

ДЕГРАДАЦИЯ, ВОССТАНОВЛЕНИЕ И ОХРАНА ПОЧВ

УДК 631.46;57.044

ОЦЕНКА ЭКОТОКСИЧНОСТИ НАНОЧАСТИЦ МЕДИ, НИКЕЛЯ И ЦИНКА ПО БИОЛОГИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ ЧЕРНОЗЕМА

© 2019 г. С. И. Колесников¹, *, А. Н. Тимошенко¹,
К. Ш. Казеев¹, Ю. В. Акименко¹, М. А. Мясникова¹

¹Академия биологии и биотехнологий им. Д.И. Иванковского, Южный федеральный университет,
ул. Стачки, 194/1, Ростов-на-Дону, 344090 Россия

*e-mail: kolesnikov@sfedu.ru

Поступила в редакцию 13.11.2017 г.

После доработки 15.11.2018 г.

Принята к публикации 15.02.2019 г.

Проведена оценка экотоксичности наночастиц размером 50–100 нм Cu, Ni и Zn по изменению биологических показателей чернозема обыкновенного (Haplic Chernozem (Loamic)) (Ростов-на-Дону) в лабораторном модельном опыте с инкубированием образцов почвы с нанопорошками Cu, Ni и Zn, внесенными в почву в дозах 100, 1000, 10000 мг/кг. Биологические показатели состояния почвы определяли через 10, 30 и 90 суток после загрязнения. Загрязнение чернозема наночастицами Cu, Ni и Zn привело к уменьшению общей численности бактерий, обилия бактерий рода *Azotobacter*, активности каталазы и дегидрогеназ, всхожести и длины корней семян редиса. Достоверных случаев горьмезиса не зафиксировано. Наночастицы Cu и Zn проявили большую токсичность, чем наночастицы Ni, что не согласуется с существующей гипотезой, в соответствии с которой токсичность наночастиц зависит только от их размера и не зависит от химической природы элемента. По интегральному показателю биологического состояния почвы наибольшая токсичность наночастиц Cu, Ni, Zn наблюдалась на 30 сутки от момента загрязнения.

Ключевые слова: загрязнение, тяжелые металлы, биотестирование, нанопорошки

DOI: 10.1134/S0032180X19080094

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в результате развития нанотехнологий и роста объемов производства наноматериалов возрастает опасность загрязнения окружающей среды техногенными наночастицами (НЧ). Отрасль производства и применения нанопорошков получает все большее развитие и распространение. Средние ежегодные темпы роста отрасли составляют 15%. На рынке нанопорошков чистых металлов по 16.5% выпуска приходится на порошки Ni и Cu, среди лидеров также Fe, Al, Zn и Ti [11, 14]. На 2014 г. объемы мирового производства нанопорошков оксидов металлов в тоннах составляют: ZnO – 32000–36000, CuO – 290–570, NiO – 2–20 [31].

Поскольку наноматериалы являются новым классом продукции, оценка их потенциальной опасности для окружающей среды и здоровья человека является крайне актуальной. Этой проблеме посвящаются все больше исследований. Полученные результаты противоречивы: одни авторы свидетельствуют о безопасности загрязнения окружающей среды НЧ, другие указывают на существенные риски.

В частности, при исследовании влияния на состояние почв и растений загрязнения Cu, Ni и Zn чаще наблюдали негативный эффект. Зарегистрировано негативное воздействие на численность и активность бактерий в почве при загрязнении НЧ Cu [9, 22, 48], Zn [48, 49], Ni [10]; на активность ферментов в почве при загрязнении НЧ Zn, Cu [3, 40, 41], на состояние растений при загрязнении НЧ Cu [26, 40, 51] и Zn [27, 29, 33, 40, 44, 50, 56]. Однако в ряде исследований отмечено стимулирующее воздействие НЧ Zn, Cu на ферментативную активность почв [19] и НЧ Cu на состояние растений [12, 15, 16].

На фоне противоречивости результатов оценки токсичности НЧ все исследователи едины в необходимости развития эконанотоксикологических исследований в связи с нарастающей опасностью загрязнения окружающей среды техногенными НЧ в результате развития нанотехнологий и роста производства наноматериалов.

Наиболее остро в настоящее время стоят вопросы выбора и/или разработки методов оценки экотоксичности техногенных НЧ и установления механизмов их токсичности.

