

**Агробиология зерновых культур**

УДК 631.8:546.26:581.1

doi: 10.15389/agrobiology.2018.1.38rus

**ПРОИЗВОДНЫЕ ФУЛЛЕРЕНА СТИМУЛИРУЮТ ПРОДУКЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС, РОСТ И УСТОЙЧИВОСТЬ К ОКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ У РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ И ЯЧМЕНЯ\***

Г.Г. ПАНОВА<sup>1</sup>, Е.В. КАНАШ<sup>1</sup>, К.Н. СЕМЕНОВ<sup>2</sup>, Н.А. ЧАРЫКОВ<sup>3</sup>,  
Ю.В. ХОМЯКОВ<sup>1</sup>, Л.М. АНИКИНА<sup>1</sup>, А.М. АРТЕМЬЕВА<sup>4</sup>, Д.Л. КОРНЮХИН<sup>4</sup>,  
В.Е. ВЕРТЕБНЫЙ<sup>1</sup>, Н.Г. СИНЯВИНА<sup>1</sup>, О.Р. УДАЛОВА<sup>1</sup>, Н.А. КУЛЕНОВА<sup>5</sup>,  
С.Ю. БЛОХИНА<sup>1</sup>

Создание высокоэффективных экологически безопасных препаратов для повышения продуктивности и устойчивости агро- и экосистем — актуальная задача современной науки. В этой связи в качестве перспективных форм рассматриваются углеродные наноструктуры — водорастворимые производные фуллеренов  $C_{60}$  и  $C_{70}$ , применяемых в биомедицине и фармакологии. Показано, что они способны проникать через биомембраны благодаря липофильности и наноразмерам, транспортировать лекарственные вещества к клеткам-мишеням, обладают антиоксидантными свойствами. Однако о механизмах влияния фуллеренов на растения мало что известно. Мы впервые изучили воздействие производных фуллерена  $C_{60}$  на процессы, обуславливающие неттопродуктивность и устойчивость растений к окислительному стрессу. В исследованиях использовали фуллеренол и аддукты фуллерена  $C_{60}$  с незаменимыми аминокислотами треонином, лизином, аргинином, а также с аминокислотой гидроксипролином, синтезированные нами ранее с применением оригинальной одностадийной методики. В двух вегетационных экспериментах в регулируемых условиях (азрируемый питательный раствор, светоустановка) выявлен стимулирующий эффект этих производных фуллерена на рост яровой пшеницы и ячменя при добавлении в корнеобитаемую среду и при некорневой обработке. Так, у растений отмечали увеличение биомассы листьев, стеблей, корней (на 27-226 %,  $p < 0,05$ ). Статистический анализ с применением критерия Вилкоксона подтвердил достоверность обнаруженных различий. Наибольшие прибавки относительно контроля вызывал фуллеренол, фуллерен  $C_{60}$ -оксипролин, фуллерен  $C_{60}$ -треонин. Очевидно, наблюдаемый эффект был связан с установленной способностью фуллеренола и аминокислотных производных фуллерена  $C_{60}$  оказывать регуляторное воздействие на синтез фотосинтетических пигментов и, как следствие, на эффективность фотосинтеза. Сравнение индексов отражения, характеризующих содержание хлорофиллов (ChlRI) и антоцианов (ARI) в листьях, показало, что в целом под влиянием производных фуллеренов формируется фотосинтетический аппарат, обладающий большим потенциалом. При воздействии испытуемых производных фуллерена также снижалась интенсивность перекисного окисления липидов, увеличивалась (преимущественно у ячменя) или уменьшалась генерация активных форм кислорода и повышалась активность супероксиддисмутазы в листьях и (или) корнях. Эти изменения в состоянии растений были наиболее выражены при действии фуллеренола,  $C_{60}$ -треонина и  $C_{60}$ -гидроксипролина. В условиях моделируемого стресса (УФ-В облучение, 20 кДж/м<sup>2</sup>) устойчивость растений ячменя после некорневой обработки растворами фуллеренола,  $C_{60}$ -треонина и  $C_{60}$ -гидроксипролина, судя по массе надземной части и корней, оказалась на 10-20 % выше, чем у контрольных облученных растений, показавших снижение массы надземной части примерно на 33 %, корней — на 10-20 %. Выявленное положительное влияние синтезированных аминокислотных производных фуллерена  $C_{60}$  и фуллеренола на продукционный процесс и устойчивость растений к окислительному стрессу, высокая эффективность в малых концентрациях (соответственно, низкие затраты на применение) и экологическая безопасность свидетельствуют о перспективности дальнейшего изучения механизмов влияния этих соединений на почвенно-растительную систему с целью создания на их основе препаратов для использования в растениеводстве.

**Ключевые слова:** аминокислотные производные фуллерена  $C_{60}$ , фуллеренол, продукционный процесс растений, оптимизация, окислительный стресс, устойчивость, экологически безопасные препараты, растениеводство.

Потребность в биодеградируемых препаратах комплексного положительного действия делает актуальным поиск и разработку новых форм, обеспечивающих транспортировку в растения макро- и микроэлементов и физиологически активных соединений — адаптогенов и протекторов. Пер-

\* Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 15-29-05837 офи\_м).

спективы получения таких препаратов связывают с углеродными наноматериалами, в частности с водорастворимыми производными фуллеренов (1, 2). Высокая липофильность углеродного ядра производных фуллеренов обеспечивает их проникновение через биомембраны (3-5), наноразмер — стерическое соответствие биомолекулам, а облако  $\pi$ -электронов на поверхности — участие в свободно-радикальных реакциях, которое может быть разнонаправленным в зависимости от концентрации фуллеренолов, объекта и условий внешней среды (3, 6, 7). Большинство водорастворимых производных фуллерена составляют соединения с функционализированными гидроксильными, карбоксильными и аминогруппами (1).

Особенности и механизмы влияния водорастворимых производных фуллеренов на растения в агро- и экосистемах практически не изучены, так как эти исследования только начинают активно развиваться (4, 6, 8, 9). Установлено как негативное, сдерживающее рост влияние водорастворимых производных фуллеренов, так и стимуляция роста, развития и продуктивности. Так, полиоксигидроксилированный фуллерен повреждал клетки лука (10), но способствовал ускорению роста гипокотыля у арабидопсиса и увеличению плотности культуры зеленой водоросли *Pseudokirchneriella subcapitata* (6). Обработка семян горькой дыни раствором полиоксигидроксилированного фуллерена приводила к увеличению биомассы растений на 54 %, урожая — на 128 %, содержания полезных веществ — на 90 % (8). Положительный эффект указанных соединений на растения предположительно ассоциируется с антиоксидантной активностью, а именно со способностью связывать активные формы кислорода (11-13).

Ранее авторами статьи была выявлена способность фуллеренола  $C_{60}$  предотвращать развитие окислительного стресса в корнях и их субапикальное утолщение при УФ-В облучении проростков зерновых культур благодаря снижению содержания активных форм кислорода (АФК). Обнаружена высокая биологическая активность фуллеренола  $C_{60}$  по результатам обработки семян тестовых растений (яровой ячмень *Hordeum vulgare* L.) растворами разной концентрации (9).

