±15	5,7±0,9
2000 нано ZnO	2591±209	0,5	133±14	5,0±0,7

Уровень изменений в структуре листовых пластин ячменя при загрязнении почвы ZnO сопоставим с загрязнением CuO (Рисунок 18 с, е). Клетки палисадной и губчатой паренхимы более крупные и округлые, чем при загрязнении CuO. Пространственная организация клеток менее упорядоченная, чем в контроле, особенно на варианте наноформы оксида металла. Как и в случае с CuO, количественных различий в цитоморфометрических параметрах не обнаружено, но наблюдается тенденция к уменьшению количества клеток на единицу площади и пластид в клетке паренхимы (Таблица 13). Наиболее заметное изменение листовой

пластинки, отмечено при наноформе ZnO с наименьшим количеством пластид на клетку и отношением площади клеток к площади межклеточного.

В листьях CuO и ZnO вызывали сходный комплекс ультраструктурных изменений: уменьшение количества хлоропластов и размера пластид, сокращалось число гран и тилакоидов, нарушалась организация мембранной системы хлоропластов (Рисунок 19). Если при загрязнении микроформами тилакоиды сохраняли преимущественно параллельную ориентацию вдоль продольной оси хлоропласта (Рисунок 19 b, d, f, g), то при воздействии наноформ мембранная система становилась значительно более дезорганизованной: граны располагались хаотично, нарушалась их пространственная ориентация и снижалась степень упорядоченности внутренней структуры хлоропластов (Рисунок 19 c, e, h, i, k).

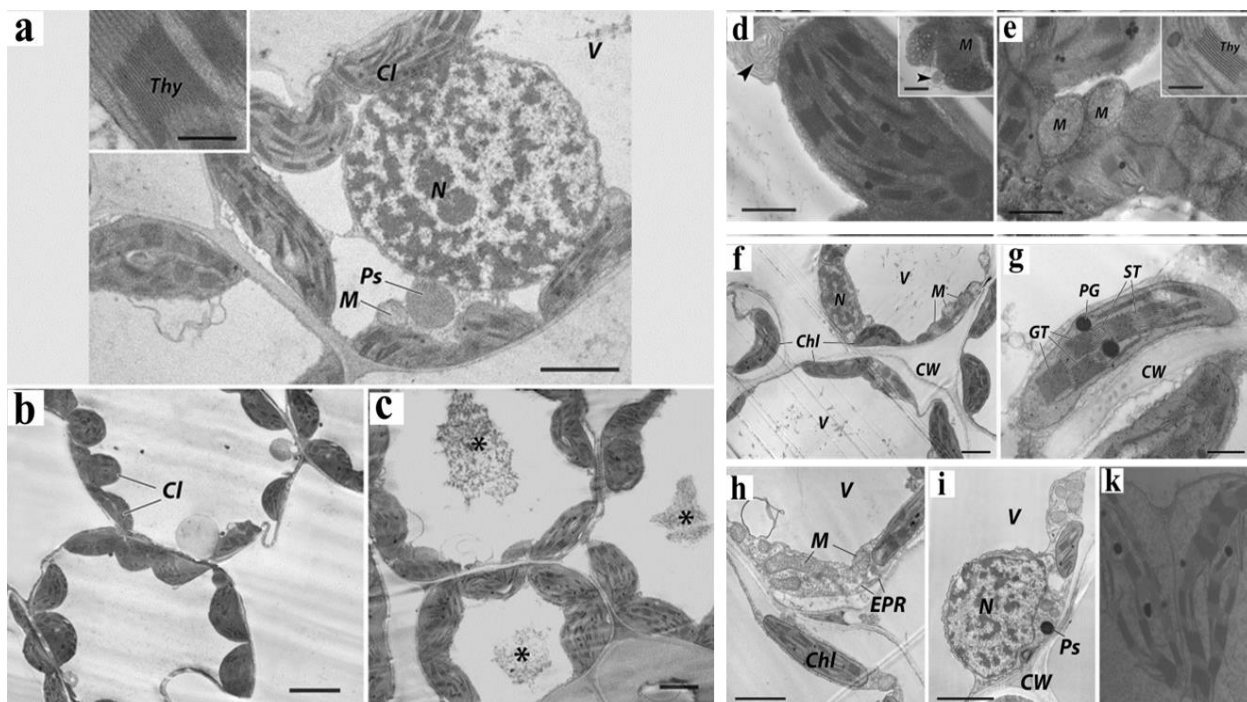


Рисунок 19. Ультраструктура клеток паренхимы листа *Hordeum vulgare* L.: а – контроль; b, d – микроформа CuO; c, e – наноформа CuO.; f, g – микроформа ZnO; h, i, k – наноформа ZnO. Chl – хлоропласт; V – вакуоль; М – митохондрия; N – ядро; CW – клеточная стенка; Pr – пероксисома; TG – тилакоиды гран; TS – тилакоиды стромы; * – спиралевидные мембранные образования.

Характерной особенностью действия наночастиц CuO и ZnO являлось увеличение количества пластоглобул при одновременном уменьшении размеров и количества крахмальных зерен. Это связано с развитием окислительного стресса и нарушением обмена липидов мембран. Известно, что пластоглобулы участвуют в ремоделировании тилакоидных мембран и рассматриваются как один из универсальных ультраструктурных маркеров стрессового воздействия на фотосинтетический аппарат (Fedorenko et al., 2021). Значительные изменения наблюдались и в митохондриальном аппарате, наиболее выраженные на вариантах с наночастицами: уменьшение количества и набухание митохондрий, разрушение крист и дезорганизация внутренней мембранной системы, что свидетельствует о глубоких нарушениях в клетках растений.

Полученные результаты хорошо согласуются с данными других исследований. Так, Peng et al. (2015) показали накопление меди в клеточных стенках и тканях риса после воздействия наночастиц CuO, Rajput et al. (2018) описали уменьшение числа хлоропластов, нарушение ультраструктуры митохондрий и деформацию устьиц у ячменя под действием CuO, а Panou-Filothéou et al. (2001) наблюдали снижение количества хлоропластов, разрушение тилакоидной системы и увеличение числа пластоглобул при токсическом действии меди. Сходные воздействия на растения отмечаются в случае с наночастицами ZnO. Исследования показали (Ahmed et al., 2017; Lee et al., 2010), что ZnO в микро- и наночастицной форме вызывает повреждение митохондрий, нарушение структуры хромосом и развитие окислительного стресса в клетках корней *Allium cepa*. Эти результаты свидетельствуют, что независимо от вида растения наиболее чувствительными мишенями являются мембранные структуры пластид и митохондрий, а наночастицы оксидов Cu и Zn усиливают выраженность нарушений вследствие более высокой биодоступности и способности проникать внутрь клеток.

