



ВЛИЯНИЕ ОКСИДА ГРАФЕНА НА МИКРОКЛОНЫ БЕРЕЗЫ ПУШИСТОЙ НА СТАДИИ АДАПТАЦИИ

Наталья С. Стрекалова¹, kotova-ns@yandex.ru, 0000-0002-6723-3074

Ольга В. Захарова^{1,2,3}, olgazakharova1@mail.ru, 0000-0001-8590-2529

Петр А. Баранчиков¹, petrov4-98@yandex.ru, 0000-0003-0565-3724

Александр А. Гусев^{1,2,4} ✉, nanosecurity@mail.ru, 0000-0002-8699-9112

¹ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный университет имени Г.Р. Державина», ул. Интернациональная, 33, г. Тамбов, 392000, Россия

²ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Ленинский пр-т, 4, г. Москва, 119991, Россия

³ФГБОУ ВО «Российский экономический университет имени Г. В. Плеханова», Стремянный пер., 36, г. Москва, 117997, Россия

⁴ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова», ул. Тимирязева, 8, г. Воронеж, 394087, Россия

В работе проведено исследование влияния оксида графена на регенеранты березы пушистой при переносе их в нестерильные тепличные условия (стадия адаптации) при клональном микроразмножении. В ходе эксперимента установлено, что раствор оксида графена в концентрации 1,5 мкг/л оказывал благоприятное влияние на развитие листьев и адаптируемость растений (+ 8 %). Однако при повышении концентрации наноматериала до 3 мкг/л выживаемость снижалась на 10 % относительно контроля, высота растений – на 25 %, а число адаптированных растений – на 35 %. Кроме того, общее состояние проростков данной группы оценивалось только на 3 балла по 5-балльной шкале. Исследование содержания оксида графена в органах растений не выявило выраженных очагов скопления, что может говорить об опосредованном действии наноматериала на растения через изменение условий внешней среды, например, доступности корневого питания или состава микробиоты в прикорневой зоне. Механизмы эколого-биологического воздействия углеродных наноматериалов на растения до конца не известны и требуют дальнейших углубленных исследований.

Ключевые слова: оксид графена, биологическое воздействие, древесные культуры, *Bétula pubéscens*, бионакопление

Благодарности: Проект частично поддержан Министерством науки и высшего образования РФ (проект RFMEFI57417X0159).


Авторы благодарят рецензентов за вклад в экспертную оценку статьи.


Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.


Для цитирования: Влияние оксида графена на микроклоны березы пушистой на стадии адаптации / Н. С. Стрекалова, О. В. Захарова, П. А. Баранчиков, А. А. Гусев // Лесотехнический журнал. – 2021. – Т. 11. – № 2 (42). – С. 48–58. – Библиогр.: с. 55–57 (26 назв.). – DOI: <https://doi.org/10.34220/issn.2222-7962/2021.2/5>.



Поступила: 12.05.2021 **Принята к публикации:** 28.06.2021 **Опубликована онлайн:** 01.07.2021

INFLUENCE OF GRAPHENE OXIDE ON MICROCLONES OF DOWNY BIRCH AT THE ADAPTATION STAGE

Natalia S. Strekalova¹, kotova-ns@yandex.ru,  0000-0002-6723-3074

Olga V. Zakharova^{1,2,3}, olgazakharova1@mail.ru,  0000-0001-8590-2529

Peter A. Baranchikov¹, petrovi4-98@yandex.ru,  0000-0003-0565-3724

Alexander A. Gusev^{1,2,4} , nanosecurity@mail.ru,  0000-0002-8699-9112

¹Derzhavin Tambov State University, 33, International st, Tambov, 392000, Russian Federation

²National Research Technological University (MISiS), Leninsky Prospekt, 4, Moscow, 119991, Russian Federation

³Plekhano Russian University of Economics, 36, Stremyanny per., Moscow, 117997, Russian Federation

⁴Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov, 8, Timiryazeva street, Voronezh, 394087, Russian Federation

Abstract

In this work, we studied the effect of graphene oxide on regenerants of downy birch when transferred to non-sterile greenhouse conditions (adaptation stage) during clonal micropropagation. During the experiment, it was found that a solution of graphene oxide at a concentration of 1.5 $\mu\text{g} / \text{l}$ had a beneficial effect on the development of leaves and plant adaptability (+ 8 %). However, with an increase in the concentration of nanomaterial to 3 $\mu\text{g} / \text{L}$, the survival rate decreased by 10 %, the plant height – by 25 %, and the number of adapted plants – by 35 % relative to the control group. In addition, general condition of the seedlings of this group was assessed only by 3 points on a 5-point scale. The study of the content of graphene oxide in plant organs did not reveal pronounced foci of accumulation, which may indicate an indirect effect of nanomaterial on plants through changes in environmental conditions, for example, the availability of root nutrition or the composition of microbiota in the root zone. The mechanisms of ecological and biological impact of carbon nanomaterials on plants are not fully known and require further in-depth research.

Keywords: graphene oxide, biological effects, woody plantations, *Bétula pubéscens*, bioaccumulation.

Acknowledgments: The project was partially supported by the Ministry of Science and Education of Russian Federation (project RFMEFI57417X0159).