Поглощение, транслокация и аккумуляция производных фуллерена  $C_{60}$  или  $C_{70}$  в растениях описаны у риса, редиса, репчатого лука, горькой дыни, пшеницы (8, 10, 14-16). Водорастворимые производные фуллерена  $C_{60}$  проникают через мембраны животного и растительного происхождения или как липофильные ионы, или в нейтральной форме после протонирования (4). На примере проростков пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и редиса (*Raphanus sativus* L.) показано, что поглощение растениями производных фуллерена  $C_{60}$  и  $C_{70}$  зависит от их концентрации в корнеобитаемой среде, и эти соединения аккумулируются преимущественно в корнях (15, 16).

О механизмах возможного опосредованного влияния водорастворимых производных фуллеренов на растения после попадания их в почву практически ничего не известно. Нами впервые показано, что повышение нетто-продуктивности растений и их устойчивости к окислительному стрессу после введения аминокислотных производных  $C_{60}$  и фуллеренола в корнеобитаемую среду или некорневой обработки растений, очевидно, связано с установленными изменениями в структуре и эффективности фотосинтетического аппарата, а также с влиянием на системы антиоксидантной защиты, а именно на интенсивность перекисного окисления липидов, активность супероксиддисмутазы, генерацию активных форм кислорода.

Цель работы заключалась в оценке влияния производных фуллеренов  $C_{60}$  на продукционный процесс и устойчивость растений к окислительному стрессу в регулируемых условиях.

**Методика.** Водорастворимые производные  $C_{60}$  (фуллеренол и аддукты  $C_{60}$  с аминокислотами L-лизином, L-треонином, L-аргинином и L-гидроксипролином) получали по ранее разработанной методике одностадийного синтеза из индивидуальных фуллеренов, фуллереновой смеси или фуллереновой сажи при помощи водного раствора щелочи и межфазного катализатора (ТВАН) (17, 18).

Влияние производных фуллеренов на растения яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Ленинградская 6 и ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сортов Ленинградский и Белогорский изучали в серии вегетационных опытов (биополигон АФИ) в регулируемых благоприятных условиях и при моделировании окислительного стресса (УФ-В облучение надземной части растений). Растения выращивали в сосудах с аэрируемыми питательными растворами при искусственном освещении (19) в течение 1 мес (до достижения стадии 6-7-го листа, фаза выхода в трубку) в вегетационных светостановках, оснащенных подъемными световыми блоками с лампами ДНаЗ-400 (Россия). Мощность излучения в области ФАР (фотосинтетически активной радиации) — 80-90 Вт/м<sup>2</sup>, продолжительность светового периода 14 ч, температура воздуха 25±2 °С, относительная влажность воздуха 65±5 %. Число растений — 10 шт/сосуд, повторность — 30 растений в варианте опыта. Аэрирование раствора в сосудах осуществляли непрерывно, смену раствора наряду с контролем рН проводили через каждые 3 сут. Состав раствора по макро- и микроэлементам предложен и описан нами ранее (9).

Воздействие на растения синтезированными производными фуллерена  $C_{60}$  осуществляли посредством введения в корнеобитаемую среду (аэрируемый питательный раствор) (9) в концентрации 1 мг/л или при некорневой обработке в концентрациях 0,1 мг и 15 мг на 1 л раствора макро- и микроэлементов (9) (концентрации производных фуллерена  $C_{60}$  выбраны на основании данных предварительных исследований). Контролем служили растворы макро- и микроэлементов без производных фуллерена (9). Значения рН экспериментальных растворов — в пределах 6,2-6,9 (варьирование рН в этом диапазоне не оказывает существенного влияния на рост растений). В вариантах с некорневой обработкой растворами производных  $C_{60}$  и макро-, микроэлементов (наносоставами) растения опрыскивали 3 раза за вегетацию с периодичностью 7 сут в фазу кущения—выхода в трубку (контролями служили растения, обработанные раствором макро- и микроэлементов без производных  $C_{60}$ ).

Для создания стрессовых условий растения подвергали УФ-В облучению в фазу выхода в трубку. Перед облучением на растения воздействовали наносоставами на основе производных фуллерена посредством 3-кратной (с периодичностью 7 сут) некорневой обработки надземной части. Облучение растений осуществляли через 3 сут после последней некорневой обработки наносоставами. Доза биологически эффективной УФ-В радиации — 20 кДж/м<sup>2</sup>; источником УФ-В излучения служили лампы ЛЭ-30 (Россия) со спектральным диапазоном 280-380 нм и максимумом интенсивности при  $\lambda = 320$  нм. Число растений — 10 шт/сосуд, повторность — 50 растений в варианте опыта. Контролями служили не подвергнутые УФ-В облучению растения, обработанные раствором макро- и микроэлементов без производных  $C_{60}$ .

Для оценки антиоксидантных свойств фуллеренов определяли интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) — по накоплению в растениях малонового диальдегида (МДА), активность супероксиддисмутазы (СОД) — методом, основанным на ее способности конкурировать с

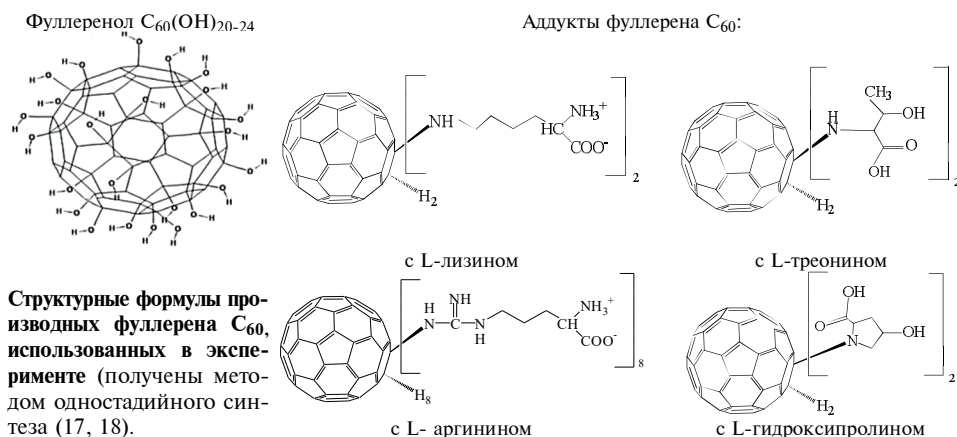
нитросиним тетразолием за супероксидные радикалы, генерацию активных форм кислорода (АФК) — по превращению адреналина в адренохром, оптическую плотность которого измеряли при  $\lambda = 480$  нм (20–22).