ВЫВОДЫ

1. Фитотоксичность чернозема обыкновенного карбонатного при загрязнении микро- и нанодисперсными формами оксидов Cu и Zn определяется химической природой металла, степенью дисперсности частиц и уровнем загрязнения почвы. При внесении 150 мг/кг CuO и ZnO в микроформе достоверного ингибирующего действия на рост *Hordeum vulgare* L. не выявлено, тогда как наноформа ТМ в данной концентрации оказывала стимулирующий эффект. При увеличении внесения металлов до 300 мг/кг почва характеризовалась слабой фитотоксичностью, а при 1000–3000 мг/кг происходило достоверное снижение энергии прорастания, всхожести и роста растений с повышением класса токсичности почвы до среднего и высокого. Наиболее выраженное токсическое действие установлено для нанодисперсной формы ZnO.

2. Выявлены закономерности трансформации микро- и нанодисперсных форм CuO и ZnO в черноземе обыкновенном, заключающиеся в образовании менее прочных соединений ТМ с почвенными компонентами при увеличении дозы внесения и степени дисперсности их соединений. Поступление наноформ оксидов ТМ в почву сопровождалось снижением доли остаточной фракции и увеличением содержания обменных, кислоторастворимых и восстанавливаемых соединений. При концентрации 300 мг/кг металлов доля восстанавливаемой фракции возрастала на 2–4% для Cu и 4–8% для Zn, при концентрации 2000 мг/кг — на 4–7% и 11–13%, соответственно. При этом содержание данной фракции при внесении наноформ ТМ было в 1,3–1,5 раза выше по сравнению с микроформами. Доля кислоторастворимой фракции Zn во всех вариантах опыта превышала на 3–5 % аналогичный показатель для Cu, что свидетельствует о большей потенциальной подвижности соединений Zn.

3. Поступление CuO и ZnO в нанодисперсной форме в черноземе обыкновенный увеличивало содержание группы непрочных соединений Cu в 1,6 раза, а Zn — в 1,4 раза по сравнению с их

микродисперсными формами. Для Cu повышение подвижности при внесении наноформы металла связано преимущественно с увеличением доли комплексных соединений в группе непрочно связанных соединений на 30–33%, тогда как при внесении металла в микроформе большую роль сохраняют специфически сорбированные формы (43–59%). Подвижность Zn в основном определяется содержанием специфически сорбированных соединений, несмотря на наибольшее увеличение обменных форм металла с ростом загрязнения.

4. При загрязнении чернозема обыкновенного наноформами CuO и ZnO содержание металлов *H. vulgare* в 1,5–2 раза выше, чем при внесении микродисперсных форм. При этом основная часть Cu и Zn аккумулируется в корнях. При одинаковом уровне загрязнения биодоступность Zn (BF = 0,12–0,45) выше, чем Cu (BF = 0,06–0,30). При высокой дозе внесения металлов снижение коэффициента накопления и акропетального коэффициента отражает усиление защитных механизмов растений, направленных на ограничение транслокации металлов.

5. Наиболее чувствительным морфофизиологическим уровнем токсического действия микро- и наноформ CuO и ZnO является корневая система ярового ячменя. При дозе 2000 мг/кг наноформы металлов вызывали наибольшее снижение энергии прорастания, всхожести, длины корней и высоты растений; анатомически это проявлялось в редуцировании корневых волосков, эпиблемы и корового слоя, уменьшении размеров клеток и площади паренхимы. Наиболее выраженные повреждения корневых тканей установлены при внесении наноформы ZnO. Структурные изменения в листовых пластинах *H. vulgare* заключались, главным образом, в преобразовании форм клеток паренхимы, при этом наблюдались тенденции к снижению количества клеток и пластид на вариантах с наноформами CuO и ZnO. Механизм ультраструктурных изменений в клетках корней и листьев был сходным в зависимости от металла и дисперсности частиц, однако различия

между микро- и наночастицами CuO и ZnO заключались в степени выраженности повреждений.

6. Физиолого-биохимический ответ *H. vulgare* на внесение в чернозем обыкновенный микро- и наночастиц CuO и ZnO имел нелинейную зависимость от концентрации, дисперсности частиц и вегетативного органа. Наиболее выраженные изменения отмечены в корневой системе, где содержание МДА при внесении 2000 мг/кг микроформ CuO и ZnO возрастало в 1,9 и 2,3 раза, а при внесении наночастиц — соответственно в 2,8 и 2,9 раза относительно контроля. При высокой дозе наночастиц рост МДА сочетался со снижением активности СОД, что указывало на развитие окислительного стресса и ограничение компенсаторных возможностей антиоксидантной системы

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Авессаломова И.А. Биогеохимия ландшафтов: учебное пособие. – М.: Изд-во Моск. ун-та. – 2007. – 162 с.
2. Безель В. С., Жуйкова Т. В., Позолотина В. Н. Структура ценопопуляций одуванчика и специфика накопления тяжелых металлов // Экология. – 1998. – № 5. – С. 376–382.
3. Безель В. С., Позолотина В. Н., Бельский Е. А., Жуйкова Т. В. Изменчивость популяционных параметров: адаптация к токсическим факторам среды // Экология. – 2001. – № 6. – С. 447–453.
4. Безель В.С. Экологическая токсикология: популяционный и биоценотический аспекты. – Екатеринбург: Голицынский. – 2006. – 279 с.
5. Богословская О.А., Глущенко Н.Н., Ольховская И.П. и др. Токсичность биологически активных нанопорошков металлов // Всероссийская научно-практическая конференция, посвященная памяти профессора Ю.М. Кубицкого «Современные проблемы Сико-криминалистических, судебно-химических и химико-токсикологических экспертных исследований». – Москва, 2007. – С. 197–200.
6. Вершинина, И. А. Экологическая оценка действия наночастиц Zn, Cu и SiO₂ в системе почва — живые организмы : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.02.08 / И. А. Вершинина ; Оренбургский государственный университет. — Оренбург, 2024. — 24 с.
7. Волкова И.Н. Экологическое почвоведение: лабораторные занятия для студентов-экологов (бакалавров): методические указания / И.Н. Волкова, Г. В. Кондакова. - Ярославль: ЯрГУ. – 2002. – 67 с.
8. Гладкова М. М., Терехова В. А. Инженерные наноматериалы в почве: источники поступления и пути миграции // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 17: Почвоведение. 2013. № 3. С. 34–39.
9. Глущенко Н. Н. Физико-химические закономерности биологического действия высокодисперсных порошков металлов: автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. – М., 1989. – 54 с.