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Strekalova N. S., Zakharova O. V., Baranchikov P. A., Gusev A. A. (2021) Influence of graphene oxide on downy birch microclones at the adaptation stage. *Lesotekhnicheskii zhurnal* [Forest Engineering journal], Vol. 11, No. 2 (42), pp. 48-58 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.34220/issn.2222-7962/2021.2/5>.

Received: 12.05.2021 **Accepted for publication:** 28.06.2021 **Published online:** 01.07.2021

Введение

Производные графена широко используются в различных областях, включая накопление энергии, наноэлектронные устройства и батареи, био-медицинские приложения, биосенсоры, визуализацию клеток, доставку лекарств и тканевую инжене-

рию [1-3]. Графеноподобные материалы могут служить «строительной платформой» для конструирования различных супрамолекулярных продуктов, которые имеют целый ряд потенциальных практических применений [4].

Оксид графена представляет собой соединение углерода, кислорода и водорода в различных соотношениях, полученное обработкой графита сильными окислителями. Обилие гидрофильных кислородосодержащих групп на поверхности делает его хорошо диспергируемым в полярных растворителях, в частности, в воде [5]. Это делает данный материал очень перспективным для медицинских и биотехнологических приложений, так как, с одной стороны, гидрофильность чешуек оксида графена повышает его биодоступность, а с другой, наличие многочисленных =O, –ОН и –COOH групп на поверхности облегчает функционализацию наноматериала биоактивными молекулами (антибиотиками, нуклеиновыми кислотами и т.д.).

Перспективным является использование оксида графена в сельском хозяйстве и биотехнологиях для стимуляции роста и защиты растений [6-8].

В то же время имеются работы, показывающие токсическое действие оксида графена по отношению к растениям. Так, Рен с соавторами показали ингибирующее действие наноматериала в концентрации 500 мг/л на проростки кукурузы, сопровождаемое изменением концентрации Ca^{2+} , продукцией АФК и перекисным окислением липидов [9]. При сравнении эффектов оксида графена и графена, модифицированного амином (G-NH₂), было обнаружено, что в высоких концентрациях (500, 1000 и 2000 мг/л) оксид графена ингибировал процесс прорастания пшеницы и рост проростков, в то время как такие же дозы G-NH₂ оказывали положительное воздействие. Под воздействием оксида графена увеличивалась потеря электролитов корнями, что свидетельствует о фитотоксичности этого типа наноматериала в высоких дозировках [10]. По данным Вочиты и коллег [11], прорастание семян пшеницы подавлялось высокой дозой оксида графена (2000 мг/л), и при этой концентрации также наблюдалось небольшое угнетение удлинения корня. Помимо этого, увеличение числа хромосомных aberrаций и митотических аномалий указывает на генотоксические эффекты оксида графена в корневой меристеме пшеницы.

Несмотря на наличие работ по оценке влияния оксида графена на сельскохозяйственные растения, исследований, показывающих воздействие

оксида графена на древесные культуры, играющие важную роль в наземных экосистемах, в открытом доступе не представлено, что обуславливает актуальность настоящего исследования. В представляемой работе показаны результаты исследования по оценке влияния оксида графена на проростки березы пушистой на этапе адаптации к нестерильным условиям теплицы.

Береза является популярным объектом для культивирования, т. к. находит широкое применение в лесовосстановлении и озеленении [12, 13].

Материалы и методы

Получение и исследование наноматериала. Наночастицы оксида графена (GO) были получены методом Хаммерса [14], путем химической эксфолиации графита. Исследование наноматериала проводили с помощью спектроскопии комбинационного рассеяния на Рамановском микроскопе Thermo DXR (Thermo Scientific, США) с лазером 532 нм при мощности 1 мВт через объектив 100х, сканирующей электронной микроскопии на микроскопе Vega3, Tescan (Чешская Республика) и атомно-силовой микроскопии на приборе AIST-NT (AIST-NT, Россия) в полуконтактном режиме с насадками NTMDT AFM.

Биологическое исследование. В работе использовались регенеранты березы пушистой, полученные путем клонального микроразмножения, на этапе их адаптации к условиям теплицы. На этапах введения в культуру, мультипликации и укоренения использовали питательные среды, также содержащие оксид графена в различных концентрациях. Установлено негативное влияние наноматериала на проростки в дозе более 3 мкг/л, в то же время при 1,5 мкг/л отмечены положительные эффекты [15, 16]. В связи с этим на этапе адаптации растений были использованы концентрации наноматериала 1,5 и 3 мкг/л. В эксперименте использовали выровненные растения, имеющие 4-5 листьев и корневую систему длиной не менее 2 см. Проростки высаживали в технологические кассеты (объем ячейки – 155 мл), наполненные увлажненным почвенным субстратом. Субстрат состоял из нейтрального торфа и перлита в соотношении 3:1. Растения культивировались в условиях парника в течение трёх недель при температуре 20-24 °С,

15-часовом фотопериоде, освещённости 4500 Люкс, относительной влажности воздуха 80-90 %. Для создания условий повышенной влажности в парнике применялась туманообразующая установка. Обработку проводили водными растворами оксида графена, полученными разведением исходной суспензии наноматериала дистиллированной водой до нужных концентраций. Обработку проводили в момент высадки и спустя 1,5 недели, путем введения препаратов под корень (100 мл раствора на ячейку). В качестве контролей использовались дистиллированная вода и ростовой стимулятор 2,4-эпибрассинолид, выпускаемый под коммерческим названием «Эпин» (Россия). В ходе исследования проводили учет следующих показателей: количество выживших растений, количество растений, адаптированных к нестерильным условиям, морфометрические параметры побегов (высота растений, число листьев, число увядших листьев, количество дополнительных побегов, состояние по пятибалльной шкале).