Спектральные характеристики отраженной от поверхности листьев радиации регистрировали в диапазоне от 400 до 1100 нм с шагом 0,3 нм с помощью оптоволоконной спектрометрической системы («Ocean Optics, Inc.», США) с оптическим разрешением 0,065 нм (23). Основные элементы системы — спектрометр HR2000, специальное программное обеспечение SpectraSuite, эталонный вольфрам-галогеновый источник света LS-1, спектральный эталон WS-1, стандартный зонд отражения/обратного рассеяния R-200-7-UV-VIS. Рассчитывали индексы отражения, позволяющие оценить содержание хлорофиллов, флавоноидов, антоцианов в тканях листьев и другие характеристики активности фотосинтетического аппарата (23, 24).

По завершении каждого вегетационного опыта измеряли биометрические показатели роста растений, в том числе общую массу и массу органов — листьев, корней, стеблей. Площадь листовой ассимилирующей поверхности ( $S$ ) рассчитывали по формуле:  $S = (P \times S_1 \times n) / P_1$ , где  $S_1$  — площадь одной выскочки из листа;  $n$  — число выскочек;  $P$  — общая масса листьев, г;  $P_1$  — масса выскочек, г.

Статистическую обработку выполняли с программным обеспечением MS Excel 2003 и Statistica 8 («StatSoft Inc.», США). Приведены средние арифметические значения параметров ( $M$ ) и их доверительные интервалы ( $\pm SEM$ ) при 95 % уровне вероятности по  $t$ -критерию Стьюдента. В вегетационных экспериментах, где в вариантах объем выборки был небольшим (до 30 растений), достоверность различий между вариантами опыта определяли также с помощью непараметрического критерия парных сравнений Вилкоксона.

**Результаты.** Структурные формулы синтезированных нами водорастворимых производных  $C_{60}$  — фуллеренола, аддуктов  $C_{60}$  с аминокислотой L-лизином, L-треонином, L-аргинином и L-гидроксипролином представлены на рисунке. Выбор аминокислот для синтеза производных фуллере-на был обусловлен тем, что лизин, треонин и аргинин относятся к незаменимым аминокислотам, которые не синтезируются в организме человека и животных, а гидроксипролин интересен с точки зрения неспецифического повышения устойчивости растений к стрессовым воздействиям.



Результаты оценки влияния производных фуллеренов на растения яровой пшеницы и ячменя свидетельствуют, что присутствие этих соединений в корнеобитаемой среде способствовало формированию листьев большей площади, для которых также характерно более высокое содержание

хлорофиллов (табл. 1). При этом у яровой пшеницы сорта Ленинградская 6 указанные изменения были более выраженными, чем у ярового ячменя сорта Ленинградский. В целом полученные данные показали, что под влиянием производных фуллеренов формировался фотосинтетический аппарат, обладающий функциональным потенциалом, превышающим таковой у растений в контроле, что в итоге приводило к росту нетто-продуктивности. О способности фуллеренола увеличивать синтез хлорофилла в листьях 7-суточных проростков пшеницы сообщают Ch. Wang с соавт. (16).

Следует отметить, что у растений ячменя мы не обнаружили статистически значимых различий по содержанию хлорофиллов (ChlRI) и антоцианов (ARI) в листьях (см. табл. 1) при обработке аминокислотными производными фуллерена и соответствующими аминокислотами, в то время как у пшеницы треониновые и гидроксипролиновые производные фуллерена, присутствующие в питательном растворе, оказывали достоверно более выраженное стимулирующее (в отношении ChlRI) и ингибирующее (в отношении ARI) действие, чем собственно аминокислоты.

**1. Показатели физиологического состояния и нетто-продуктивность (отклонения от контролей, %) у яровых сортов ячменя Ленинградский и пшеницы Ленинградская 6 в присутствии производных фуллерена C<sub>60</sub> в корнеобитаемой среде (вегетационный опыт)**

Вещество	Содержание пигментов		LA	Сухая масса растений			
	ChlRI	ARI		корни	стебли	листья	общая
Ячмень сорта Ленинградский							
C <sub>60</sub> (ОН) <sub>20-24</sub>	+13	-17*	+19*	+105*	+79*	+54*	+67*
C <sub>60</sub> -аргинин	+8	-10	+16*	+38*	+22*	+15*	+27*
Аргинин	+9	-15*	+54*	+34*	+22*	+26*	+25*
C <sub>60</sub> -лизин	+12	-13*	+26*	+28*	+41*	+33*	+32*
Лизин	+13	-19*	+36*	+76*	+67*	+46*	+63*
C <sub>60</sub> -треонин	+16*	-25*	+15*	+69*	+69*	+32*	+50*
Треонин	+13	-18*	-9	+27*	+7	+2	+10
C <sub>60</sub> -гидроксипролин	+11	-23*	+0,5	+85*	+60*	+33*	+54*
Гидроксипролин	+8	-13*	+30*	+78*	+30*	+38*	+45*
Пшеница сорта Ленинградская 6							
C <sub>60</sub> (ОН) <sub>20-24</sub>	+54*	-17*	+89*	+296*	+275*	+177*	+226*
C <sub>60</sub> -аргинин	+23*	-7	+20*	+83*	+174*	+112*	+124*
Аргинин	+11	-9	+60*	+77*	+165*	+128*	+124*
C <sub>60</sub> -лизин	+19*	-10	+60*	+80*	+133*	+107*	+110*
Лизин	+20*	-11	+73*	+96*	+170*	+133*	+134*
C <sub>60</sub> -треонин	+32*	-24*	+38*	+84*	+188*	+112*	+127*
Треонин	+14*	-8	-37*	+87*	+14*	+3	+20*
C <sub>60</sub> -гидроксипролин	+47*	-17*	+49*	+138*	+284*	+178*	+197*
Гидроксипролин	+8	-3	-19*	+133*	+40*	+35*	+49*

Примечание. Представлены данные, усредненные по результатам двух аналогичных экспериментов (в каждом  $n = 30$ ), выполненных в регулируемых условиях. Состав 20 % азерируемого питательного раствора с микро- и макроэлементами описан ранее (9), продолжительность светового периода 14 ч, освещение лампами ДНАТ-400 (облученность 80-90 Вт/м<sup>2</sup> в области ФАР). ChlRI и ARI — индексы отражения, характеризующие содержание хлорофиллов (ChlRI) и антоцианов (ARI) в листьях растений (расчетные формулы индексов приведены ранее) (23, 24); LA — площадь листовой ассимилирующей поверхности. Биомассу растений оценивали на стадии 6-7-го листа (фаза выхода в трубку).

\* Различия с контролем статистически значимы при  $p < 0,05$ .

По имеющимся в литературе данным индукция синтеза антоцианов представляет собой неспецифический ответ на действие различных абиотических стрессоров — УФ-В радиацию, почвенную засуху, дефицит азота (23, 24). Как было обнаружено, внесение производных фуллерена C<sub>60</sub> в корнеобитаемую среду способствовало уменьшению содержания антоцианов в листьях ячменя и пшеницы. Это косвенно свидетельствует об улучшении физиологического состояния растений, что подтверждается более высокими показателями роста. Под действием производных фуллерена C<sub>60</sub> удлинялись корни, увеличивалась высота растений, число стеблей (данные не приведены) и в итоге возрастала биомасса растений и их органов — листь-

ев, стеблей, корней. Так, у обеих культур общая сухая масса (корни + стебли + листья) превышала соответствующие показатели в контроле на 27-226 % ( $p < 0,05$ ) при введении производных фуллера в корнеобитаемую среду (см. табл. 1). В эксперименте с некорневой обработкой растений ячменя и пшеницы наносоставами на основе производных фуллера сухая масса надземной части достоверно не отличалась от таковой в контроле, в то время как масса корней преимущественно была выше на 8-40 % (табл. 2).