10. Жуйкова Т. В., Позолотина В. Н., Безель В. С. Разные стратегии адаптации растений к токсическому загрязнению среды тяжелыми металлами (на примере *Taraxacum officinale* s. l.) // Экология. – 1999. – № 3. – С. 189–196.
11. Ладонин Д. В., Карпухин М. М. Фракционный состав соединений никеля, меди, цинка и свинца в почвах, загрязнённых оксидами и растворимыми солями металлов // Почвоведение. — 2011. — № 8. — С. 953–965.
12. Ладонин Д.В. Формы соединений тяжелых металлов в техногенно-загрязненных почвах: автореф. дис. д-ра биол. наук (03.02.13) – Москва. – 2016. – 42 с.
13. Марчик, Т. П. Почвоведение с основами растениеводства : учеб. пособие / Т. П. Марчик, А. Л. Ефремов ; Учреждение образования «Гродненский государственный университет имени Янки Купалы». – Гродно : ГрГУ, 2006. – 249 с. – ISBN 985-417-828-5.
14. Методические указания по определению тяжелых металлов в почвах сельхозугодий и продукции растениеводства. – Введ. 1992–04–10.– М. – 1992 – 27 с.
15. Минкина Т.М., Мотузова Г.В., Назаренко О.Г., Крыщенко В.С., Манджиева С.С. Комбинированный прием фракционирования соединений металлов в почвах // Почвоведение. – 2008. – №. 11. – С. 1324–1333.
16. Минкина Т.М., Федоров Ю.А., Невидомская Д.Г., Манджиева С.С., Козлова М.Н. Особенности содержания и подвижность тяжелых металлов в почвах поймы реки Дон // Аридные экосистемы. – 2016. – № 1(66). – С. 86–98.
17. Моргалёв Ю. Н., Хоч Н. С., Моргалёва Т. Г., Гулик Е. С., Борило Г. А., Булатова У. А., Моргалёв С. Ю., Понявина Е. В. Биотестирование наноматериалов: о возможности транслокации наночастиц в пищевые сети // Российские нанотехнологии. – 2010. – Т. 5. – № 11–12. – С. 131–135.
18. Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или)

безвредности для человека факторов среды обитания»: постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28 января 2021 г. № 2.

19. Пинский Д.Л., Минкина Т.М., Гапонова Ю.И. Сравнительный анализ моно- и полиэлементной адсорбции меди, свинца и цинка черноземом обыкновенным из растворов азотнокислых и уксуснокислых солей // Почвоведение. – 2010. – № 7. – С. 801–810.

20. Путилина В. С., Галицкая И. В., Юганова Т. И. Адсорбция тяжелых металлов почвами и горными породами. Характеристики сорбента, условия, параметры и механизмы адсорбции // Экология. Серия аналитических обзоров мировой литературы. – 2009. – №. 90. – С. 1-155.

21. Пятова, М. И., Толпешта, И. И., Изосимова, Ю. Г., Карпухин, М. М., & Барсова, Н. Ю. (2023). Качественная оценка вклада различных компонентов в адсорбцию Cu (II) аллювиальной дерново-глеевой почвой. Почвоведение, (2), 154-169.

22. Сергеев, Г. Б. (2001). Нанохимия металлов. Успехи химии, 70(10), 915–933.

23. Студеникина, Т. А. Взаимодействие меди (II) с почвами и влияние на него органических компонентов почвенных растворов : дис. ... канд. биол. наук : 03.00.27 / Т. А. Студеникина. — Москва, 2000. — 108 с.

24. Сушилина М. М., Монькина А. И. Нанотехнологии в растениеводстве и сельском хозяйстве // Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета им. П.А. Костычева. – 2011. – №. 3. – С. 42–44.

25. Холоденко В.П., Чугунов В.А., Кобзев Е.Г. Возможности оценки интегральной токсичности наноматериалов в объектах окружающей среды методами биотестирования // Наноматериалы и нанотехнологии в живых системах: Мат-лы 1-й междун. научн. школы. М. – 2009. – С. 368.

26. Шишов Л. Л., Тонконогов В. Д., Лебедева И. И., Герасимова М. И. Классификация и диагностика почв России. – Смоленск: Ойкумена, 2004. – 342 с. – ISBN 5-93520-044-9.
27. Шишов Л. Л., Тонконогов В. Д., Лебедева И. И., Герасимова М. И. Классификация и диагностика почв России. – Смоленск: Ойкумена, 2004. – 342 с.
28. Юрина, Т. А. Об эффективности предпосевной обработки семян озимой пшеницы наночастицами металлов / Т. А. Юрина, Г. В. Дробин, О. А. Богословская, И. П. Ольховская, Н. Н. Глущенко [и др.] // Сельскохозяйственная биология. — 2021. — Т. 56, № 1. — С. 135–145.
29. Abou Seeda, M., Abou El-Nour, E. Z., Abdallah, M., & El-Bassiouny, H. (2022). Impacts of metal, metalloid and their effects in plant physiology: a review. *Middle East J Agric Res*, 11(3), 838–931.
30. Ahamed M., Siddiqui M.A., Akhtar M.J. Genotoxic potential of copper oxide nanoparticles in human lung epithelial cells // *Biochemical and biophysical research communications*. – 2010. – Vol. 396. – P. 578–583.
31. Ahmed B., Dwivedi S., Abdin M.Z., Azam A., Al-Shaeri M., Khan M.S., Saquib Q., Al-Khedhairi A.A., Musarrat J. Mitochondrial and Chromosomal Damage Induced by Oxidative Stress in Zn²⁺ Ions, ZnO-Bulk and ZnO-NPs treated *Allium cepa* roots // *Scientific Reports*. – 2017. – Vol. 7. – 40685.
32. Ahmed B., Rizvi A., Ali K., Lee J., Zaidi A., Khan M. S., Musarrat J. Nanoparticles in the soil–plant system: a review // *Environmental Chemistry Letters*. – 2021. – Т. 19. – №. 2. – С. 1545–1609.
33. Amooaghaie R., Norouzi M., Saeri M. Impact of zinc and zinc oxide nanoparticles on the physiological and biochemical processes in tomato and wheat // *Botany*. – 2017. – Vol. 95, no. 5. – P. 441–455. – DOI: 10.1139/cjb-2016-0194.
34. Anisimov V. S., Anisimova L. N., Frigidova L. M., Dikarev D. V., Frigidov R. A., Korneev Yu. N., Sanzharov A. I., Arysheva S. P. Evaluation of the migration capacity of Zn in the soil–plant system // *Eurasian Soil Science*. – 2018. – Vol. 51, no. 4. – P. 407–417. – DOI: 10.1134/S1064229318040026.

35. Anisimov V. S., Kochetkov I. V., Dikarev D. V., Anisimova L. N., Korneev Yu. N. Effects of physical-chemical properties of soils on ^{60}Co and ^{65}Zn bioavailability // *Journal of Soils and Sediments*. 2015. Vol. 15, no. 11. P. 2232–2243. DOI: 10.1007/s11368-015-1153-z.
36. Anisimov V. S., Kochetkov I. V., Frigidova L. M. Effect of the physicochemical parameters of soils on the biological availability of natural and radioactive zinc // *Eurasian Soil Science*. – 2016. – Vol. 49, no. 8. – P. 868–878. – DOI: 10.1134/S1064229316080020.
37. Apodaca S. A., Tan W., Dominguez O. E., Hernandez-Viezcas J. A., Peralta-Videa J. R., Gardea-Torresdey J. L. Physiological and biochemical effects of nanoparticulate copper, bulk copper, copper chloride, and kinetin in kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) plants // *Science of The Total Environment*. – 2017. – Vol. 599–600. – P. 2085–2094.
38. Arendt E. K., Zannini E. Cereal grains for the food and beverage industries. – Cambridge: Woodhead Publishing Limited. – 2013. – 512 p.
39. Atha D.H., Wang H., Petersen E.J. et al. Copper oxide nanoparticle mediated DNA damage in terrestrial plant models // *Environmental science & technology*. – 2012. – Vol. 46 (3). – P. 1819–1827.
40. Awasthi A., Bansal S., Jangir L.K., Awasthi G., Awasthi K.K., Awasthi K. Effect of ZnO nanoparticles on germination of *Triticum aestivum* seeds // *Macromolecular Symposia*. – 2017. – Vol. 376, №. 1. – P. 1700043.
41. Azarin K., Usatov A., Minkina T., Duplii N., Fedorenko A., Plotnikov A., Mandzhieva S., Kumar R., Yong J. W. H., Sehar S., Rajput V. D. Evaluating the phytotoxicological effects of bulk and nano forms of zinc oxide on cellular-respiration-related indices and differential gene expression in *Hordeum vulgare* L. // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2024. – Art. 116670. – DOI: 10.1016/j.ecoenv.2024.116670.
42. Azim, Z., Singh, N. B., Singh, A., Amist, N., Niharika, Khare, S., ... & Yadav, V. (2023). A review summarizing uptake, translocation and accumulation of