Эксперимент проводился в трёхкратной повторности, количество растений в каждой из 4 групп («Контроль», «Эпин», «GO 1 мкг/л» и «GO 3 мкг/л») составляло 30, выборки имели независимый характер. Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программы Microsoft Excel 2010 (пакет «Описательная статистика») с применением однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), достоверность различий вычислялась с помощью F-критерия Фишера при 5 %-м уровне значимости.

Анализ накопления оксида графена в растениях. Анализ накопления и распределения оксида графена в тканях экспериментальных растений осуществлялся на сканирующих электронных микроскопах Neon 40 и Merlin (Carl Zeiss, Германия) с элементным анализом. Для проведения исследования навеску растительной ткани массой 250 мг растирали в охлажденной ступке в 0,5 мл дистиллированной воды. Полученный гомогенат наносили на подложку и высушивали при комнатной температуре.

Результаты и обсуждение

Результаты анализа образца оксида графена. Исследование методом рамановской спектроскопии подтвердило принадлежность полученного материала к оксиду графена – были зафиксированы основные линии, характерные для данного наноматериала D (1338 см^{-1}) и G (1590 см^{-1}) [17-19]. Методом сканирующей электронной микроскопии установлено, что образец имеет пластинчатую структуру без каких-либо других видов частиц кристаллизованной фазы. Анализ образца методом атомно-силовой микроскопии показал, что поперечный размер чешуек варьируется от 0,1 до 3 мкм, в то время как их средняя толщина менее 1 нм. Таким образом, анализ полученного образца оксида графена показал, что материал имеет характерную пластинчатую морфологию с размером отдельных чешуек от 0,1 до 3 мкм и толщиной менее 1 нм.

Влияние оксида графена на проростки березы пушистой. Результаты исследования влияния оксида графена на проростки березы пушистой показали, что оксид графена в концентрации 1,5 мкг/л не оказал достоверного влияния на выживаемость растений, однако при повышении концентрации до 3 мкг/л показатель уменьшался до 10 % относительно контроля (рис. 1). Максимальный показатель выживаемости наблюдался при обработке растений стимулятором роста – +5 %.

Максимальная высота растений наблюдалась в группе, обработанной Эпином – 4,4 см против 4 см в контроле. При 1,5 мкг/л оксида графена значения высоты побегов были на уровне контрольных, а при 3 мкг/л показатель уменьшился на 25 % и составил в среднем 3 см (рис. 2).

Внесение оксида графена в концентрации 1,5 мкг/л благоприятно сказалось на развитии листьев. В этом варианте увеличилось среднее количество листьев на одном растении (+1), а также изменилось соотношение нормальных листьев к увядшим (рис. 3). На 6 развившихся листьев отмечалось 3 увядших, в то время как в контроле из 5 листьев увядало 4. Худшие показатели зафиксированы в варианте 3 мкг/л оксида графена – на 4 листа 4 увядших.

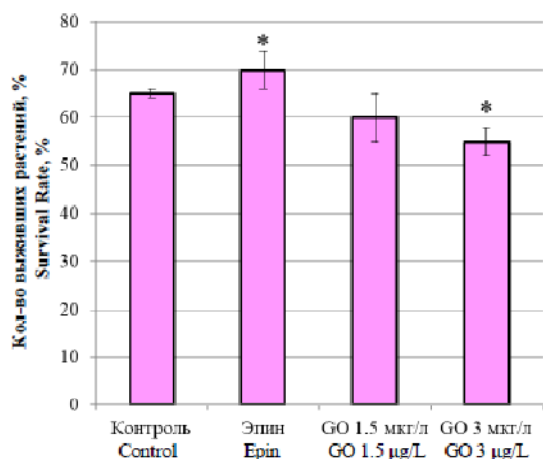


Рис. 1. Влияние оксида графена на выживаемость регенерантов березы пушистой
 Figure 1. Effect of graphene oxide on the survival rate of downy birch regenerated

Источник: собственные вычисления авторов
 Source: own calculations

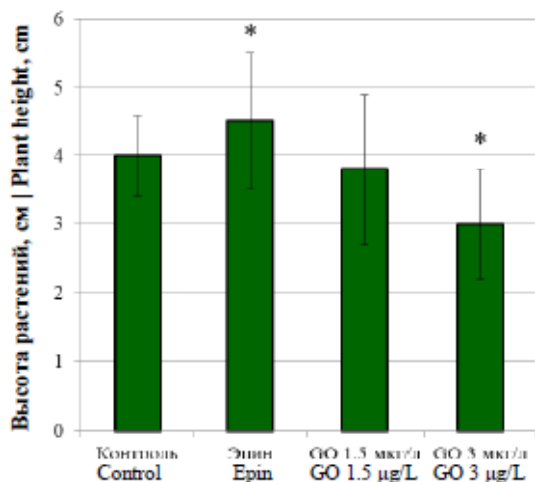


Рис. 2. Влияние оксида графена на рост регенерантов березы пушистой
 Figure 2. Effect of graphene oxide on the growth of downy birch regenerants

Источник: собственные вычисления авторов
 Source: own calculations

При оценке адаптированности растений к нестерильным условиям также установлено положительное влияние оксида графена в дозе 1,5 мкг/л. Число адаптированных растений составило 60 % (на уровне регулятора роста) при 52 % в контрольном варианте (рис. 4). При повышении концентрации наноматериала число адаптированных растений снизилось на 35 %.