## 2. Накопление биомассы у яровых сортов ячменя и пшеницы при некорневой обработке наносоставами на основе производных фуллера $C_{60}$ в благоприятных условиях (вегетационный опыт)

Вариант	Масса надземной части		Масса корней	
	г, $M \pm m$	отклонение от контроля, %	г, $M \pm m$	отклонение от контроля, %
Я ч м е н ь				
<i>Сорт Белогорский</i>				
Раствор	5,50±0,26		2,73±0,30	
Раствор + $C_{60}(OH)_{20-24}$	5,93±0,48	+7,8	2,97±0,31	+8,8
<i>Сорт Ленинградский</i>				
Раствор	2,10±0,20		0,50±0,05	
Раствор + $C_{60}(OH)_{20-24}$	1,98±0,20	-5,7	0,46±0,06	-8,0
Раствор + $C_{60}$ -треонин	2,00±0,20	-4,8	0,70±0,06*	+40,0*
Раствор + треонин	1,97±0,22	-6,2	0,50±0,06	0
П ш е н и ц а				
<i>Сорт Ленинградская 6</i>				
Раствор	0,75±0,14		0,33±0,08	
Раствор + $C_{60}(OH)_{20-24}$	0,76±0,18	+1,3	0,31±0,06	-6,1
Раствор + $C_{60}$ -треонин	0,79±0,16	+5,3	0,40±0,06*	+21,2*
Раствор + треонин	0,75±0,16	0	0,36±0,08	+9,1

Примечание. В каждом варианте опыта  $n = 50$ . Состав 20 % аэрируемого питательного раствора с микро- и макроэлементами описан ранее (9), продолжительность светового периода 14 ч, освещение лампами ДНаТ-400 (облученность 80-90 Вт/м<sup>2</sup> в области ФАР). Концентрация  $C_{60}$ -треонина 0,1 мг/л раствора,  $C_{60}(OH)_{20-24}$  — 15 мг/л раствора. Биомассу растений оценивали на стадии 6-7-го листа (фаза выхода в трубку).

\* Различия с контролем статистически значимы при  $p < 0,05$ .

Анализ, выполненный методами параметрической и непараметрической статистики, в частности расчет критерия Вилкоксона, показал достоверность выявленных различий между контролем и вариантами с применением производных фуллеренов. Отметим, что наибольшие прибавки по показателям роста относительно контроля вызывали фуллеренол, фуллерен  $C_{60}$ -оксипролин, фуллерен  $C_{60}$ -треонин. При этом питательные растворы, в которые вводили аминокислотные производные фуллера  $C_{60}$  с гидроксипролином, треонином и в меньшей степени с аргинином, оказывали существенно более значимое положительное действие на рост листьев, стеблей или корней растений, чем такие же растворы, но содержащие только аминокислоту, аналогичную входящей в состав аминокислотного производного. И наоборот, при попарном сравнении аминокислотных производных фуллеренов и соответствующих аминокислот выраженность положительного эффекта от присутствия в растворе лизина была больше, чем при добавлении аддукта  $C_{60}$  с лизином.

Установлено, что испытуемые производные фуллера значительно влияли на антиоксидантные системы растений ячменя и пшеницы (в наибольшей степени — в случае гидроксипролиновых или треониновых производных фуллера  $C_{60}$ ). При этом проявилось сходство и различия в реакции двух зерновых культур на воздействие указанных аминокислотных производных фуллера (табл. 3). Так, в листьях и корнях растений интенсивность ПОЛ снижалась под действием  $C_{60}$ -треонина и  $C_{60}$ -гидроксипролина преимущественно достоверно или в виде тенденции, причем более выражено у ячменя — в листьях (на 18 или 20 %;  $p < 0,05$ ), у пшеницы — в листьях в варианте с  $C_{60}$ -треонином (на 10 % при  $p < 0,05$ ) и в

корнях в присутствии С<sub>60</sub>-гидроксипролина (на 30 % при  $p < 0,05$ ). У ячменя активность СОД достоверно не изменялась в листьях и на 17-18 % ( $p < 0,05$ ) увеличивалась в корнях под действием обоих аминокислотных производных, в то время как у пшеницы отмечали слабую тенденцию к снижению этого показателя в листьях в вариантах с С<sub>60</sub>-гидроксипролином и С<sub>60</sub>-треонином и достоверное уменьшение в корнях (на 21 % при  $p < 0,05$ ) при добавлении С<sub>60</sub>-треонина.

### 3. Активность антиоксидантной системы у растений ярового ячменя сорта Ленинградский в присутствии С<sub>60</sub>-гидроксипролина и С<sub>60</sub>-треонина в корнеобиотаемой среде (вегетационный опыт)

Показатель	Листья, значение			Корни, значение		
	контроль	абсолютное	отклонение от контроля, %	контроль	абсолютное	отклонение от контроля, %
<b>С<sub>60</sub>-треонин</b>						
ПОЛ, ммоль/г	0,0065	0,0052*	-20*	0,0069	0,0064	-7
СОД, отн. ед.	1,0680	1,0770	+1	1,0770	1,2635*	+17*
АФК, отн. ед.	3,3300	6,2300*	+87*	0,3300	1,0300*	+212*
<b>С<sub>60</sub>-гидроксипролин</b>						
ПОЛ, ммоль/г	0,0065	0,0053*	-18*	0,0069	0,0069	0
СОД, отн. ед.	1,0680	0,9513	-11	1,0770	1,2669*	+18*
АФК, отн. ед.	3,3300	3,8700*	+16*	0,3300	0,6300*	+91*

Примечание. Представлены данные, усредненные по результатам двух аналогичных экспериментов (в каждом  $n = 30$ ), выполненных в регулируемых условиях. Состав 20 % аэрируемого питательного раствора с микро- и макроэлементами описан ранее (9), продолжительность светового периода 14 ч, освещение лампами ДНАТ-400 (облученность 80-90 Вт/м<sup>2</sup> в области ФАР). ПОЛ — пероксидация липидов, СОД — супероксиддисмутаза, АФК — активные формы кислорода. Состав питательного раствора с микро- и макроэлементами описан ранее (9).

\* Различия с контролем статистически значимы при  $p < 0,05$ .