nanoparticles within the plants: current status and future prospectus. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 32(2), 211–224.

43. Balažova Ľ., Babula P., Baláž M., Bačkorová M., Bujňáková Z., Briančin J., Kurmanbayeva A., Sagi M. Zinc oxide nanoparticles phytotoxicity on halophyte from genus *Salicornia* // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2018. – Vol. 130. – P. 30–42.

44. Bandyopadhyay S., Plascencia-Villa G., Mukherjee A., Rico C.M., José-Yacamán M., Peralta-Videa J.R., Gardea-Torresdey J.L. Comparative phytotoxicity of ZnO NPs, bulk ZnO, and ionic zinc onto the alfalfa plants symbiotically associated with *Sinorhizobium meliloti* in soil // *Science of The Total Environment*. – 2015. – Vol. 515–516. – P. 60–69.

45. Bartoli C. G., Buet A., Grozeff G. G., Galatro A., Simontacchi M. Ascorbate-glutathione cycle and abiotic stress tolerance in plants // *Ascorbic Acid in Plant Growth, Development and Stress Tolerance* / eds. M. A. Hossain, S. Munné-Bosch, D. J. Burritt [et al.]. – Cham: Springer, 2017. – P. 177–200. – DOI: 10.1007/978-3-319-74057-7_7.

46. Baskar V., Safia N., Sree Preethy K., Dhivya S., Thiruvengadam M., Sathishkumar R. A comparative study of phytotoxic effects of metal oxide (CuO, ZnO and NiO) nanoparticles on in-vitro grown *Abelmoschus esculentus* // *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*. – 2020. – Vol. 0, № 0. – P. 1–10.

47. Behzadi, S., Serpooshan, V., Tao, W., Hamaly, M. A., Alkawareek, M. Y., Dreaden, E. C., ... & Mahmoudi, M. (2017). Cellular uptake of nanoparticles: journey inside the cell. *Chemical society reviews*, 46(14), 4218–4244.

48. Blossi M., Albonetti S., Dondi M. et al. Microwave-assisted polyol synthesis of Cu nanoparticles // *J. Nanopart Res.* – 2011. – Vol. 13. – P. 127–138.

49. Borkow G., Zhou S.S., Page T., Gabbay J. A novel anti-influenza copper oxide containing respiratory face mask [Электронный ресурс] // *PLoS One*. – 2010. – T. 5. – №. 6. – C. e11295.

50. Carnes L.C., Klabunde K.J. The catalytic methanol synthesis over nanoparticle metal oxide catalysts // *J. Mol. Catal. A Chem.* – 2003. – Vol. 194 (1–2). – P. 227–236.
51. Chaplygin V., Mandzhieva S., Minkina T., Barahov A., Nevidomskaya D., Kizilkaya R., Rajput V. Accumulating capacity of herbaceous plants of the Asteraceae and Poaceae families under technogenic soil pollution with zinc and cadmium // *Eurasian Journal of Soil Science.* – 2020. – Vol. 9, №. 2. – P. 165–172.
52. Chen Z., Meng H, Xing G, Chen C, Zhao Y, Jia G, Wang T, Yuan H, Ye C, Zhao F, Chai Z, Zhu C, Fang X, Ma B, Wan L. Acute toxicological effects of copper nanoparticles in vivo // *Toxicology Letters.* – 2006. – Vol. 163. – P. 109–120.
53. Collin B. et al. Influence of natural organic matter and surface charge on the toxicity and bioaccumulation of functionalized ceria nanoparticles in *Caenorhabditis elegans* // *Environmental science & technology.* – 2014. – T. 48. – №. 2. – C. 1280–1289.
54. Cornelis G., Hund-Rinke K., Kuhlbusch T., Van den Brink N., Nickel C. Fate and bioavailability of engineered nanoparticles in soils: a review // *Critical Reviews in Environmental Science and Technology.* – 2014. – T. 44. – №. 24. – C. 2720–2764.
55. de la Rosa, G., Vázquez-Núñez, E., Molina-Guerrero, C., Serafin-Muñoz, A. H., & Vera-Reyes, I. (2021). Interactions of nanomaterials and plants at the cellular level: current knowledge and relevant gaps. *Nanotechnology for Environmental Engineering*, 6(1), 7.
56. Deng D., Jin Y., Cheng Y., Qi T., Xiao F. Copper nanoparticles: aqueous phase synthesis and conductive films fabrication at low sintering temperature // *ACS Applied Materials & Interfaces.* – 2013. – Vol. 5. – P. 3839–3846.
57. Deng F., Wang S., Xin H. Toxicity of CuO nanoparticles to structure and metabolic activity of *Allium cepa* root tips // *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.* – 2016. – Vol. 97. – P. 702–708.

58. Dimkpa C.O., McLean J.E., Britt D.W., Anderson A.J. Bioactivity and biomodification of Ag, ZnO, and CuO nanoparticles with relevance to plant performance in agriculture // *Industrial Biotechnology*. – 2012. – Vol. 8, №. 6. – P. 344–357.
59. Dinesh R., Anandaraj M., Srinivasan V., Hamza S. Engineered nanoparticles in the soil and their potential implications to microbial activity // *Geoderma*. – 2012. – Vol. 173–174. – P. 19–27.
60. Djanaguiraman, M., Anbazhagan, V., Dhankher, O. P., & Prasad, P. V. (2024). Uptake, translocation, toxicity, and impact of nanoparticles on plant physiological processes. *Plants*, 13(22), 3137.
61. Duan, H., Zhao, Y., Sun, W., Li, W., Siddique, K. H., Mao, H., & Zhou, L. (2026). Physicochemical Determinants of Metal-Based Nanoparticle Uptake and Translocation in Plants: A Review. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 100718.
62. Ebrahimnia-Bajestan E., Niazmand H., Duangthongsuk W., Wongwises S. Numerical investigation of effective parameters in convective heat transfer of nanofluids flowing under a laminar flow regime // *Intl. J. Heat Mass Transfer*. – 2011. – Vol. 54. – P. 4376–4388.
63. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. – 1959. – Vol. 82, no. 1. – P. 70–77. – DOI: 10.1016/0003-9861(59)90090-6.
64. Fedorenko A. G., Minkina T. M., Chernikova N. P., Fedorenko G. M., Mandzhieva S. S., Rajput V. D., Burachevskaya M. V., Chaplygin V. A., Bauer T. V., Sushkova S. N., Soldatov A. V. The toxic effect of CuO of different dispersion degrees on the structure and ultrastructure of spring barley cells (*Hordeum sativum distichum*) // *Environmental Geochemistry and Health*. 2021. Vol. 43. P. 1673–1687. DOI: 10.1007/s10653-020-00530-5.
65. Fedorenko G.M., Fedorenko A.G., Minkina T.M. et al. Method for hydrophytic plant sample preparation for light and electron microscopy (studies on *Phragmites australis* Cav.) // *MethodsX*. – 2018. – Vol.5. – P.1213–1220.