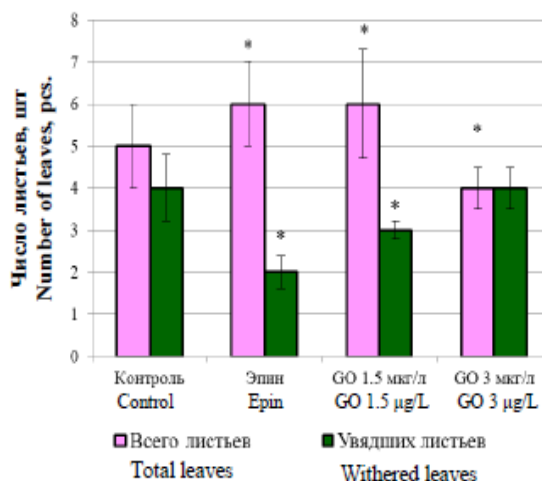


Рис. 3. Состояние вегетативных органов регенерантов березы пушистой
 Figure 3. The state of the vegetative organs of the downy birch regenerated

Источник: собственные вычисления авторов
 Source: own calculations

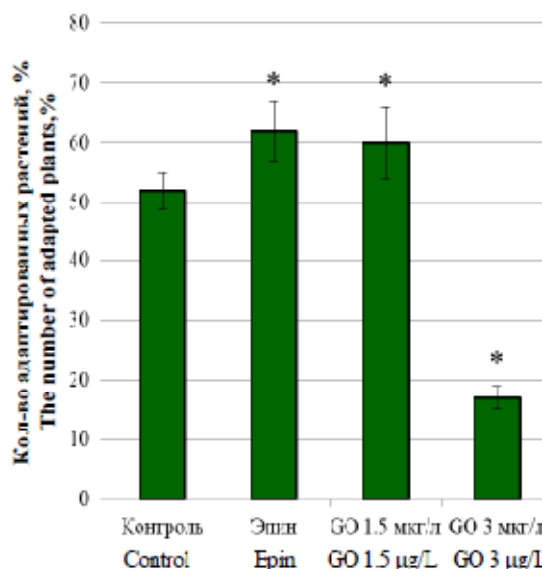


Рис. 4. Эффективность адаптации регенерантов березы пушистой
 Figure 4. The efficiency of adaptation of downy birch regenerated

Источник: собственные вычисления авторов
 Source: own calculations

Наилучшее состояние растений было в группе, культивируемой с применением стимулятора, худшее состояние отмечено в варианте 3 мкг/л оксида графена (табл. 1). Дополнительных побегов не образовалось ни в одном из вариантов.

Показатели эффективности адаптации побегов березы пушистой

Table 2

Indicators of adaptation efficiency of downy birch shoots

Вариант Variant	Число дополнительных побегов, шт. Number of extra shoots, pcs.	Состояние микроклонов по 5-балльной шкале Condition of microclones on a 5-point scale
Контроль Control	0	4
Эпин Epin	0	5
GO 1,5 мкг/л GO 1.5 µg/L	0	4
GO 3 мкг/л GO 3 µg/L	0	3

Источник: собственные вычисления автор(ов)

Source: own calculations

Таким образом, в ходе эксперимента показано, что раствор оксида графена с концентрацией 1,5 мкг/л оказывал благоприятное влияние на появление листьев и на адаптируемость растений (+8 %). Однако при повышении концентрации наноматериала до 3 мкг/л выживаемость снизилась на 10 % относительно контроля, высота растений – на 25 %, а число адаптированных растений – на 35 %. Кроме того, общее состояние проростков данной группы оценивалось только на 3 балла. Разнонаправленное действие оксида графена показано и другими авторами. Например, Наир и др. [20] показали, что проростки риса, проросшие в присутствии графена, показали лучшую жизнеспособность и рост по сравнению с необработанными проростками. Точно так же всхожесть семян томатов увеличивалась порошкообразным графеном, возможно, из-за способности графена улучшать поглощение воды через кожуру семян [21]. С другой стороны, в нескольких исследованиях сообщалось, что прорастание семян задерживалось или подавлялось нанесением графена или оксида графена [22]. В другом краткосрочном исследовании графен способствовал значительному удлинению корня, но ингибировал развитие корневых волосков, что может быть связано с индуцированным графеном окислительным стрессом в корнях проростков пшеницы [23].

Анализ накопления оксида графена в растениях. Для электронно-микроскопического исследования были взяты растения, обработанные раство-

ром оксида графена в концентрации 3 мкг/л, а также растения контрольной группы.

Анализ накопления частиц оксида графена в корнях растений березы не выявил частиц наноматериала (рис. 5).

