

СУСПЕНЗИЯ ГРАФЕНА В КАЧЕСТВЕ РЕГУЛЯТОРА РОСТА РАСТЕНИЙ Апашева Л.М.¹, Дмитриев А.С.³, Лобанов А.В.¹, Михайлова И.А.³, Рубцова Н.А.¹, Савранский В.В.²

¹ ФИЦ химической физики им Н.Н. Семенова РАН

ул. Косыгина, 4, г. Москва, РФ

² ФИЦ Институт общей физики им. А.М. Прохорова РАН

ул. Вавилова, 38, г. Москва, РФ

³ Национальный исследовательский университет «МЭИ»

ул. Красноказарменная, 14, г. Москва, РФ

Поступила в редакцию: 15.07.2021

Аннотация. Изучалось стимулирующее действие малых доз графена (0,2 мг/л, 2 мг/л и 20 мг/л) на растения двух видов: кукурузы и огурца – в отношении которых ранее проводились исследования стимуляции более высокими дозами и угнетение еще более высокими дозами углеродных наноматериалов. Применяемый в нашем исследовании графен получен оригинальным суперкавитационным способом и охарактеризован стандартными методами: электронной микроскопией и методом комбинационного рассеяния света. Спектры комбинационного рассеяния света свидетельствовали о наличии нанопластин толщиной от 1 до 5 атомных слоев углерода. Максимальное стимулирующее действие графена проявилось при концентрации графена в водной суспензии 20 мг/л. При концентрации 0,2 мг/л стимулирующее действие не обнаружено.

Ключевые слова: графен, суперкавитация, *Zea Mays*, *Cucumis*.

Способы получения графена совершенствуются с целью достижения снижения цены производства, простоты процесса, выхода и однородности продукта. Известны способы расслоения графена механические, химические, химического осаждения из паровой фазы, эпитаксиальный метод, смыв с поверхности, и т.д. [1] При химическом расслоении между слоями графита внедряют крупные ионы щелочных металлов, синтез графена проводится из окиси графита, который расслаивают в растворе до окиси графена и затем восстанавливают до графена.

Впервые графен был получен (и охарактеризован) в виде небольших чешуек размером нескольких микрон путем механического расслоения графита с помощью скотча. После отслоения графита на ленте остается многослойный графен. При повторном и дальнейшем отслаивании многослойный графен раскалывается на несколько чешуек истинного монослойного графена. Возможно механическое расслоение графита с использованием кантилевера атомного силового микроскопа; метод позволяет изготавливать «графен - графит» до 30 слоев.

Настоящий бум развития технологий, основанных на выдающихся свойствах углеродных наночастиц ставит вопросы о воздействии их на живые организмы [2] и возможности ремедиации загрязненных почв при помощи растений. Поскольку такие исследования на разных видах и при различных концентрациях дают противоположные результаты (стимуляция и угнетение), интересно сопоставить действие частиц графена, полученных нашим способом с этими известными работами: будут ли отличаться концентрации контрастного действия на тех же видах растений при воздействии частиц, полученных нашим способом, до каких пределов минимальных концентраций стоит проводить ремедиацию почв.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В опытах использовали нанопластины графена, полученные суперкавитационным способом. Получение нанопластин графена производили в кавитационной камере путем расщепления графитовых частиц размером 1 мм вдоль кристаллографических плоскостей за счет эффектов сдвиговых напряжений в высокодеионизированной воде с последующим ультразвуковым воздействием на образующиеся графеновые пластины для дополнительного уменьшения числа атомных углеродных слоев. Проведенная электронная микроскопия показала широкий спектр размеров наночастиц графена в пределах от единиц нанометров до десятков микрометров.

В наших работах использована суспензия нанопластин графена в деионизированной воде, которую фильтровали стальной сеткой с ячейками 2,5 мкм.

Электронный элементный состав не обнаружил наличия в пределах одного процента посторонних элементов, кроме углерода. На электроннограмме элементного состава (рис.1) применяемого в наших опытах графена видны кроме основной углеродной линии также кислородная линия и справа от нее слабый фон.