Цель настоящего исследования — оценить экотоксичность наночастиц меди, никеля и цинка по биологическим показателям чернозема обыкновенного в лабораторном модельном опыте.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали чернозем обыкновенный южно-европейской фации (североприазовский) карбонатный слабогумусированный тяжелосуглинистый [5]. Согласно классификации WRB — *haplic Chernozem (Loamic)*. Черноземы являются самыми плодородными почвами в мире и играют ведущую роль в производстве продуктов питания на планете. Отбор почвы проводили в Ботаническом саду Южного федерального университета (Россия, г. Ростов-на-Дону) из пахотного горизонта (0–25 см). Горизонт имеет тяжелосуглинистый гранулометрический состав, плотность — 1,3 г/см³, pH 7,8, содержание $C_{орг}$ — 1,8%, вскипает от 10%-ной соляной кислоты.

Для исследования были выбраны нанопорошки Cu, Ni и Zn, которые производятся промышленностью в наибольших количествах [11, 14, 31]. Размеры частиц Cu составляли 50–100 нм, Ni — 70–80 нм, Zn — 90–150 нм. Изучали действия разных концентраций металлов — 100, 1000, 10000 мг/кг. Исходили из того, что негативное воздействие тяжелые металлы начинают проявлять с концентрации около 3 фонов. Содержание в исследуемом черноземе Cu составляют 41 мг/кг, Ni — 46, Zn — 82. Для сравнения степени токсичности всех трех элементов их вносили в почву в одинаковом количестве.

Почву инкубировали в вегетационных сосудах в трехкратной повторности при температуре 20–22°C, весовой влажности почвы 25% и плотности почвы 1,2 г/см³. Лабораторно-аналитические исследования выполняли с использованием методов, общепринятых в биологии почв [4, 13]. Общую численность бактерий в почве учитывали методом прямого люминесцентного микроскопирования по Звягинцеву и Кожевину на микроскопе “Микмед-11”, обилие бактерий рода *Azotobacter* — методом комочков обрастания на среде Эшби, активность каталазы определяли по скорости разложения пероксида водорода по методу Галстяна, активность дегидрогеназ — по скорости окисления трифенилтетразолия хлористого по методу Галстяна в модификации Хазиева, фитотоксичность почв — по всхожести и длине корней редиса сорта Корунд.

На основе вышеперечисленных биологических показателей определяли интегральный показатель биологического состояния (ИПБС) почвы [6]. Для расчета ИПБС значение каждого из указанных выше показателей на контроле (в неза-

грязненной почве) принимали за 100%, и по отношению к нему выражали в процентах значения в остальных вариантах опыта (в загрязненной почве). Затем определяли среднее значение выбранных показателей для каждого варианта опыта. Используемая методика позволяет интегрировать относительные значения разных показателей, абсолютные значения которых не могут быть объединены в единый показатель, так как имеют разные единицы измерения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Загрязнение чернозема обыкновенного наночастицами Cu, Ni и Zn привело к снижению общей численности бактерий, обилия бактерий рода *Azotobacter*, активности каталазы и дегидрогеназ, всхожести и длины корней семян редиса (табл. 1). Как правило, наблюдалось достоверное уменьшение всех исследованных биологических показателей. Только в двух случаях зафиксировано статистически недостоверное увеличение активности дегидрогеназ на 90 сутки при загрязнении почвы 100 мг меди и цинка.

Степень снижения зависела от природы металла и его концентрации в почве. В большинстве случаев наблюдалась прямая зависимость между концентрацией загрязняющего вещества и степенью ухудшения исследуемых свойств почвы.

Согласно сертификатам производителя НЧ, использованных в исследовании, при контакте с воздухом НЧ Cu, Zn и Ni окисляются с образованием оксидов и гидроксидов. Вероятно, при внесении в почву НЧ Cu, Zn и Ni окислялись до оксидов. Далее оксиды в результате взаимодействия с водой превращались в гидроксиды и, частично, в гидрокарбонаты при взаимодействии с углекислым газом. В конечном итоге в результате диссоциации образовывались ионы металлов. Можно предположить, что основное влияние на бактерии, ферменты и растения оказали именно ионы Cu^{2+} , Zn^{2+} и Ni^{2+} .