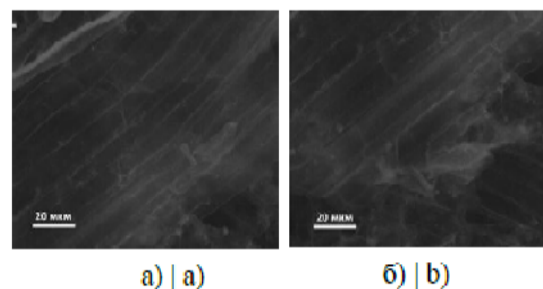


Рис. 5. Микрофотографии корня березы:

а) контроль, б) группа 3 мкг/л

Figure 5. Micrographs of the birch root:

а) control, б) group 3 µg/L

Источник: собственное исследование авторов

Source: author's study

Электронно-микроскопическое исследование накопления оксида графена в стеблях березы также показало отсутствие наночастиц (рис. 6).

Для подтверждения результатов электронно-микроскопического исследования бионакопления и более детального анализа содержания углерода в тканях растений было проведено картирование элемента (рис. 7).

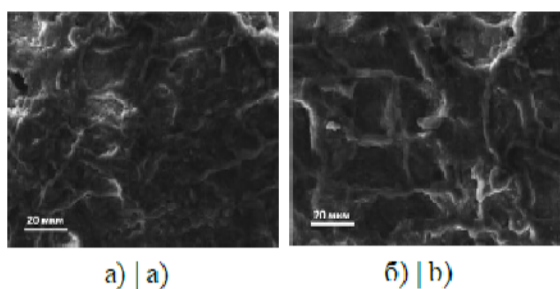


Рис. 6. Микрофотографии стебля березы пушистой:
а) контроль, б) группа 3 мкг/л
Figure 6. Micrographs of the birch stem: a) control,
b) group 3 µ/L

Источник: собственное исследование авторов
Source: author's study

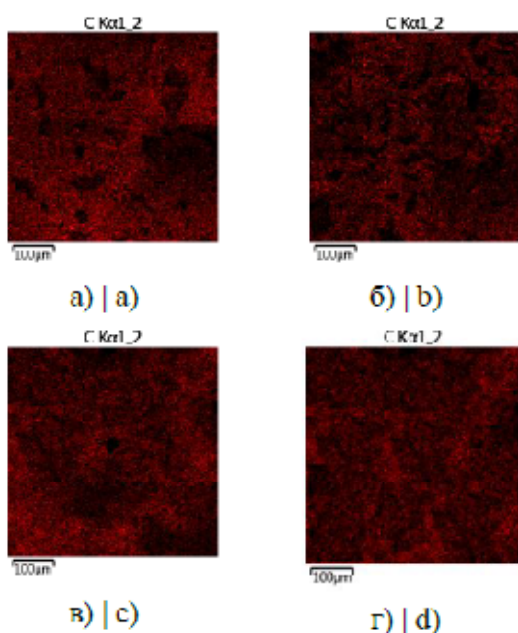


Рис. 7. Распределение углерода в тканях корня и стебля березы пушистой: а) корень растений контрольной группы в) стебель растений контрольной группы, б) корень растений группы 3 мкг/л, г) стебель растений группы 3 мкг/л
Figure 7. Distribution of carbon in the tissues of the downy birch root and stem: a) the root of the plants in the control group, b) the root of the plants in the 3 µg/L group, c) the stem of the plants in the control group, d) the stem of the plants in the 3 µg/L group

Источник: собственное исследование авторов
Source: author's study

Как видно из представленных микрофотографий, во всех случаях углерод характеризовался

равномерным распределением по образцу, независимо от обработки растений оксидом графена.

Таким образом, наше исследование показало отсутствие биоаккумуляции оксида графена в побегах березы пушистой. Стоит сказать, что другими авторами показано проникновение наноматериала в растения, например, в проростки гороха [24, 25] или шелуху семян томата [21]. Можно предположить, что отмеченные различия связаны с разным размером чешуек и используемыми концентрациями оксида графена, а также с видовыми особенностями растений.

Выводы (Заключение)

Таким образом, в ходе эксперимента установлено разнонаправленное действие оксида графена на регенеранты березы пушистой. При обработке побегов раствором наноматериала с концентрацией 1,5 мкг/л отмечено благоприятное влияние на развитие листьев и адаптируемость растений. В то же время при повышении концентрации вещества до 3 мкг/л снижалась выживаемость и высота побегов, а также число адаптированных растений. С учетом того, что методом электронной микроскопии не зафиксировано бионакопления наночастиц, можно говорить, что отмеченные эффекты не связаны с проникновением наноматериала в ткани растений. Например, группа ученых [26] установила, что графеновые квантовые точки (GQD) могут способствовать поглощению воды и питательных веществ за счет увеличения эффективных площадей поверхности эпидермальных (ризодермальных) клеток корня. Разработанная ими схематическая модель показывает, что GQD непосредственно прикрепляются к поверхности клеток корня растений, увеличивая область поглощения ионов на поверхности корня.

Среди возможных механизмов токсического действия оксида графена, не связанных с его проникновением в ткани растений, можно выделить не прямое воздействие через изменение окружающей среды – например, доступности корневого питания или состава микробиоты в прикорневой зоне.

Проведенное исследование, а также результаты работ других авторов свидетельствуют о том, что механизмы воздействия оксида графена на растения требуют дальнейшего изучения. Результаты

нашей работы могут быть использованы в биотехнологии клонального микроразмножения растений

при переведении их из стерильных лабораторных условий в грунт.