### 4. Активность антиоксидантной системы у растений ярового ячменя сорта Ленинградский и яровой пшеницы сорта Ленинградская б при некорневой обработке растворами с С<sub>60</sub>-гидроксипролином и с С<sub>60</sub>-треонином (вегетационный опыт)

Показатель	Листья, значение			Корни, значение		
	контроль	абсолютное	отклонение от контроля, %	контроль	абсолютное	отклонение от контроля, %
<b>Яровой ячмень сорта Ленинградский</b>						
<b>С<sub>60</sub>-треонин</b>						
ПОЛ, ммоль/г	0,0069	0,0049*	-29*	0,0068	0,0134*	+97*
СОД, отн. ед.	0,7810	1,1925*	+53*	1,3396	1,1148*	-17*
АФК, отн. ед.	5,2000	4,0000*	-23*	0,2700	1,4700*	+444*
<b>С<sub>60</sub>-гидроксипролин</b>						
ПОЛ, ммоль/г	0,0069	0,0054*	-22*	0,0068	0,0064	-6
СОД, отн. ед.	0,7810	1,2123*	+55*	1,3396	1,0985*	-18*
АФК, отн. ед.	5,2000	5,1000	-2	0,2700	1,5000*	+456*
<b>Яровая пшеница сорта Ленинградская б</b>						
<b>С<sub>60</sub>-треонин</b>						
ПОЛ, ммоль/г	0,0060	0,0057	-5	0,0095	0,0098	+3
СОД, отн. ед.	0,9933	1,1542*	+16*	0,8738	0,9294	+6
АФК, отн. ед.	1,0700	1,9700*	+84*	0,9700	0,0300*	-97*
<b>С<sub>60</sub>-гидроксипролин</b>						
ПОЛ, ммоль/г	0,0060	0,0046*	-23*	0,0095	0,0067*	-30*
СОД, отн. ед.	0,9933	1,0240	+3	0,8738	0,9360	+7
АФК, отн. ед.	1,0700	0,5000*	-53*	0,9700	0,9700	0

Примечание. Представлены данные, усредненные по результатам двух аналогичных экспериментов (в каждом  $n = 30$ ), выполненных в регулируемых условиях. Состав 20 % аэрируемого питательного раствора с микро- и макроэлементами описан ранее (9), продолжительность светового периода 14 ч, освещение лампами ДНАТ-400 (облученность 80-90 Вт/м<sup>2</sup> в области ФАР). ПОЛ — пероксидация липидов, СОД — супероксиддисмутаза, АФК — активные формы кислорода. Состав питательного раствора с микро- и макроэлементами описан ранее (9).

\* Различия с контролем статистически значимы при  $p < 0,05$ .

Но наиболее контрастным при сравнении двух культур оказалось изменение содержания АФК в листьях и корнях под действием аминокислотных производных С<sub>60</sub>: от достоверного возрастания показателя у ячменя в корнях (на 91 и 212 %;  $p < 0,05$ ) и листьях (на 16 и 87 %;  $p < 0,05$ ), а так-

же у пшеницы в корнях (на 56 %,  $p < 0,05$ ) в вариантах с  $C_{60}$ -гидроксипролином до снижения этого значения для корней и листьев пшеницы (на 61 и 71 %;  $p < 0,05$ ) в случае  $C_{60}$ -треонина и тенденции к снижению — в листьях пшеницы при добавлении в питательный раствор  $C_{60}$ -гидроксипролина.

Значения ПОЛ, СОД и АФК в органах растений при некорневой обработке ячменя и пшеницы производными фуллерена изменялись в целом аналогично тому, что было описано при поступлении этих соединений в корнеобитаемую среду (табл. 4). Антиоксидантный эффект некорневой обработки растворами  $C_{60}$ -треонина и  $C_{60}$ -гидроксипролина был более выражен в листьях растений (преимущественное снижение значений ПОЛ и содержания АФК и увеличение активности СОД). В корнях, наоборот, проявлялись признаки усиления окислительных процессов, особенно у ячменя. Так, у растений этой культуры в корнях при некорневой обработке производными фуллерена (как и при нахождении их в корнеобитаемой среде) отмечали сильное увеличение содержания АФК (на 444 и 456 %;  $p < 0,05$ ), однако противоположным образом изменялась активность СОД и ПОЛ: у СОД она достоверно снижалась, у ПОЛ — увеличивалась в варианте с  $C_{60}$ -треонином и достоверно не изменяется в присутствии  $C_{60}$ -гидроксипролина. У пшеницы при некорневой обработке раствором  $C_{60}$ -гидроксипролина значимо снижался показатель ПОЛ, при применении  $C_{60}$ -треонина уменьшалось содержание АФК, по остальным оцениваемым показателям достоверных различий с контролем не отмечали.

Столь неоднозначные результаты можно объяснить неодинаковой чувствительностью ярового ячменя и яровой пшеницы указанных сортов к разного рода воздействиям (25). Так, увеличение содержания АФК в корнях и листьях у более отзывчивого на изучаемые вещества ячменя при их поступлении через корнеобитаемую среду или в корнях при некорневой обработке косвенно свидетельствуют о вероятном использовании активных форм кислорода в конструктивном метаболизме растений, а также, по всей видимости, об иммуномодулирующей роли аминокислотных производных  $C_{60}$ -гидроксипролина и  $C_{60}$ -треонина. Их эффект можно сравнить с действием вакцины, активирующей иммунный ответ на потенциально опасный фактор до его воздействия, что существенно повышает устойчивость растений. У менее реактивной (по сравнению с ячменем) пшеницы более выражен прямой антиоксидантный эффект аминокислотных производных как при взаимодействии с растениями через корнеобитаемую среду, так и при некорневой обработке.

Таким образом, у изученных производных фуллерена свойство влиять на рост и нетто-продуктивность растений связано с установленной способностью оказывать значимый регуляторный эффект на процессы синтеза пигментов растений, на эффективность работы фотосинтетического аппарата растений, а также на функции антиоксидантной системы защиты от окислительного стресса.

Ранее авторами статьи показана способность полиоксигидроксилированного производного фуллерена — фуллеренола предотвращать развитие окислительного стресса в клетках корней проростков у зерновых культур за счет снижения содержания свободных радикалов при действии стрессоров (УФ-В радиация, засоление или добавление салицилата в корнеобитаемую среду) и тем самым повышать устойчивость растений на ранних этапах развития (9).

Выявленные у растений ячменя и пшеницы эффекты производных фуллеренов в благоприятных условиях дали нам основание прогнозировать повышение устойчивости культур к действию факторов среды, вызывающих развитие окислительного стресса. Эксперименты по моделирова-



нию стресса в наиболее уязвимый период развития зерновых культур (выход в трубку) продемонстрировали защитные функции ряда производных фуллерена при некорневом применении. На примере ярового ячменя сорта Ленинградский выявлено, что на 2-е сут после облучения содержание хлорофиллов достоверно снизилось (на 4 %) в листьях контрольных растений и не изменилось в листьях растений, предварительно обработанных раствором С<sub>60</sub>-треонина (см. табл. 2, 5). То же самое наблюдалось на 7-е сут после УФ-В облучения. Содержание антоцианов, напротив, на 2-е сут после облучения закономерно увеличилось в листьях контрольных растений на 20 %, обработанных раствором С<sub>60</sub>-треонина — на 13 %, раствором треонина — на 8 %. Через 7 сут содержание антоцианов у контрольных облученных растений оставалось на 20 % выше такового у контрольных необлученных, в то время как в листьях, обработанных раствором С<sub>60</sub>-треонина, оно увеличилось уже на 17 %, раствором треонина — на 30 %. Отмеченное позволяет предположить, что последствия стрессового воздействия УФ-В радиацией на растения, предварительно обработанных раствором С<sub>60</sub>-треонина, были менее значимыми по сравнению с таковыми у контрольных облученных растений и растений, предварительно обработанных раствором аминокислоты треонина.