Спектры комбинационного рассеяния света свидетельствовали о наличии нанопластин толщиной от 1 до 5 атомных слоев углерода.

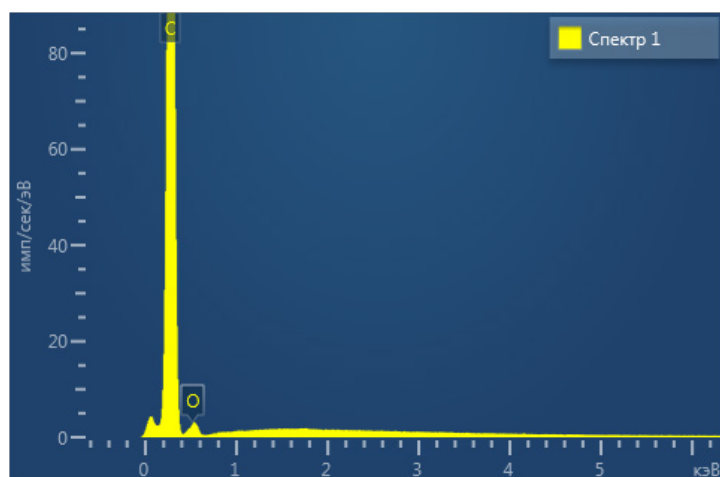


Рисунок 1. Электроннограмма графена

Для изучения способности суспензии графена воздействовать на растения отобраны семена огурца сорт Конкурент и кукурузы сорт Песня. Семена этих растений отличаются разным типом прорастания: у огурца – с выносом семядоли на поверхность грунта, у кукурузы – подземный тип прорастания. Для более четкого выявления рострегулирующей активности суспензии графена выбраны семена пониженной всхожести в результате длительного хранения (контрольная всхожесть для семян огурца – 29%, для семян кукурузы – 21%). Семена проращивали в термостате при температуре +20⁰ С на увлажненных фильтрах. Мы применяли исходную суспензию в различных разведениях. В этом случае концентрация – единственный параметр, который мы изменяем и по которому сопоставляем с данными, полученными при изучении воздействия на растения различных видов графена.

В контроле фильтры увлажняли водой, в опыте О₁ использовали исходную суспензию графена 20 мг/л; в О₁₀ разведение суспензии в 10 раз, в О₁₀₀ разведение в 100 раз. На третьи сутки вели учет количества проросших семян. Далее растения доращивали в фитотроне с контролируемым освещением для наблюдения за последующим развитием проростков.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Наибольший эффект стимуляции прорастания отмечен при использовании исходной суспензии графена без разведения. Количество проросших семян огурца и кукурузы превышало контрольные значения в О₁ для кукурузы 41%, для огурца 29%. При значении концентрации графена 2 мг/л отмечено превышение контрольных значений на 25% и 19% соответственно (таблица 1). При концентрации графена 0,2 мг/л отличия от контроля не обнаружено.

Дальнейшее выдерживание проросших семян в течение 6 часов в фитотроне показало различия в развитии у опытных по сравнению с контрольными растениями. На рисунке 1 приведены фото этих проростков, на которых видно, что у кукурузы гипокотили, в случае проращивания в среде с графеном при концентрации 20 мг/л, визуально толще и длиннее на 18±5% по сравнению с более извилистыми и тонкими гипокотелями, выращенными на воде. Как у огурца, так и у кукурузы, зеленение проростков в опыте происходит активнее, то есть и дальнейшее развитие проростков стимулируется графеновой суспензией с данной концентрацией графена.

Таким образом, суспензия графена, полученная описанным способом, может быть отнесена к регуляторам роста растений.

Действие углеродных наноматериалов на растения огурца.