Микробиологические показатели. В результате загрязнения наночастицами Cu, Ni и Zn наблюдалось снижение общей численности бактерий и обилия бактерий рода *Azotobacter* на всех сроках инкубации. Более сильное воздействие оказали наночастицы Cu и Zn. Наночастицы Ni были менее токсичны. В большинстве случаев общая численность бактерий в почве уменьшалась сильнее, чем обилие бактерий рода *Azotobacter*. Однако при внесении в чернозем НЧ Cu и Zn в количестве 10000 мг/кг бактерии рода *Azotobacter* полностью подавлялись. Ни один другой биологический показатель из исследованных не снижался до нуля. Наночастицы Ni оказали на бактерии рода *Azotobacter* значительно менее сильное токсическое воздействие. Таким образом, показатель

Таблица 1. Влияние загрязнения наночастицами никеля, цинка и меди на биологические показатели чернозема обыкновенного, % от контроля

Элемент	Срок компостирования, дней	Содержание металла в почве, мг/кг			НСР _{0.05}	Элемент	Срок компостирования, дней	Содержание металла в почве, мг/кг			НСР _{0.05}
		100	1000	10000				100	1000	10000	
Общая численность бактерий					Активность дегидрогеназ						
Ni	10	81	62	58	9	Zn	10	95	60	57	7
	30	50	44	39	7		30	61	42	44	5
	90	53	42	29	6		90	105	96	78	8
Zn	НСР _{0.05}	8	8	8		Cu	НСР _{0.05}	6	4	4	
	10	52	23	13	5		10	38	35	23	4
	30	56	18	12	5		30	66	53	39	6
Cu	90	58	26	9	5	НСР _{0.05}	90	102	88	43	7
	НСР _{0.05}	7	4	2			НСР _{0.05}	4	4	2	
	10	55	33	21	6		Всхожесть				
Ni	30	46	25	13	5	Ni	10	72	59	62	11
	90	40	19	11	5		30	65	48	33	9
	НСР _{0.05}	6	4	3			90	88	78	68	13
Обилие бактерий рода <i>Azotobacter</i>					Zn	НСР _{0.05}	14	11	10		
Ni	10	97	84	59		9	10	62	44	33	9
	30	96	94	54		10	30	60	43	35	9
	90	94	89	79	10	90	75	68	65	12	
Zn	НСР _{0.05}	8	8	5		Cu	НСР _{0.05}	12	9	8	
	10	92	79	0	8		10	62	62	51	10
	30	87	54	0	7		30	58	53	45	10
Cu	90	87	79	0	7	НСР _{0.05}	90	83	80	63	12
	НСР _{0.05}	8	6	0			НСР _{0.05}	12	12	10	
	10	97	64	0	7		Длина корней редиса				
Ni	30	92	54	0	7	Ni	10	64	34	32	7
	90	71	59	0	6		30	61	31	13	6
	НСР _{0.05}	7	5	0			90	49	40	22	6
Активность каталазы					Zn	НСР _{0.05}	8	6	4		
Ni	10	84	75	60		7	10	53	23	25	6
	30	79	71	64		7	30	62	33	31	6
	90	80	67	42	6	90	80	28	25	7	
Zn	НСР _{0.05}	5	5	4		Cu	НСР _{0.05}	9	5	5	
	10	79	65	40	6		10	72	58	15	7
	30	77	67	29	6		30	44	41	23	6
Cu	90	72	60	28	6	НСР _{0.05}	90	58	56	29	7
	НСР _{0.05}	5	5	2			НСР _{0.05}	8	9	4	
	10	76	66	58	6		Интегральный показатель биологического состояния (ИПБС) почвы				
Ni	30	62	59	43	6	Ni	10	82	66	58	
	90	66	63	50	6		30	72	57	39	
	НСР _{0.05}	4	4	4			90	75	65	47	
Активность дегидрогеназ					Zn	10	72	49	28		
Ni	10	95	83	74		8	30	67	43	25	
	30	80	56	33		6	90	79	59	34	
	90	88	77	43	7	Cu	10	66	53	28	
НСР _{0.05}	6	5	3		30		61	48	27		
					90		70	61	32		

Примечание. НСР_{0.05} – наименьшая существенная разность для 5%-ного уровня значимости.