#### 5. Динамика содержания пигментов в листьях ячменя сорта Ленинградский при некорневой обработке растворами аминокислотных производных фуллерена (на примере С<sub>60</sub>-треонина) (вегетационный опыт)

Вариант	ChlRI, отн. ед.		ARI, отн. ед.		ChlRI, % от контроля		ARI, % от контроля	
	2-е сут	7-е сут	2-е сут	7-е сут	2-е сут	7-е сут	2-е сут	7-е сут
Раствор	0,512	0,478	0,521	0,482	100	100	100	100
Раствор + С <sub>60</sub> -треонин	0,523	0,484	0,486	0,494	102	101	93	103
Раствор + треонин	0,508	0,497	0,479	0,506	99	104	92	105
Раствор + УФ	0,492	0,456	0,627*	0,578*	96	95	120*	120*
Раствор + УФ + С <sub>60</sub> -треонин	0,512	0,494	0,587*	0,565*	100	103	113*	117*
Раствор + треонин + УФ	0,507	0,471	0,563*	0,624*	99	99	108*	130*

Примечание. В каждом варианте опыта  $n = 50$ . Состав 20 % аэрируемого питательного раствора с микро- и макроэлементами описан ранее (9), продолжительность светового периода 14 ч, освещение лампами ДНАТ-400 (облученность 80-90 Вт/м<sup>2</sup> в области ФАР). Концентрация С<sub>60</sub>-треонина 0,1 мг/л раствора. УФ — УФ-В облучение растений в дозе 20 кДж/м<sup>2</sup>. Контроль — не подвергшиеся обработке УФ-В радиацией растения, выращенные на растворе без С<sub>60</sub>-треонина.

\* Различия с контролем статистически значимы при  $p < 0,05$ .

#### 6. Биомасса (отклонение от контроля, %) у растений ярового ячменя при некорневой обработке наносоставами на основе производных фуллерена С<sub>60</sub> и последующем УФ-В облучении (вегетационный опыт)

Вариант	Масса надземной части	Масса корней
Сорт Белогорский		
Раствор + С <sub>60</sub> (ОН) <sub>20-24</sub>	+7,8	+8,8
Раствор + УФ	-32,7*	-9,5
Раствор + УФ + С <sub>60</sub> (ОН) <sub>20-24</sub>	-13,1	+11,7
Сорт Ленинградский		
Раствор + С <sub>60</sub> -треонин	-4,8	+40,0*
Раствор + треонин	-6,2	0
Раствор + УФ	-33,3*	-20,0*
Раствор + УФ + С <sub>60</sub> -треонин	-23,8*	-2,0
Раствор + треонин + УФ	-28,6*	-8,0

Примечание. В каждом варианте опыта  $n = 50$ . Состав 20 % аэрируемого питательного раствора с микро- и макроэлементами описан ранее (9), продолжительность светового периода 14 ч, освещение лампами ДНАТ-400 (облученность 80-90 Вт/м<sup>2</sup> в области ФАР). Концентрация С<sub>60</sub>-треонина 0,1 мг/л раствора, С<sub>60</sub>(ОН)<sub>20-24</sub> — 15 мг/л раствора. УФ — УФ-В облучение растений в дозе 20 кДж/м<sup>2</sup>.

\* Различия с контролем статистически значимы при  $p < 0,05$ .

В результате устойчивость обработанных наносоставами растений ячменя к действию УФ-В радиации, судя по массе надземной части и корней, была существенно (на 10-20 %) выше, чем у контрольных облученных растений, у которых под воздействием стрессора масса надземной части

снижалась примерно на 33 %, масса корней — на 10-20 % (табл. 6). Следует отметить тенденцию к более эффективному влиянию производного фуллерена с треонином по сравнению с действием одной аминокислоты.

Итак, в регулируемых условиях выявлено стимулирующее влияние производных фуллерена  $C_{60}$  — фуллеренола и аддуктов фуллерена  $C_{60}$  с треонином, лизином, аргинином, гидроксипролином на показатели роста и нетто-продуктивности у яровой пшеницы и ячменя. Это связано с регуляторным воздействием на процессы синтеза фотосинтетических пигментов и фотосинтетический аппарат, а также с антиоксидантным эффектом, усиливающим защиту растений от окислительного стресса. Указанные изменения в состоянии растений наиболее выражены при действии фуллеренола,  $C_{60}$ -треонина и  $C_{60}$ -гидроксипролина. Стрессоустойчивость растений ячменя, обработанных этими соединениями, при действии УФ-В радиации была на 10-20 % выше, чем у контрольных облученных растений. Полученные данные свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения механизмов влияния водорастворимых производных фуллеренов на растения и среду их обитания с целью создания высокоэффективных препаратов для растениеводства, у которых высокая эффективность в малых концентрациях и экологическая безопасность сочетаются с низкими затратами на применение благодаря твердой порошкообразной форме (в отличие от жидких условных аналогов).

<sup>1</sup>ФГБНУ Агрофизический научно-исследовательский институт,

195220 Россия, г. Санкт-Петербург, Гражданский просп., 14,  
e-mail: gaiane@inbox.ru ✉, ykanash@yandex.ru, himlabafi@yandex.ru, lanikina@yandex.ru, verteb22@mail.ru, sinad@inbox.ru, udal59@inbox.ru, sblokhina@agrophys.ru;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет,

198504 Россия, г. Санкт-Петербург—Петродворец, Университетский пр., 26,  
e-mail: k.semenov@spbu.ru;

<sup>3</sup>Санкт-Петербургский государственный технологический институт (Технический университет),

190013 Россия, г. Санкт-Петербург, Московский пр., 26,  
e-mail: ncharykov@yandex.ru;

<sup>4</sup>ФГБНУ ФИЦ Всероссийский институт

генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова,  
190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44,  
e-mail: akme11@yandex.ru, dkor4@yandex.ru;

<sup>5</sup>Восточно-Казахстанский государственный технический университет им. Д. Серикбаева,

070004 Республика Казахстан, г. Усть-Каменогорск, ул. А.К. Протожанова, 69,  
e-mail: nkulnova@ektu.kz

Поступила в редакцию  
28 марта 2017 года

*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2018, V. 53, № 1, pp. 38-49

## FULLERENE DERIVATIVES INFLUENCE PRODUCTION PROCESS, GROWTH AND RESISTANCE TO OXIDATIVE STRESS IN BARLEY AND WHEAT PLANTS