Известно, что оксид графена на серебряных частицах AgGO [3] при концентрациях 0,8 мг/мл (80 мг/л) подавлял рост проростков огурца. В других опытах рост корней огурца при воздействии углеродных однослойных нанотрубок наблюдался при их кратковременном воздействии в течение 24 и 48 часов в концентрациях 104, 315 и 1750 мг/л [4]. При этом однодневное воздействие было более эффективным, чем

Таблица 1. Процент всхожести семян растений, проросших на воде и на суспензиях графена

Концентрация графена	20 мг/л	2мг/л	0,2мг/л	0
Zea Mays	62±4%	46±5%	22±6%	21±6%
Cucumis	58±3%	48±4%	28±6%	29±5%

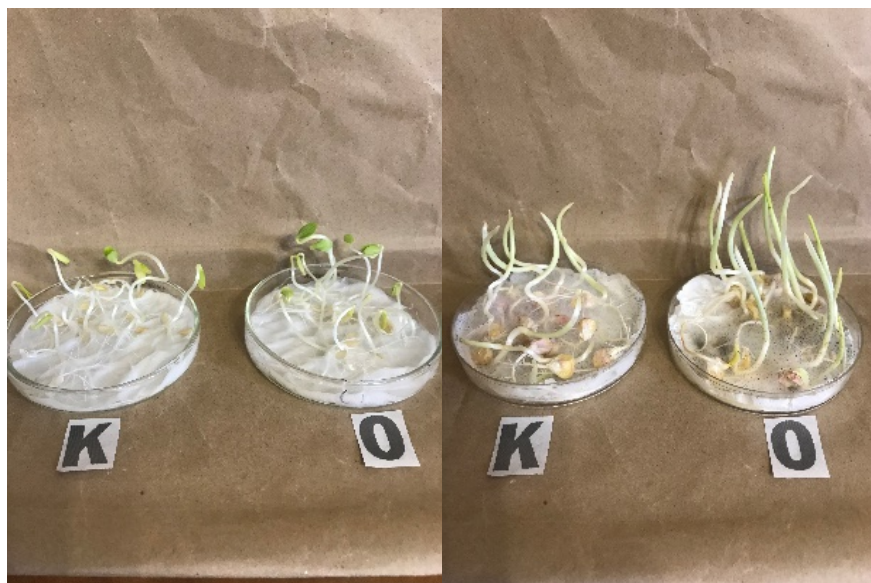


Рисунок 2. Огурцы (слева) и кукуруза, пророщенные в контроле (К) на воде, в опыте (О) на суспензии графена 20 мг/л

двухдневное. Показано, что нанотрубки не проникали внутрь, а остались на поверхности корня. Однако, у других видов – в случае растений риса, например, было показано, что углеродные наноматериалы проникают внутрь проростков [5]. При оптической микроскопии наблюдали у пророщенных в присутствии углеродных наночастиц черные агрегаты С 70 в семенах и корнях, но реже в стеблях и листьях.

Действие углеродных наноматериалов на растения кукурузы.

Повышение эффективности прорастания семян кукурузы под действием сульфидированного графена при концентрации 50 мг/л (0,05мг/мл) показано в работе [6]. Обработка корней проростков кукурузы сульфидированным графеном в концентрации 20, 25, 33, 50 мг/л, приводила к их разрастанию с максимумом эффекта при 50 мг/л, а концентрация 100 мг вызывала ингибирование роста проростков [7]. Такое действие различных концентраций агента привело авторов упомянутого исследования, по аналогии с гормезисом, к гипотезе о механизме воздействия через образование АФК на поверхности углеродных наночастиц. Кроме того, было показано повышение концентрации супероксид аниона и пероксида водорода в обработанной графеном хвое листовницы [8].

Наши результаты изучения действия суспензии графена в концентрации 20 мг/л на растения огурца и кукурузы детализируют и дополняют известные данные по воздействию на растения кукурузы и огурца основанных на графене материалов при действии растворов с низкой концентрацией. Теперь этот ряд выглядит так: 0 ~ 0,2 г/л - нет эффекта, 2 мг/л ~ 50мг/л - стимуляция прорастания и роста с увеличением эффекта при повышении концентрации графена, 80 мг/л для огурца и 100мг/л для кукурузы - подавление прорастания и ингибирование роста растений. Дальнейшие исследования, по мере накопления данных, покажут степень справедливости гипотезы о роли АФК в регуляции роста растений. Напрямую ли АФК стимулируют рост, являясь регулятором роста, либо путем изменения проницаемости мембран или просто оболочек семян, включают ли они общие механизмы реакции на стресс, изменяют ли они активность ферментов. На эти вопросы ответы должны быть получены при последующих экспериментах.