66. Festa R.A., Thiele D.J. Copper: an essential metal in biology // *Curr. Biol.* – 2011. – Vol. 21. – P. R877–R883.
67. Flohé L., Ötting F. Superoxide dismutase assays // *Methods in Enzymology.* – 1984. – Vol. 105. – P. 93–104. – DOI: 10.1016/S0076-6879(84)05013-8.
68. Forster S. P., Oliveira S., Seeger S. Nanotechnology in the market: promises and realities // *International Journal of Nanotechnology.* – 2011. – Vol. 8. – P. 592–613.
69. Gabbay J., Mishal J., Magen E. et al. Copper oxide impregnated textiles with potent biocidal activities // *J. Ind. Textil.* – 2006. – Vol. 35. – P. 323–335.
70. Gao, M., Chang, J., Wang, Z., Zhang, H., & Wang, T. (2023). Advances in transport and toxicity of nanoparticles in plants. *Journal of Nanobiotechnology*, 21(1), 75.
71. Ghosh M., Jana A., Sinha S., Jothiramajayam M., Nag A., Chakraborty A., Mukherjee A. Effects of ZnO nanoparticles in plants: cytotoxicity, genotoxicity, deregulation of antioxidant defenses, and cell-cycle arrest // *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.* – 2016. – Vol. 807. – P. 25–32.
72. Gomes S. I. L., Murphy M., Nielsen M. T., Kristiansen S. M., Amorim M. J. B., Scott-Fordsmand J. J. Cu–nanoparticles ecotoxicity – Explored and explained? // *Chemosphere.* – 2015. – Vol. 139. – P. 240–245.
73. Gunawan C., Teoh W.Y., Marquis C.P., Amal R. Cytotoxic origin of copper (II) oxide nanoparticles: comparative studies with micron-sized particles, leachate, and metal salts // *ACS Nano.* – 2011. – Vol. 5. – P. 7214–7225.
74. Guo, H., Liu, Y., Chen, J., Zhu, Y., & Zhang, Z. (2022). The effects of several metal nanoparticles on seed germination and seedling growth: A meta-analysis. *Coatings*, 12(2), 183.
75. Hänsch R., Mendel R. R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl) // *Current opinion in plant biology.* – 2009. – Vol. 12, №. 3. – P. 259–266.

76. Hartwig A. Metal interaction with redox regulation: an integrating concept in metal carcinogenesis? // *Free Radic. Biol. Med.* – 2013. – Vol. 55. – P. 3–72.
77. Haydar M.S., Alzate Zuluaga M.Y., Astolfi S., Cesco S., Pii Y. From synthesis to soil: transformations and impacts of nanoparticles in agroecosystems // *Science of the Total Environment*. — 2025. — Vol. 1000. — Art. no. 180374.
78. Hodges D. M., DeLong J. M., Forney C. F., Prange R. K. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds // *Planta*. – 1999. – Vol. 207. – P. 604–611. – DOI: 10.1007/s004250050524.
79. Hortin J. M., Anderson A. J., Britt D. W., Jacobson A. R., McLean J. E. Copper oxide nanoparticle dissolution at alkaline pH is controlled by dissolved organic matter: influence of soil-derived organic matter, wheat, bacteria, and nanoparticle coating // *Environmental Science: Nano*. – 2020. – T. 7. – №. 9. – C. 2618–2631.
80. Hussain, B., Javed, K., Ali, M., Ullah, S., Sun, S., Idris, A. M., & Singh, S. (2026). Impact of nanoparticles on biogeochemical processes in soil–plant system under heavy metals stress; exploring remediation mechanism and plant health status. *Environmental Geochemistry and Health*, 48(1), 31.
81. Islam, S. Toxicity and transport of nanoparticles in agriculture: effects of size, coating, and aging / S. Islam // *Frontiers in Nanotechnology*. — 2025. — Vol. 7. — Art. 1622228. — DOI: 10.3389/fnano.2025.1622228.
82. ISO/TR 12885:2008 Nanotechnologies – Health and safety practices in occupational settings relevant to nanotechnologies – URL: <https://www.iso.org/standard/67446.html> (дата обращения: 01.02.2019).
83. IUSS Working Group WRB. World Reference Base for Soil Resources: International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. – 4th ed. – Vienna: International Union of Soil Sciences, 2022. – 234 p. – ISBN 979-8-9862451-1-9.

84. Jia, Y., Klumpp, E., Bol, R., & Amelung, W. (2023). Uptake of metallic nanoparticles containing essential (Cu, Zn and Fe) and non-essential (Ag, Ce and Ti) elements by crops: A meta-analysis. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 53(16), 1512–1533.
85. Jorjani, S., & Karakaş, F. P. (2024). Physiological and biochemical responses to heavy metals stress in plants. *International Journal of Secondary Metabolite*, 11(1), 169–190.
86. Joško I. Copper and zinc fractionation in soils treated with CuO and ZnO nanoparticles: The effect of soil type and moisture content // *Science of The Total Environment*. – 2019. – Vol. 653. – P. 822–832.
87. Joško I. et al. Combined effect of nano-CuO and nano-ZnO in plant-related system: From bioavailability in soil to transcriptional regulation of metal homeostasis in barley // *Journal of hazardous materials*. – 2021. – T. 416. – C. 126230.
88. Kalia A., Abd-Elsalam K. A., Kuca K. Zinc-based nanomaterials for diagnosis and management of plant diseases: Ecological safety and future prospects // *Journal of fungi*. – 2020. – Vol. 6, Iss. 4. – P. 222.
89. Klaine S. J., Alvarez P. J., Batley G. E., Fernandes T. F., Handy R. D., Lyon D. Y., Mahendra S., McLaughlin M. J., Lead J. R. Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects // *Environmental Toxicology and Chemistry*. – 2008. – Vol. 27. – P. 1825–1851.
90. Knox A. S., Seaman J. C., Mench M. J., Vangronsveld J. Remediation of metal-and radionuclides-contaminated soils by in situ stabilization techniques // *Environmental restoration of metals-contaminated soils*. – 2000. – P. 21–60.
91. Kumar, P., Goud, E. L., Devi, P., Dey, S. R., & Dwivedi, P. (2022). Heavy metals: transport in plants and their physiological and toxicological effects. In *Plant metal and metalloid transporters* (pp. 23–54). Singapore: Springer Nature Singapore.