G.G. Panova<sup>1</sup>, E.V. Kanash<sup>1</sup>, K.N. Semenov<sup>2</sup>, N.A. Charykov<sup>3</sup>, Yu.V. Khomyakov<sup>1</sup>,  
L.M. Anikina<sup>1</sup>, A.M. Artem'eva<sup>4</sup>, D.L. Korniyukhin<sup>4</sup>, V.E. Vertebnyi<sup>1</sup>, N.G. Sinyavina<sup>1</sup>,  
O.R. Udalova<sup>1</sup>, N.A. Kulenova<sup>5</sup>, S.Yu. Blokhina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Agrophysical Research Institute*, Federal Agency for Scientific Organizations, 14, Grazhdanskii prosp., St. Petersburg, 195220 Russia, e-mail gaiane@inbox.ru (✉ corresponding author), ykanash@yandex.ru, himlabafi@yandex.ru, lanikina@yandex.ru, verteb22@mail.ru, sinad@inbox.ru, udal59@inbox.ru, sblokhina@agrophys.ru;

<sup>2</sup>*Saint Petersburg State University*, 26, Universitetskii pr., St. Petersburg—Petrodvorets, 198504 Russia, e-mail k.semenov@spbu.ru;

<sup>3</sup>*Saint-Petersburg State Institute of Technology (Technical University)*, 26, Moskovskii pr., St. Petersburg, 190013 Russia, e-mail ncharykov@yandex.ru;

<sup>4</sup>*Federal Research Center the Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources*, Federal Agency for Scientific Organizations, 42-44, ul. Bol'shaya Morskaya, St. Petersburg, 190000 Russia, e-mail akme11@yandex.ru, dkor4@yandex.ru;

ORCID:

Panova G.G. orcid.org/0000-0002-1132-9915

Kanash E.V. orcid.org/0000-0002-8214-8193

Semenov K.N. orcid.org/0000-0003-2239-2044

Charykov N.A. orcid.org/0000-0002-4744-7083

Khomyakov Yu.V. orcid.org/0000-0003-3245-8801

Anikina L.M. orcid.org/0000-0001-5217-174X

Artemyeva A.M. orcid.org/0000-0002-6551-5203

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Supported financially by Russian Foundation for Basic Research (project № 15-29-05837 ofi\_m)

Received March 28, 2017

Kornyukhin D.L. orcid.org/0000-0001-9181-5368

Vertebnyi V.E. orcid.org/0000-0002-7817-2721

Sinyavina N.G. orcid.org/0000-0003-0378-7331

Udalova O.R. orcid.org/0000-0003-3521-0254

Kulnova N.A. orcid.org/0000-0002-7063-4899

Blokhina S.Yu. orcid.org/0000-0003-3492-6808

doi: 10.15389/agrobiology.2018.1.38eng

## Abstract

Creation of effective environment-friendly preparations to improve productivity and sustainability of agro- and ecosystems is of current interest. Carbon nanostructures, such as the water-soluble C<sub>60</sub> and C<sub>70</sub> fullerene derivatives presently used in biomedicine and pharmacology, are considered perspective agents for agriculture. It was shown that they can penetrate into the cell membranes owing to lipophilicity and nanosize, transport medicinal substances to target cells and have antioxidant activity. The mechanism underlying the influence of water-soluble fullerene derivatives on plants in agroecosystems remains unclear. In the paper, we for the first time report the effects of C<sub>60</sub> fullerene derivatives on the processes that determine the net productivity and plant resistance to oxidative stress. In the study we used fulleranol and the fullerene C<sub>60</sub> adducts with the three essential amino acids, threonine, lysine, arginine, and also with the amino acid hydroxyproline, which were previously synthesized following a one-step procedure. Stimulating effects of these fullerene derivatives on the growth of spring wheat and barley were observed in two vegetation experiments carried out in controlled conditions (aerated nutrient solution, plant growing light equipment) when the compounds were added to the root habitated medium and under non-root treatment. It was shown that the biomass of leaves, stems, and roots in plants increased by 27-226 % (p < 0.05). Statistical analysis using the Wilcoxon test confirmed the reliability of the differences found. Fulleranol, fullerene C<sub>60</sub>-hydroxyproline, and fullerene C<sub>60</sub>-threonine caused the greatest increase when compared to the control. Obviously, the observed effect was associated with the established ability of fulleranol and C<sub>60</sub> fullerene amino acid derivatives to exert regulatory activity on the synthesis of photosynthetic pigments and, as a consequence, on the efficiency of photosynthesis. A comparison of the reflection indexes characterizing the content of chlorophylls (ChlRI) and anthocyanins (ARI) in leaves showed that the photosynthetic apparatus with a greater potential is generally formed under the influence of fullerene derivatives. Under the influence of these derivatives, the lipid peroxidation intensity also decreased and superoxide dismutase was activated while reactive oxygen species generation in leaves and (or) roots increased (predominantly in barley) or decreased. These changes in plants were the most expressed at fulleranol, C<sub>60</sub>-threonine and C<sub>60</sub>-hydroxyproline action. Under stress modeling (UV-B irradiation, 20 kJ/m<sup>2</sup>), the UV-resistance of barley plants after not-root treatment with fulleranol, C<sub>60</sub>-threonine and C<sub>60</sub>-hydroxyproline, when estimated by the dry weight of the above ground parts and roots, was 10-20 % higher compared to that of the control irradiated plants which were of less weight (by ≈ 33 % for stems and leaves, and by 10-20 % for roots). Thus, the study revealed the positive influence of synthesized amino acid derivatives of fullerene C<sub>60</sub> and fulleranol on the plant production process and resistance to oxidative stress. High efficiency in small concentrations, low expenses for application and environmental friendliness indicate the perspective of these compounds and necessitate further studying the mechanisms of their action on the soil-plant system to create preparations for use in plant growing.

Keywords: amino acid fullerene C<sub>60</sub> derivatives, fulleranol, plant production processes, optimization, oxidative stress, resistance, ecologically safe preparations, plant growing.

## REFERENCES

1. Piotrovskii L.B., Kiselev O.I. *Fullereny v biologii* [Fullerenes in biology]. St. Petersburg, 2006 (in Russ.).
2. Semenov K.N., Charykov N.A., Keskinov V.A. Fulleranol synthesis and identification. Properties of fulleranol water solutions. *J. Chem. Eng. Data*, 2011, 56: 230-239 (doi: 10.1021/je100755v).
3. Piotrovskii L.B. *Rossiiskie nanotekhnologii*, 2007, 2(7-8): 6-18 (in Russ.).
4. Andreev I., Petrukhnina A., Garmanova A., Babakhin A., Andreev S., Romanova V., Troshin P., Troshina O., DuBuske L. Penetration of fullerene C<sub>60</sub> derivatives through biological membranes. *Fullerenes, Nanotubes, and Carbon Nanostructures*, 2008, 16: 89-102 (doi: 10.1080/15363830701885831).
5. Kornev A.B., Troshina O.A., Troshin P.A. Biologicheski aktivnye proizvodnye fulleranolov, metody ikh