обилия бактерий рода *Azotobacter* проявил себя очень чувствительным только при загрязнении Cu и Zn и только в экстремально высокой дозе – 10000 мг/кг. Во всех остальных случаях обилие бактерий рода *Azotobacter* снижалось незначительно. Это противоречит данным, полученным другими исследователями, свидетельствующим о высокой чувствительности азотфиксирующих бактерий к НЧ, в миллион раз превосходящей восприимчивость других групп прокариот [1, 17].

Как отмечают многие исследователи, информация о механизмах токсичности наночастиц для бактерий незначительна [23, 26, 33]. Токсичность НЧ Cu для бактерий подробно исследована в работах [20, 27, 28, 42, 45, 53]. Основной причиной токсичности для бактерий называют ионы Cu^{2+} , высвобождаемые из НЧ CuO [25, 26, 32, 34, 38, 47].

Показатели ферментативной активности. Негативное воздействие наночастиц Cu, Ni и Zn на ферментативную активность чернозема в большинстве случаев было менее сильное, чем на микробиологические и фитотоксические показатели. В большинстве случаев активность дегидрогеназ снижалась немного меньше, чем активность каталазы. Активность дегидрогеназ проявила себя как наиболее устойчивый к загрязнению показатель из исследованных. В двух случаях зафиксировано увеличение активности дегидрогеназ на 90-е сутки после загрязнения почвы 100 мг НЧ Cu и Zn, но статистически недостоверное. Отрицательное воздействие наночастиц Cu и Zn на активность дегидрогеназ почвы было отмечено и другими исследователями [40, 41].

Механизм ингибирующего действия НЧ металлов на ферменты, по-видимому, обусловлен их взаимодействием с сульфгидрильными группами [21, 30, 35, 37, 46, 54].

Показатели фитотоксичности. На фитотоксические свойства чернозема (всхожесть и длина корней редиса) наибольшее влияние оказали наночастицы Zn. При загрязнении наночастицами Ni и Cu отмечалась равная степень снижения всхожести. С увеличением концентрации загрязняющих веществ всхожесть и длина корней редиса уменьшались. Наибольшее негативное воздействие проявилось на 30-е сутки загрязнения. На 90-е сутки наблюдалась тенденция к восстановлению всхожести редиса для всех исследуемых веществ. Таким образом, в настоящем исследовании была зафиксирована существенная токсичность наночастиц Cu, Ni и Zn. В других исследованиях чаще наблюдали негативное воздействие на состояние растений НЧ Cu и Zn [3, 26, 27, 29, 33, 40, 44, 50, 51, 56], но в некоторых работах было зафиксировано стимулирующее воздействие НЧ Cu [12, 15, 16].

Механизмы токсичности НЧ ТМ для растений связывают с ингибированием основных физио-

логических процессов, включая фотосинтез, минеральное питание и связь с водой [18, 43, 55]. Как было отмечено выше, НЧ ТМ вызывают инактивацию ферментов в результате взаимодействия с сульфгидрильными группами белков, что приводит к нарушению обмена веществ и вызывает хлороз, некроз, задержку роста побегов и корней [46, 54, 58].

Влияние природы элемента. Наночастицы Cu и Zn проявили большую экотоксичность, чем частицы Ni. Это не подтверждает существующую гипотезу, что токсичность наночастиц зависит от их размера и не зависит от химической природы элемента. Для оксидов и водорастворимых солей этих ТМ наблюдалась несколько иная закономерность: Cu и Ni имели близкую токсичность [8] и были более токсичны, чем Zn [2, 7].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Загрязнение чернозема обыкновенного наночастицами Cu, Ni и Zn привело к уменьшению общей численности бактерий, обилия бактерий рода *Azotobacter*, активности каталазы и дегидрогеназ, всхожести и длины корней семян редиса. Как правило, наблюдалось достоверное снижение всех исследованных биологических показателей. Достоверных случаев горемезиса зафиксировано не было.

Наночастицы Cu и Zn проявили большую экотоксичность, чем наночастицы Ni. Во-первых, это не подтверждает существующую гипотезу, что токсичность наночастиц зависит только от их размера и не зависит от химической природы элемента. Во-вторых, для оксидов и водорастворимых солей этих металлов характерна несколько иная закономерность: Cu и Ni более токсичны, чем Zn.