92. Kumari M., Khan S.S., Pakrashi S., Mukherjee A., Chandrasekaran N. Cytogenetic and genotoxic effects of zinc oxide nanoparticles on root cells of *Allium cepa* // *J Hazard Mater.* – 2011. – Vol. 190, № 1–3. – P. 613–621.
93. Lee C. W., Mahendra S., Zodrow K., Li D., Tsai Y.-C., Braam J., Alvarez P. J. J. Developmental phytotoxicity of metal oxide nanoparticles to *Arabidopsis thaliana* // *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2010. Vol. 29. No. 3. P. 669–675. DOI: 10.1002/etc.58.
94. Lee S., Chung H., Kim S., Lee I. The genotoxic effect of ZnO and CuO nanoparticles on early growth of buckwheat, *Fagopyrum esculentum* // *Water Air Soil Pollut.* – 2013. – Vol. 224. – P. 1–11.
95. Lee W.M., An Y.J., Yoon H., Kweon H.S. Toxicity and bioavailability of copper nanoparticles to the terrestrial plants mungbean (*Phaseolus radiatus*) and wheat (*Triticum aestivum*): plant agar test for water-insoluble nanoparticles // *Environmental Toxicology and Chemistry*. – 2008. – Vol. 27. – P. 1915–1921.
96. Levard, C. Environmental Transformations of Silver Nanoparticles: Impact on Stability and Toxicity / C. Levard, E. M. Hotze, G. V. Lowry, G. E. Brown // *Environmental Science & Technology*. — 2012. — Vol. 46, № 14. — P. 6900–6914. — DOI: 10.1021/es2037405.
97. Li, H., Ye, X., Guo, X., Geng, Z., & Wang, G. (2016). Effects of surface ligands on the uptake and transport of gold nanoparticles in rice and tomato. *Journal of hazardous materials*, 314, 188–196.
98. Li, Z., Yan, W., Li, Y., Xiao, Y., Shi, Y., Zhang, X., ... & Jiang, G. (2023). Particle size determines the phytotoxicity of ZnO nanoparticles in rice (*Oryza sativa* L.) revealed by spatial imaging techniques. *Environmental Science & Technology*, 57(36), 13356–13365.
99. Lin D., Xing B. Root Uptake and Phytotoxicity of ZnO Nanoparticles // *Environ. Sci. Technol.* – 2008. – Vol. 42, № 15. – P. 5580–5585. DOI: 10.1021/es800422x.
100. Linnik V. G., Minkina T. M., Bauer T. V., Saveliev A. A., Mandzhieva S. S. Geochemical assessment and spatial analysis of heavy metals pollution around

coal-fired power station // Environmental geochemistry and health. – 2020. – Vol. 42(12). – P 4087–4100.

101. Liu Q.M., Zhou D.B., Yamamoto Y. et al. Preparation of Cu nanoparticles with NaBH₄ by aqueous reduction method // Trans. Nonfer. Met. Soc. China. – 2012. – Vol. 22. – P. 117–123.

102. Lv, J., Christie, P., & Zhang, S. (2019). Uptake, translocation, and transformation of metal-based nanoparticles in plants: recent advances and methodological challenges. *Environmental Science: Nano*, 6(1), 41–59.

103. M. A. Amin, M. A. Rahman, M. A. Hassan. Photocatalytic degradation of organic dyes by CuO nanoparticles // Journal of Environmental Chemical Engineering. — 2013. — Vol. 1, № 4. — P. 1043–1050. — DOI: 10.1016/j.jece.2013.08.015

104. Mandzhieva S. S., Minkina T. M., Chaplygin V. A. et al. Plant contamination by heavy metals in the impact zone of Novocherkassk Power Station in the south of Russia // Journal of Soils and Sediments. – 2016. – Vol. 16. – P.1383–1391.

105. Manzanares, D., & Ceña, V. (2020). Endocytosis: the nanoparticle and submicron nanocompounds gateway into the cell. *Pharmaceutics*, 12(4), 371.

106. Minkina T. M., Mandzhieva S. S., Motuzova G. V. et al. Accumulation and distribution of heavy metals in plants within the technogenesis zone // Environmental Engineering and Management Journal. – 2014. – Vol.13. – P. 1307–1315.

107. Minkina T.M., Pinskii D.L., Zamulina I.V., Nevidomskaya D.G., Gülser C., Mandzhieva S.S., Bauer, T.V., Morozov I.V., Sushkova S.N., Kizilkaya R. Chemical contamination in upper horizon of Haplic Chernozem as a transformation factor of its physicochemical properties // Journal of Soils and Sediments. – 2018. – Vol. 18(6). – P. 2418–2430.

108. Morales M., Munné-Bosch S. Malondialdehyde: facts and artifacts // Plant Physiology. – 2019. – Vol. 180, no. 3. – P. 1246–1250. – DOI: 10.1104/pp.19.00405.

109. Mousavi Kouhi S.M., Lahouti M., Ganjeali A. et al. Comparative effects of ZnO nanoparticles, ZnO Bulk Particles, and Zn²⁺ on Brassica napus after long-term exposure: changes in growth, biochemical compounds, antioxidant enzyme activities, and Zn bioaccumulation // *Water Air Soil Pollut.* – 2015. – Vol. 226, № 11. – P. 364.
110. Mousavi Kouhi S.M., Lahouti M., Ganjeali A., Entezari M.H. Comparative phytotoxicity of ZnO nanoparticles, ZnO microparticles, and Zn²⁺ on rapeseed (*Brassica napus* L.): investigating a wide range of concentrations // *Toxicological & Environmental Chemistry.* – 2014. – Vol. 96, № 6. – P. 861–868.
111. Nair P.M.G., Chung I.M. Regulation of morphological, molecular and nutrient status in *Arabidopsis thaliana* seedlings in response to ZnO nanoparticles and Zn ion exposure // *Science of The Total Environment.* – 2017. – Vol. 575. – P. 187–198.
112. Navratilova J., Praetorius A., Gondikas A., Fabienke W., von der Kammer F., Hofmann T. Detection of engineered copper nanoparticles in soil using single particle ICP–MS // *International Journal of Environmental Research and Public Health.* – 2015. – Vol. 12. – P. 15756–15768.
113. Nazeer, A., Ahmad, F., Verma, N., & Ahmad, S. (2023). Nanomaterials and plant biomolecules: Basics of interactions. In *Targeted Delivery of Nanopesticides and Nanofertilizers in Sustainable Agricultural Farming* (pp. 9–49). Cham: Springer Nature Switzerland.
114. Nielsen M. T., Scott-Fordsmand J. J., Murphy M. W., Kristiansen S. M. Speciation and solubility of copper along a soil contamination gradient // *Journal of Soils and Sediments.* – 2015. – Vol. 15. – P. 1558–1570.
115. Oleszczuk P., Czech B., Kończak M., Bogusz A., Siatecka A., Godlewska P., Wiesner M. Impact of ZnO and ZnS nanoparticles in sewage sludge-amended soil on bacteria, plant and invertebrates // *Chemosphere.* – 2019. – Vol. 237. – P. 124359.