- polucheniya i primeneniye v meditsine. V knige: *Organicheskie i gibridnye nanomaterialy: tendentsii i perspektivy* /Pod redaktsiei V.F. Razumova, M.V. Klyueva [Organic and hybrid nanomaterials: trends and prospects. V.F. Razumov, M.V. Klyuev (eds.)]. Ivanovo, 2013: 392-485 (in Russ.).
6. Gao J., Wang Y., Folta K.M., Krishna V., Bai W., Indeglia P., Georgieva A., Nakamura H., Koopman B., Moudgi B. Polyhydroxy fullerenes (fullerols or fullerlenols): beneficial effects on growth and lifespan in diverse biological models. *PLoS ONE*, 2011, 6(5): e19976 (doi: 10.1371/journal.pone.0019976).
  7. Zhao Y.Y., Yang B., Tang M.L. Guo Q-Ch., Chen Ju-T., Wen L-P., Wang M. Concentration-dependent effects of fullerene on cultured hippocampal neuron viability. *Int. J. Nanomed.*, 2012, 7: 3099-3109 (doi: 10.2147/IJN.S30934).
  8. Kole C., Kole P., Randunu K.M., Choudhary P., Podila R., Ke P.C., Rao A.M., Marcus R.K. Nanobiotechnology can boost crop production and quality: first evidence from increased plant biomass, fruit yield and phytochemistry content in bitter melon (*Momordica charantia*). *BMC Biotechnol.*, 2013, 13: 37-58 (doi: 10.1186/1472-6750-13-37).
  9. Panova G.G., Kitorova I.N., Skobeleva O.V., Sinjavina N.G., Charykov N.A., Semenov K.N. Impact of polyhydroxy fullerene (fullerol or fullereneol) on growth and biophysical characteristics of barley seedlings in favourable and stressful conditions. *Plant Growth Regul.*, 2016, 79: 309-317 (doi: 10.1007/s10725-015-0135-x).
  10. Chen R., Ratnikova T.A., Stone M.B., Lin S., Lard M., Huang G., Hudson J.S., Ke P. C. Differential uptake of carbon nanoparticles by plant and Mammalian cells. *Small*, 2010, 6: 612-617 (doi: 10.1002/sml.200901911).
  11. Dugan L.L., Lovett E.G., Quick K.L., Lotharius J., Lin T.T., O'Malley K.L. Fullerene-based antioxidants and neurodegenerative disorders. *Parkinsonism Relat. Disord.*, 2001, 7: 243-246 (doi: 10.1016/S1353-8020(00)00064-X).
  12. Gharbi N., Pressac M., Hadchouel M., Szwarc H., Wilson S.R., Moussa F. [60]Fullerene is a powerful antioxidant in vivo with no acute or subacute toxicity. *Nano Lett.*, 2005, 5: 2578-2585 (doi: 10.1021/nl051866b).
  13. Yin J.J., Lao F., Fu P.P., Wamer W.G., Zhao Y., Wang P.C., Qiu Y., Sun B., Xing G., Dong J., Liang X.-J., Chen C. The scavenging of reactive oxygen species and the potential for cell protection by functionalized fullerene materials. *Biomaterials*, 2009, 30(4): 611-621 (doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.09.061).
  14. Lin S., Reppert J., Hu Q., Hudson J.S., Reid M.L., Ratnikova T.A., Rao A.M., Luo H., Ke P.C. Uptake, translocation, and transmission of carbon nanomaterials in rice plants. *Small*, 2009, 5: 1128-1132 (doi: 10.1002/sml.200801556).
  15. Avanasri R., Jackson W.A., Sherwin B., Mudge J.F., Anderson T.A. C60 fullerene soil sorption, biodegradation, and plant uptake. *Environ. Sci. Technol.*, 2014, 48(5): 2792-2797 (doi: 10.1021/es405306w).
  16. Wang C., Zhang H., Ruan L., Chen L., Li H., Chang X.-L., Zhang X., Yang S.-T. Bioaccumulation of <sup>13</sup>C-fullereneol nanomaterials in wheat. *Environ. Sci.: Nano*, 2016, 4: 1-7 (doi: 10.1039/C5EN00276A).
  17. Semenov K.N., Charykov N.A., Namazbaev V.I., Keskinov V.A. *Sposob polucheniya smesi fullerolenolov*. Patent RF na izobretenie RU 2495821 C2. ZAO ILIP (RU), OOO Agrofizprodukt (RU). № 2010122963/05. Zayavl. 04.06.2010. Opubl. 20.10.2013. Byul. № 29 [Method for the preparation of a mixture of fullerlenols. Patent RU 2495821 C2. ZAO ILIP (RU), OOO Agrophysprodukt (RU). № 2010122963/05. Appl. 04.06.2010. Publ. 20.10.2013. Bul. № 29 (in Russ.).
  18. Semenov K.N., Charykov N.A., Keskinov V.A., Keskinova M.V., SaFYannikov N.M., Shubina V.A. *Sposob polucheniya fullerolenolov*. Patent RF na izobretenie RU 2481267 C2. OOO «Biogel'tek» (RU). № 2011106276/05. Zayavl. 11.02.2011. Opubl. 10.05.2013. Byul. № 13 [Method for the preparation of fullerlenols. Patent RU 2481267 C2. OOO «Biogel'tek» (RU). № 2011106276/05. Appl. 02/11/2011. Publ. . 10.05.2013. Bul. № 13] (in Russ.).
  19. Panova G.G., Chernousov I.N., Udalova O.R., Aleksandrov A.V., Karmanov I.V., Anikina L.M., Sudakov V.L. *Doklady RASKHN*, 2015, 4: 17-21 (in Russ.).
  20. Purvid A.C., Shewfeld R.L., Gegogeeine J.W. Superoxide production in mitochondria isolated from green bell pepper fruit. *Physiologia Plantarum*, 1995, 94: 743-749 (doi: 10.1111/j.1399-3054.1995.tb00993.x).
  21. Lukatkin A.S. *Fiziologiya rastenii*, 2002, 49: 697-702 (in Russ.).
  22. Nekrasova G.F., Kiseleva I.S. *Ekologicheskaya fiziologiya rastenii* [Plant ecophysiology]. Ekaterinburg, 2008 (in Russ.).
  23. Yakushev V.P., Kanash E.V., Osipov Yu.A., Yakushev V.V., Lekomtsev P.V., Voropaev V.V. [Optical criteria during contact and distant measurements sowing state of wheat and photosynthesis effectiveness on the background of deficit of mineral nutrition]. *Agricultural Biology*, 2010, 3: 94-101 (in Russ.).
  24. Kanash E.V., Panova G.G., Blokhina S.Yu. Optical criteria for assessment of efficiency and adaptogenic characteristics of biologically active preparations. *Acta Horticulturae*, 2013, 1009: 37-44 (doi: 10.17660/ActaHortic.2013.1009.2).
  25. Kanash E.V., Ermakov E.I. V sbornike: *Reguliruemaya agroekosistema v rastenievodstve i ekofiziologii* [Control of agroecosystems in plant growing and ecophysiology]. St. Petersburg, 2007: 232-253 (in Russ.).