Список литературы/References:

1. Bhuyan M.S.A., Uddin M.N., Islam M.M., Bipasha F.A., Hossain S.S. Synthesis of graphene. *Int Nano Lett*, 2016, vol. 6, pp. 65-83. doi: 10.1007/s40089-015-0176-1
2. Wang Qinghai, Li Cui, Wang Yu, Que Xiaoe. Phytotoxicity of Graphene Family Nanomaterials and Its Mechanisms: A Review. *Frontiers in Chemistry*, 2019, vol. 7, 292. doi: 10.3389/fchem.2019.00292
3. Kim M.-J., Kim W., Chung H. *Effects of silver-graphene oxide on seed germination and early growth of crop species*. doi: 10.7717/peerj.8387
4. Canas J.E., Long M., Nations S., Vadan R., Dai L., Luo M., Ambikapathi R., Lee E.H., Olszyk D. Effects of functionalized and nonfunctionalized single-walled carbon nanotubes on root elongation of select crop species. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2008, vol. 27, no. 9 pp. 1922-1931. doi: 10.1897/08-117.1

5. Lin S., Reppert J., Hu Q., Hudson J.S., Reid M.L., Ratnikova T.A., Rao A.M., Luo Z-H., Ke P.C. Uptake, translocation, and transmission of carbon nanomaterials in rice plants. *Small*, 2009, vol. 5, no. 10, pp. 1128-1132. doi: 10.1002/smll.200801556
6. Chen Z., Zhao J., Song J., Han S., Du Y., Qiao Y., Liu Z., Qiao J., Li W., Li J., Wang H., Xing B., Pan Q. Influence of graphene on the multiple metabolic pathways of *Zea mays* roots based on transcriptome analysis. *PLoS ONE*, 2021, vol. 16, no. 1, p. 0244856. doi: 10.1371/journal.pone.024485
7. Ren W., Chang H., Teng Y. Sulfonated graphene-induced hormesis is mediated through oxidative stress in the roots of maize seedlings. *The Science of the Total Environment*, 2016, vol. 572, pp. 926-934. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.07.214.
8. Song J., Cao K., Duan C., Luo N., Cui X. Effects of Graphene on *Larix olgensis* Seedlings and Soil Properties of Haplic Cambisols in Northeast China. *Forests*, 2020, vol. 11, p. 258. doi: 10.3390/f11030258

GRAPHENE SUSPENSION AS A PLANT GROWTH REGULATOR

Apasheva L.M.¹, Dmitriev A. C.³, Lobanov A.V.¹, Mikhailova I. A.³, Rubtsova N. A.¹, Savransky V.V.²

¹ N.N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics Russian Academy of Sciences.

Kosygin st.4, Moscow, Russia

² Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences.

Vavilov st. 38, Moscow, Russia

³ National Research University Moscow Power Engineering Institute MPEI.

Krasnokazarmennaya st.14, Moscow, Russia

Abstract. A stimulating effect has been studied of low doses of graphene (0.2 mg/l, 2 mg/l and 20 mg/l) on two species – corn and cucumber plants. (Earlier, these species had already been studied regarding stimulation by higher doses, and suppression by even higher doses, of carbon nano-materials.) The graphene used was obtained by original supercavitation method and was characterized by electron microscopy and by the Raman scattering. The spectra of the Raman scattering indicated the presence of 1 to 5 carbon atomic layers thick nanoplates. In this investigation, the maximum stimulating effect of graphene was revealed at the graphene concentration of 20 mg/l in an aqueous suspension. At the concentration of 0.2 mg/l no stimulating effect has been detected.

Key words: *Graphene, Supercavitation, Zea Mays, Cucumis.*