Динамика изменения биологических показателей была разнонаправлена. Если судить по ИПБС почвы, то наибольшая токсичность наночастиц Cu, Ni, Zn наблюдалась на 30 сутки от момента загрязнения.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (5.5735.2017/8.9) и грантов Президента Российской Федерации (НШ-3464.2018.11).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Баклицкая О.* Наночастицы серебра могут быть опасны // Наука и жизнь 19.04.2011 URL: <http://www.nkj.ru/news/19470/> (дата обращения 01.03.2016).
2. *Водяницкий Ю.Н.* Загрязнение почв тяжелыми металлами и металлоидами и их экологическая опасность (аналитический обзор) // Почвоведение. 2013. № 7. С. 872–881.

3. Дерябина Т.Д. Оценка безопасности ионов, нано- и микрочастиц железа и меди в тесте прорастания семян *Triticum aestivum* // Вестник Оренбургского гос. ун-та. 2011. № 12(131). С. 386–389.
4. Казеев К.Ш., Колесников С.И. Биодиагностика почв: методология и методы исследований. Ростов-на-Дону: Изд-во Южного федерального университета, 2012. 260 с.
5. Классификация и диагностика почв СССР. М.: Колос, 1977. 221 с.
6. Колесников С.И., Евреинова А.В., Казеев К.Ш., Вальков В.Ф. Изменение эколого-биологических свойств чернозема при загрязнении тяжелыми металлами второго класса опасности (Mo, Co, Cr, Ni) // Почвоведение. 2009. № 8. С. 1007–1013.
7. Колесников С.И., Казеев К.Ш., Вальков В.Ф., Пономарева С.В. Ранжирование химических элементов по степени их экологической опасности для почвы // Доклады РАСХН. 2010. № 1. С. 27–29.
8. Колесников С.И., Ярославцев М.В., Спивакова Н.А., Казеев К.Ш. Сравнительная оценка устойчивости биологических свойств разных подтипов черноземов юга России к загрязнению Cr, Cu, Ni, Pb (в модельном эксперименте) // Почвоведение. 2013. № 2. С. 195–200.
9. Мамонова И.А. Действие наночастиц меди на клинические штаммы *Staphylococcus epidermidis* // Вестник новых медицинских технологий. 2011. Т. XVIII. № 1. С. 27–28.
10. Мамонова И.А., Бабушкина И.В. Антибактериальная активность наночастиц никеля II // Инфекция и иммунитет. 2012. Т. 2. № 1–2. С. 225.
11. Маркетинговое исследование рынка нанопорошков. М.: Маркетинговая группа “Текарт”, 2009. 38 с.
12. Маслоброд С.Н., Миргород Ю.А., Бородин В.Г., Борщ Н.А. Влияние водных дисперсных систем с наночастицами серебра и меди на прорастание семян // ЭОМ. 2014. № 4. С. 103–112.
13. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. Д.Г. Звягинцева М.: Изд-во Моск. ун-та, 1991. 304 с.
14. На пороге новых технологий. Аналитический обзор. [http:// fs.moex.com/files/2496/](http://fs.moex.com/files/2496/) (дата обращения 02.08.2017).
15. Фомина М.А., Иванычева Ю.Н., Чурилов Г.И. Влияние нанопорошков меди и оксида меди на морфологические показатели, химический состав и состояние антиоксидантной защиты вика озимой // Вестник РУДН. Сер. Экология и безопасность жизнедеятельности. 2012. № 3. С. 67–72.
16. Чурилов Г.И. Влияние нанопорошков железа, меди, кобальта в системе почва–растение // Вестник ОГУ. Т. 106. № 12. 2009. С. 148–151.
17. Якушева Е.В., Сизова Е.А., Гавриш И.А., Лебедев С.В., Каюмов Ф.Г. Действие наночастиц Al₂O₃ на почвенный микробиоценоз, состояние антиоксидантной системы и микрофлору кишечника красного калифорнийского червя (*Eisenia foetida*) // Сельскохозяйственная биология. 2017. Т. 52. № 1. С.191–199.
18. Ali S., Farooq M.A., Yasmeen T., Hussain S., Arif M.S. The influence of silicon on the growth of barley, photosynthesis and ultrastructure in chromium-stress // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2013. V. 89. P. 66–72.