Список литературы

1. Ou L., Song B., Liang H. (et al.) Toxicity of graphene-family nanoparticles: a general review of the origins and mechanisms. *Particle and Fibre Toxicology*. 2016; 13: 57. DOI: 10.1186/s12989-016-0168-y.
2. Sun Y., Sun M., Xie D. Graphene Electronic Devices. *Graphene. Fabrication, haracterizations, Properties and Applications*. 2018; 103. DOI: 10.1016/B978-0-12-812651-6.00005-7.
3. Ye M., Zhang Zh., Zhao Y., Qu L. Graphene Platforms for Smart Energy Generation and Storage. *Joule*. 2018; 2 (2): 245-268. DOI: 10.1016/j.joule.2017.11.011.
4. Zhou J., Chen M., Diao G. Calix[4,6,8]arenesulfonates functionalized reduced graphene oxide with high supramolecular recognition capability: Fabrication and application for enhanced host-guest electrochemical recognition. *ACS Applied Materials Interfaces*. 2013; 5: 828-836. DOI: 10.1021/am302289v.
5. Dreyer D. R., Park S., Bielawski C. W., Ruoff R. S. The chemistry of graphene oxide. *Chemical Society Reviews*. 2010; 39 (1): 228-240. DOI: 10.1039/B917103G.
6. Park S., Choi K. S., Kim S., Gwon Y., Kim J. Graphene Oxide-Assisted Promotion of Plant Growth and Stability. *Nanomaterials*. 2020; 10: 758. DOI: 10.3390/nano10040758.
7. Kabiri Sh., Degryse F., Tran D.N.H. (et al.) Graphene Oxide: A New Carrier for Slow Release of Plant Micronutrients. *ACS Applied Materials Interfaces*. 2017; 9 (49): 43325-43335. DOI: 10.1021/acsami.7b07890.
8. Wang X., Xie H., Wang Zh., Hea K., Jing D. Graphene oxide as a multifunctional synergist of insecticides against lepidopteran insect. *Environmental Science: Nano*. 2019; 6: 75-84. DOI: 10.1039/C8EN00902C.
9. Ren W., Chang H., Teng Y. Sulfonated graphene-induced hormesis is mediated through oxidative stress in the roots of maize seedlings. *Science of the Total Environment*. 2016; 572: 926-934. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.07.214.
10. Chen J., Yang L., Li S., Ding W. Various Physiological Response to Graphene Oxide and Amine-Functionalized Graphene Oxide in Wheat (*Triticum aestivum*). *Molecules*. 2018; 23: 1104. DOI: 10.3390/molecules23051104.
11. Vochita G., Opric L., Gherghel D. (et al.) Graphene oxide effects in early ontogenetic stages of *Triticum aestivum* L. seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2019; 181: 345-352. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2019.06.026.
12. Попов В. К., Табацкая Т. М., Сиволапов А. И. Регенеранты березы и тополя, полученные *in vitro* в плантационных культурах под Воронежем. *Биотехнология в ФЦП "Интеграция": Тез. докл.* 1999: 36-37.
13. Шапкин О. М., Погиба С. П., Казанцева Е. В. Популяционно-генетический анализ карельской березы и вегетативное размножение её ценных форм. *Лесохозяйственная информация ; ВНИИЦлесресурс*. 1996; 9: 4-15.
14. Hummers W. S., Offeman R. E. Preparation of graphitic oxide. *Journal of the American Chemical Society*. 1958; 1339. DOI: 10.1021/ja01539a017.
15. Zakharova O., Kolesnikova E., Muratov D. S. (et al.) Effects of graphene oxide on white poplar x aspen (*Populus alba* x *Populus tremula*) hybrid microsprouts at various growth stages. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering*. 2019; 693: 012037. DOI: 10.1088/1757-899X/693/1/012037.
16. Zakharova O., Kolesnikova E., Muratov D., Gusev A. Stimulating and toxic effects of graphene oxide on *Betula pubescens* microclones. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2020; 595: 012010. DOI: 10.1088/1755-1315/595/1/012010.
17. Muzyka R., Drewniak S., Pustelny T., Chrubasik M., Gryglewicz G. Characterization of Graphite Oxide and Reduced Graphene Oxide Obtained from Different Graphite Precursors and Oxidized by Different Methods Using Raman Spectroscopy. *Materials*. 2018; 11 (7): 1050. DOI: 10.3390/ma11071050.