116. Ouzounidou G., Eleftheriou E. P., Karataglis S. Ecophysiological and ultrastructural effects of copper in *Thlaspi ochroleucum* (Cruciferae) // Canadian Journal of Botany. 1992. Vol. 70. P. 947–957.
117. Palmer C. M., Guerinot M. L. Facing the challenges of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants // Nature chemical biology. – 2009. – Vol. 5, №. 5. – P. 333–340.
118. Pandey, A. K., Zorić, L., Sun, T., Karanović, D., Fang, P., Borišev, M., ... & Xu, P. (2022). The anatomical basis of heavy metal responses in legumes and their impact on plant–rhizosphere interactions. *Plants*, 11(19), 2554.
119. Panou-Filotheou H., Bosabalidis A. M., Karataglis S. Effects of copper toxicity on leaves of oregano (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*) // Annals of Botany. 2001. Vol. 88. No. 2. P. 207–214. DOI: 10.1006/anbo.2001.1441.
120. Parveen, N., Mondal, P., Vanapalli, K. R., Das, A., & Goel, S. (2024). Phytotoxicity of trihalomethanes and trichloroacetic acid on *Vigna radiata* and *Allium cepa* plant models. *Environmental Science and Pollution Research*, 31(4), 5100–5115.
121. Patra P., Choudhury S.R., Mandal S., Basu A., Goswami A., Gogoi R., Srivastava C., Kumar R., Gopal M. Effect sulfur and ZnO nanoparticles on stress physiology and plant (*Vignaradiata*) nutrition // Advanced Nanomaterials and Nanotechnology. – Springer, Berlin, Heidelberg. – 2013. – P. 301–309.
122. Peng C., Duan D., Xu C., Chen Y., Sun L., Zhang H., Yuan X., Zheng L., Yang Y., Yang J., Zhen X., Chen Y., Shi J. Translocation and biotransformation of CuO nanoparticles in rice (*Oryza sativa* L.) plants // Environmental Pollution. 2015. Vol. 197. P. 99–107. DOI: 10.1016/j.envpol.2014.12.008.
123. Perevolotskaya T. V., Anisimov V. S. Conceptual and mathematical statement of the process of heavy metals migration in the system “soil–agricultural plant” // Biogeosystem Technique. 2018. Vol. 5, no. 1. P. 110–128. DOI: 10.13187/bgt.2018.1.110.
124. Pinskii D. L., Iovcheva A. D., Minkina T. M., Bauer T. V., Nevidomskaya D. G., Shuvaeva V. A., Mandzhieva S. S., Tsitsuashvili V. S.,

Burachevskaya M. V., Chaplygin V. A., Barakhov A. V., Veligzhanin A. A., Svetogorov R. D., Khramov E. V. Identification of Heavy Metal Compounds in Technogenically Transformed Soils Using Sequential Fractionation, XAFS Spectroscopy, and XRD Powder Diffraction // *Eurasian Soil Science*. — 2022. — Vol. 55, № 5. — P. 613–626

125. Prasad T., Sudhakar P., Sreenivasulu Y., Latha P., Munaswamy V., Raja Reddy K., Sreeprasad T.S., Sajanlal P.R., Pradeep T. Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut // *Journal of plant nutrition*. — 2012. — Vol. 35, №. 6. — P. 905–927.

126. Priester J.H., Ge Y., Mielke R.E., Horst A.M., Moritz S.C., Espinosa K., et al. Soybean susceptibility to manufactured nanomaterials with evidence for food quality and soil fertility interruption // *PNAS*. — 2012. — Vol. 109, № 37. — P. E2451–E2456.

127. Pueyo M., Mateu J., Rigol A., Vidal M., López-Sánchez J. F., Rauret G. Use of the modified BCR three-step sequential extraction procedure for the study of trace element dynamics in contaminated soils // *Environmental Pollution*. — 2008. — Vol. 152. — P. 330–341. — DOI: 10.1016/j.envpol.2007.06.020.

128. Qafoku N.P. Terrestrial nanoparticles and their controls on soil-/geo-processes and reactions // *Adv. Agron.* — 2010. — Vol. 107. — P. 33–91.

129. Rajput V. D., Minkina T. M., Ahmed B., Sushkova S. S., Singh R., Soldatov M. A., Laratte B., Fedorenko A. G., Mandzhieva S. S., Blicharska E., Musarrat J., Saquib Q., Flieger J., Gorovtsov A. V. Interaction of copper-based nanoparticles to soil, terrestrial, and aquatic systems: critical review of the state of the science and future perspectives // *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 2020. Vol. 252. P. 51–96. DOI: 10.1007/398_2019_34.

130. Rajput V. D., Minkina T. M., Fedorenko A. G., Sushkova S. S., Mandzhieva S. S., Lysenko V. S., Duplii N. V., Fedorenko G. M., Dvadenko K. V., Ghazaryan K. A. Toxicity of copper oxide nanoparticles on spring barley (*Hordeum sativum distichum*) // *Science of the Total Environment*. 2018. Vol. 645. P. 1103–1113. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.07.211.

131. Rajput, V. D. Fate and transformation of CuO nanoparticles in different soil types / V. D. Rajput et al. // *Journal of Hazardous Materials*. — 2017. — Vol. 338. — P. 234–242.
132. Ramesh M., Palanisamy K., Babu K., Sharma N. K. Effects of bulk & nano-titanium dioxide and zinc oxide on physio-morphological changes in *Triticum aestivum* linn // *J. Glob. Bio.* – 2014. – Vol. 3, № 2. – P. 415–422.
133. Rani, S., Kumari, N., & Sharma, V. (2023). Uptake, translocation, transformation and physiological effects of nanoparticles in plants. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 69(9), 1579–1599.
134. Sarkar, M. M., Mathur, P., Mitsui, T., & Roy, S. (2022). A review on functionalized silica nanoparticle amendment on plant growth and development under stress. *Plant Growth Regulation*, 98(3), 421–437.
135. Sau T.K., Rogach A.L., Jäckel F. et al. Properties and applications of colloidal nonspherical noble metal nanoparticles // *Adv. Mater.* – 2010. – Vol. 22(16). – P. 1805–1825.
136. Serbula S. M., Milljkovic D. D. J., Kovacevic R. M., Ilic A. A. Assessment of airborne heavy metal pollution using plant parts and topsoil // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2012. – Vol. 76. – P. 209–214.
137. Shemawar; Mahmood, A.; Hussain, S.; Mahmood, F.; Iqbal, M.; Shahid, M.; Ibrahim, M.; Ali, M.A.; Shahzad, T. Toxicity of Biogenic Zinc Oxide Nanoparticles to Soil Organic Matter Cycling and Their Interaction with Rice-Straw Derived Biochar. *Sci. Rep.* 2021, 11, 8429
138. Shi J. et al. Effects of copper oxide nanoparticles on paddy soil properties and components // *Nanomaterials*. – 2018. – Vol. 8. – №. 10. – P. 839.
139. Shigeoka S., Onishi T., Nakano Y., Kitaoka S. Characterization and physiological function of glutathione reductase in *Euglena gracilis* Z // *Biochemical Journal*. – 1987. – Vol. 242, no. 2. – P. 511–515. – DOI: 10.1042/bj2420511.
140. Shukla, P. K., Misra, P., & Kole, C. (2016). Uptake, translocation, accumulation, transformation, and generational transmission of nanoparticles in plants. *Plant nanotechnology: Principles and practices*, 183–218.