18. Oh W-Ch., Zhang F-J. Preparation and characterization of graphene oxide reduced from a mild chemical method. *Asian Journal of Chemistry*. 2011; 23 (2): 875-879.
19. Rattana, Chaiyakun S., Wititanun N. (et al.) Preparation and characterization of graphene oxide nanosheets. *Procedia Engineering*. 2012; 32: 759-764. DOI: 10.1016/j.proeng.2012.02.009.
20. Nair R., Mohamed M. S., Gao W. (et al.) Effect of carbon nanomaterials on the germination and growth of rice plants. *Journal of nanoscience and nanotechnology*. 2012; 12: 2212-2220. DOI: 10.1166/jnn.2012.5775.
21. Zhang M., Gao B., Chen J., Li Y. Effects of graphene on seed germination and seedling growth. *Journal of Nanoparticle Research*. 2015; 17: 78. DOI: 10.1007/s11051-015-2885-9.
22. Liu S., Wei H., Li Z. (et al.) Effects of graphene on germination and seedling morphology in rice. *Journal of nanoscience and nanotechnology*. 2015; 15: 2695-2701. DOI: 10.1166/jnn.2015.9254.
23. Zhang P., Zhang R., Fang X. (et al.) Toxic effects of graphene on the growth and nutritional levels of wheat (*Triticum aestivum* L.): Short-and longterm exposure studies. *Journal of hazardous materials*. 2016; 317: 543-551. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2016.06.019.
24. Chen L., Wang C., Yang S. (et al.) Chemical reduction of graphene enhances in vivo translocation and photosynthetic inhibition in pea plants. *Environmental science. Nano*. 2019; 6: 1077-1088. DOI: 10.1039/C8EN01426D.
25. Park S., Kim T., Gwon Y. (et al.) Graphene-Layered Eggshell Membrane as a Flexible and Functional Scaffold for Enhanced Proliferation and Differentiation of Stem Cells. *ACS Applied Bio Materials*. 2019; 2: 4242-4248. DOI: 10.1021/acsabm.9b00525.
26. Xu Y., Lu Y., Li J., Liu R., Zhu X. Effect of graphene quantum dot size on plant growth. *Nanoscale*. 2020; 12: 15045-15049. DOI:10.1039/D0NR01913E.

References

1. Ou L., Song B., Liang H. (et al.) Toxicity of graphene-family nanoparticles: a general review of the origins and mechanisms. *Particle and Fibre Toxicology*. 2016; 13: 57. DOI: 10.1186/s12989-016-0168-y.
2. Sun Y., Sun M., Xie D. Graphene Electronic Devices. *Graphene. Fabrication, haracterizations, Properties and Applications*. 2018; 103. DOI: 10.1016/B978-0-12-812651-6.00005-7.
3. Ye M., Zhang Zh., Zhao Y., Qu L. Graphene Platforms for Smart Energy Generation and Storage. *Joule*. 2018; 2 (2): 245-268. DOI: 10.1016/j.joule.2017.11.011.
4. Zhou J., Chen M., Diao G. Calix[4,6,8]arenesulfonates functionalized reduced graphene oxide with high supramolecular recognition capability: Fabrication and application for enhanced host-guest electrochemical recognition. *ACS Applied Materials Interfaces*. 2013; 5: 828-836. DOI: 10.1021/am302289v.
5. Dreyer D. R., Park S., Bielawski C. W., Ruoff R. S. The chemistry of graphene oxide. *Chemical Society Reviews*. 2010; 39 (1): 228-240. DOI: 10.1039/B917103G.
6. Park S., Choi K. S., Kim S., Gwon Y., Kim J. Graphene Oxide-Assisted Promotion of Plant Growth and Stability. *Nanomaterials*. 2020; 10: 758. DOI: 10.3390/nano10040758.
7. Kabiri Sh., Degryse F., Tran D.N.H. (et al.) Graphene Oxide: A New Carrier for Slow Release of Plant Micronutrients. *ACS Applied Materials Interfaces*. 2017; 9 (49): 43325-43335. DOI: 10.1021/acsami.7b07890.
8. Wang X., Xie H., Wang Zh., Hea K., Jing D. Graphene oxide as a multifunctional synergist of insecticides against lepidopteran insect. *Environmental Science: Nano*. 2019; 6: 75-84. DOI: 10.1039/C8EN00902C.
9. Ren W., Chang H., Teng Y. Sulfonated graphene-induced hormesis is mediated through oxidative stress in the roots of maize seedlings. *Science of the Total Environment*. 2016; 572: 926-934. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.07.214.
10. Chen J., Yang L., Li S., Ding W. Various Physiological Response to Graphene Oxide and Amine-Functionalized Graphene Oxide in Wheat (*Triticum aestivum*). *Molecules*. 2018; 23: 1104. DOI: 10.3390/molecules23051104.