141. Singh A., Prasad S.M., Singh S. Impact of nano ZnO on metabolic attributes and fluorescence kinetics of rice seedlings // *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*. – 2018. – Vol. 9. – P. 42–49.
142. Singh B., Singh K. Microbial degradation of herbicides // *J. Crit. Rev. Microbiol.* - 2016. - Vol. 42 (2). - P. 245–261.
143. Sparks, D. L. *Environmental Soil Chemistry* / D. L. Sparks. — 2nd ed. — San Diego : Academic Press, 2003.
144. Stampoulis D., Sinha S.K., White J.C. Assay-dependent phytotoxicity of nanoparticles to plants // *Environmental science & technology*. – 2009. – Vol. 43(24). – P. 9473–9479.
145. Strawn D. G., Baker L. L. Molecular characterization of copper in soils using X-ray absorption spectroscopy // *Environmental Pollution*. – 2009. – Vol. 157. – P. 2813–2821.
146. Sturikova H., Krystofova O., Huska D., Adam V. Zinc, zinc nanoparticles and plants // *Journal of hazardous materials*. – 2018. – Vol. 349. – P. 101–110.
147. Tessier, J. P. Sorption of heavy metals by soils: Role of iron and manganese oxides and organic matter / J. P. Tessier // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. — 1989. — Vol. 53, No. 5. — P. 1127–1137.
148. Upadhyaya, G., & Roychoudhury, A. (2024). Potential of silver and zinc nanoparticles in mediating abiotic stress tolerance in crop plants. In *Metal and Metal-Oxide Based Nanomaterials: Synthesis, Agricultural, Biomedical and Environmental Interventions* (pp. 157–177). Singapore: Springer Nature Singapore.
149. Ure A. M., Quevauviller P., Muntau H., Griepink B. Speciation of heavy metals in soils and sediments: an account of the improvement and harmonization of extraction techniques undertaken under the auspices of the BCR of the Commission of the European Communities // *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. – 1993. – Vol. 51. – P. 135–151. – DOI: 10.1080/03067319308027619.

150. Valko M., Morris H., Cronin M. T. Metals, toxicity and oxidative stress // *Current Medicinal Chemistry*. – 2005. – Vol. 12. – P. 1161–1208.
151. Wan J., Wang R., Wang R., Ju Q., Wang Y., Xu J. Comparative Physiological and Transcriptomic Analyses Reveal the Toxic Effects of ZnO Nanoparticles on Plant Growth // *Environ. Sci. Technol.* – 2019. – Vol. 53, № 8. – P. 4235–4244.
152. Wang X., Yang X., Chen S., Li Q., Wang W., Hou C., et al. Oxide Nanoparticles Affect Biomass Accumulation and Photosynthesis in Arabidopsis // *Front. Plant Sci.* – 2016. – Vol. 6.
153. Wang X.P., Li Q.Q., Pei Z.M., Wang S.C. Effects of zinc oxide nanoparticles on the growth, photosynthetic t WRB ts, and antioxidative enzymes in tomato plants // *Biol Plant.* – 2018. – Vol. 62, № 4. – P. 801–808.
154. Wang Z.X., Zhao J., Liu X., Feng W., White J.C., Xing B. Xylem-and phloem-based transport of CuO nanoparticles in maize (*Zea mays* L.) // *Environ. Sci. Technol.* – 2012. – Vol. 46. – P. 4434–4441.
155. Wang, X., Xie, H., Wang, P., & Yin, H. (2023). Nanoparticles in plants: uptake, transport and physiological activity in leaf and root. *Materials*, 16(8), 3097.
156. Wohlmuth, J., Tekielska, D., Čechová, J., & Baránek, M. (2022). Interaction of the nanoparticles and plants in selective growth stages—usual effects and resulting impact on usage perspectives. *Plants*, 11(18), 2405.
157. Yavas, I., din, K. U., Hussain, S., Naeem, M. S., Albadrani, G. M., Muneeba, ... & Surmen, M. (2025). Uptake and Transport of Nanoparticles in Plants. *Plant Nanotechnology Fundamentals and Methodologies*, 99–121.
158. Zahra Z., Habib Z., Hyun H., Shahzad H. M. A. Overview on recent developments in the design, application, and impacts of nanofertilizers in agriculture // *Sustainability*. – 2022. – T. 14. – №. 15. – C. 9397.
159. Zhang W. et al. Effect of metal oxide nanoparticles on the chemical speciation of heavy metals and micronutrient bioavailability in paddy soil // *International journal of environmental research and public health*. – 2020. – T. 17. – №. 7. – C. 2482.

160. Zhang, C., Wang, J., & Gao, Y. (2017). Fate and transport of engineered nanoparticles in soil: A review. *Science of the Total Environment*, 595, 312–323.
161. Zhang, H. Y., & Su, W. H. (2024). Classification, uptake, translocation, and detection methods of nanoparticles in crop plants: a review. *Environmental Science: Nano*, 11(5), 1847–1870.
162. Zhang, X. Transformation of copper nanoparticles in soils / X. Zhang et al. // *Environmental Science & Technology*. — 2011. — Vol. 45, No. 12. — P. 5245–5251.
163. Zhao Y., Chen Y., Li H., Lu J. Influence of seed coating with copper, iron and zinc nanoparticles on growth and yield of tomato // *IET Nanobiotechnology*. — 2021. — Vol. 15, Iss. 8. — P. 674-679.
164. Zhao, F., Zhao, Y., Liu, Y., Chang, X., Chen, C., & Zhao, Y. (2011). Cellular uptake, intracellular trafficking, and cytotoxicity of nanomaterials. *small*, 7(10), 1322–1337.
165. Zhao, L., Peralta-Videa, J. R., Ren, M., Varela-Ramirez, A., Li, C., Hernandez-Viezcas, J. A., ... & Gardea-Torresdey, J. L. (2012). Transport of Zn in a sandy loam soil treated with ZnO NPs and uptake by corn plants: Electron microprobe and confocal microscopy studies. *Chemical Engineering Journal*, 184, 1–8.
166. Zhuikova T. V., Meling E. V., Kaigorodova S. Yu., Bezel V. S., Gordeeva V. A. Specific features of soils and herbaceous plant communities in industrially polluted areas of the Middle Urals // *Russian Journal of Ecology*. 2015. Vol. 46, no. 3. P. 213–221. DOI: 10.1134/S1067413615030133.
167. Zong Y., Xiao Q., Lu S.G. Distribution, bioavailability, and leachability of heavy metals in soil particle size fractions of urban soils (northeastern China) // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2016. – Vol. 23. – P. 14600–14607.