11. Vochita G., Opric L., Gherghel D. (et al.) Graphene oxide effects in early ontogenetic stages of *Triticum aestivum* L. seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2019; 181: 345-352. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2019.06.026.
12. Popov V. K., Tabatskaya T. M., Sivolapov A. I. Regeneranty berezy i topolya, poluchennyye in vitro v plantatsionnykh kul'turakh pod Voronezhem. *Biotekhnologiya v FTSP "Integratsiya"*: Tez. dokl. 1999: 36-37 (In Russian).
13. Shapkin O. M., Pogiba S. P., Kazantseva E. V. Populyatsionno-geneticheskiy analiz karel'skoy berezy i vegetativnoye razmnozheniye yeyo tsennykh bumag form. *Lesokhozyaystvennaya informatsiya*. 1996; 9: 4-15.
14. Hummers W. S., Offeman R. E. Preparation of graphitic oxide. *Journal of the American Chemical Society*. 1958; 1339. DOI: 10.1021/ja01539a017.
15. Zakharova O., Kolesnikova E., Muratov D. S. (et al.) Effects of graphene oxide on white poplar x aspen (*Populus alba* x *Populus tremula*) hybrid microsprouts at various growth stages. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering*. 2019; 693: 012037. DOI: 10.1088/1757-899X/693/1/012037.
16. Zakharova O., Kolesnikova E., Muratov D., Gusev A. Stimulating and toxic effects of graphene oxide on *Betula pubescens* microclones. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2020; 595: 012010. DOI: 10.1088/1755-1315/595/1/012010.
17. Muzyka R., Drewniak S., Pustelny T., Chrubasik M., Gryglewicz G. Characterization of Graphite Oxide and Reduced Graphene Oxide Obtained from Different Graphite Precursors and Oxidized by Different Methods Using Raman Spectroscopy. *Materials*. 2018; 11 (7): 1050. DOI: 10.3390/ma11071050.
18. Oh W-Ch., Zhang F-J. Preparation and characterization of graphene oxide reduced from a mild chemical method. *Asian Journal of Chemistry*. 2011; 23 (2): 875-879.
19. Rattana, Chaiyakun S., Wititanun N. (et al.) Preparation and characterization of graphene oxide nanosheets. *Procedia Engineering*. 2012; 32: 759-764. DOI: 10.1016/j.proeng.2012.02.009.
20. Nair R., Mohamed M. S., Gao W. (et al.) Effect of carbon nanomaterials on the germination and growth of rice plants. *Journal of nanoscience and nanotechnology*. 2012; 12: 2212-2220. DOI: 10.1166/jnn.2012.5775.
21. Zhang M., Gao B., Chen J., Li Y. Effects of graphene on seed germination and seedling growth. *Journal of Nanoparticle Research*. 2015; 17: 78. DOI: 10.1007/s11051-015-2885-9.
22. Liu S., Wei H., Li Z. (et al.) Effects of graphene on germination and seedling morphology in rice. *Journal of nanoscience and nanotechnology*. 2015; 15: 2695-2701. DOI: 10.1166/jnn.2015.9254.
23. Zhang P., Zhang R., Fang X. (et al.) Toxic effects of graphene on the growth and nutritional levels of wheat (*Triticum aestivum* L.): Short-and longterm exposure studies. *Journal of hazardous materials*. 2016; 317: 543-551. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2016.06.019.
24. Chen L., Wang C., Yang S. (et al.) Chemical reduction of graphene enhances in vivo translocation and photosynthetic inhibition in pea plants. *Environmental science. Nano*. 2019; 6: 1077-1088. DOI: 10.1039/C8EN01426D.
25. Park S., Kim T., Gwon Y. (et al.) Graphene-Layered Eggshell Membrane as a Flexible and Functional Scaffold for Enhanced Proliferation and Differentiation of Stem Cells. *ACS Applied Bio Materials*. 2019; 2: 4242-4248. DOI: 10.1021/acsabm.9b00525.
26. Xu Y., Lu Y., Li J., Liu R., Zhu X. Effect of graphene quantum dot size on plant growth. *Nanoscale*. 2020; 12: 15045-15049. DOI:10.1039/D0NR01913E.

Сведения об авторах

Стрекалова Наталия Сергеевна – старший преподаватель кафедры биохимии и фармакологии Медицинского института ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный университет имени Г.Р. Державина», ул. Интернациональная, 33, г. Тамбов, Российская Федерация, 392000, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6723-3074>, e-mail: kotova-ns@yandex.ru.

Захарова Ольга Владимировна – кандидат биологических наук, заведующая лабораторией перспективных химических технологий НИИ экологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный

университет имени Г.Р. Державина», ул. Интернациональная, 33, г. Тамбов, Российская Федерация, 392000, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8590-2529>, e-mail: olgazakharova1@mail.ru.

Баранчиков Петр Александрович – магистрант Института естествознания ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный университет имени Г.Р. Державина», ул. Интернациональная, 33, г. Тамбов, Российская Федерация, 392000, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0565-3724>, e-mail: petrovi4-98@yandex.ru.

✉ *Гусев Александр Анатольевич* – доктор биологических наук, директор НИИ экологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный университет имени Г.Р. Державина», ул. Интернациональная, 33, г. Тамбов, Российская Федерация, 392000, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8699-9112>, e-mail: nanosecurity@mail.ru.

Information about the authors

Strekalova Nataliya Sergeevna – Senior Lecturer, Department of Biochemistry and Pharmacology, Medical Institute, Derzhavin Tambov State University, Internatsionalnaya str., 33, Tambov, Russian Federation, 392000, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6723-3074>, e-mail: kotova-ns@yandex.ru.

Zakharova Olga Vladimirovna – Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Advanced Chemical Technologies, Research Institute for Environmental science and Biotechnology, Derzhavin Tambov State University, Internatsionalnaya str., 33, Tambov, Russian Federation, 392000, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8590-2529>, e-mail: olgazakharova1@mail.ru.

Baranchikov Petr Aleksandrovich – Master's student of the Institute of Natural Sciences, Derzhavin Tambov State University, Internatsionalnaya str., 33, Tambov, Russian Federation, 392000, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0565-3724>, e-mail: petrovi4-98@yandex.ru.

✉ *Gusev Aleksandr Anatolyevich* – Doctor of Biological Sciences, Director of the Research Institute for Environmental science and Biotechnology, Derzhavin Tambov State University, Internatsionalnaya str., 33, Tambov, Russian Federation, 392000, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8699-9112>, e-mail: nanosecurity@mail.ru.

✉ – Для контактов/Corresponding author