19. Asadishad B., Chahal S., Akbari A., Cianciarelli V., Azodi M., Ghoshal S., Tufenkji N. Amendment of Agricultural Soil with Metal Nanoparticles: Effects on Soil Enzyme Activity and Microbial Community Composition // Environ. Sci. Technol. 2018. V. 52. № 4. P. 1908–1918.
20. Baek Y.W., An Y.J. Microbial toxicity of metal oxide nanoparticles (CuO, NiO, ZnO, and SbO₂) to *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, and *Streptococcus aureus* // Sci. Total Environ. 2011. V. 409. № 8. P. 1603–1608.
21. Bayraktar H., Ghosh P.S., Rotello V. M., Knapp M.J. Disruption of protein-protein interactions using nanoparticles: Inhibition of cytochrome C peroxidase // Chem. Comm. 2006. № 13. P. 1390–1392.
22. Ben-Moshe T., Frenk S., Dror I., Minz D., Berkowitz B. Effects of metal oxide nanoparticles on soil properties // Chemosphere. 2013. V. 90. № 2. P. 640–646.
23. Chatterjee A.K., Chakraborty R., Basu T. Mechanism of antibacterial activity of copper nanoparticles // Nanotechnology. 2014. V 25. № 13. P. 1–2.
24. Deryabin D., Aleshina E., Vasilchenko A., Deryabina T., Efremova L., Karimov I., Korolevskaya L.B. Investigation of copper nanoparticles antibacterial mechanisms tested by luminescent *Escherichia coli* strains // Nanotechnol. Russia. 2013. № 8. P. 402–408.
25. Dimkpa C.O., Calder A., Britt D.W., McLean J.E., Anderson A.J. Responses of a soil bacterium, *Pseudomonas chlororaphis* O6 to commercial metal oxide nanoparticles compared with responses to metal ions // Environ. Pollut. 2011. V. 159. № 7. P. 1749–1756.
26. Dimkpa C.O., Mclean J.E., Britt D.W., Anderson A.J. CuO and ZnO nanoparticles differently affect the secretion of fluorescent siderophores in the beneficial root colonizer, *Pseudomonas chlororaphis* O6 // Nanotoxicology. 2012. V. 6. № 6. P. 635–642.
27. Dimkpa C.O., McLean J.E., Britt D.W., Johnson W.P., Arey B., Lea A.S., Anderson A.J. Nanospecific inhibition of pyoverdine siderophore production in *Pseudomonas chlororaphis* O6 by CuO nanoparticles // Chem. Res. Toxicol. 2012. V. 25. № 5. P. 1066–1074.
28. Dinesh R., Anandaraj M., Srinivasan V., Hamza S. Engineered nanoparticles in the soil and their potential implications to microbial activity // Geoderma. 2012. V. 173. P. 19–27.
29. El-Temsah Y.S., Joner E.J. Impact of Fe and Ag nanoparticles on seed germination and differences in bioavailability during exposure in aqueous suspension and soil // Environ. Toxicol. 2012. V. 27. № 1. P. 42–49.
30. Fischer N.O., McIntosh C.M., Simard J.M., Rotello V.M. Inhibition of chymotrypsin through surface binding using nanoparticle-based receptors // Proceedings of the

- National Academy of Sciences of the United States of America. 2002. V. 99. № 7. P. 5018–5023.
31. Future Markets. Nanomaterials. The Global Market for Copper Oxide Nanoparticles, 2010–2025. Future Markets: Tomorrow's technology, Today. 2015. (available at <http://www.futuremarketsinc.com/global-market-copper-oxide-nanoparticles-2010-2025>)
32. Gajjar P., Pettee B., Britt D.W., Huang W., Johnson W.P., Anderson A.J. Antimicrobial activities of commercial nanoparticles against an environmental soil microbe, *Pseudomonas putida* KT2440 // J. Biol. Eng. 2009. № 3. P. 1–13.
33. Ghosh M., Bhadra S., Adegoke A., Bandyopadhyay M., Mukherjee A. MWCNT uptake in *Allium cepa* root cells induces cytotoxic and genotoxic responses and results in DNA hyper-methylation // Mutation Research. Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. 2015. V. 774. P. 49–58.
34. Gunawan C., Teoh W.Y., Marquis C.P., Amal R. Cytotoxic origin of copper (II) oxide nanoparticles: comparative studies with micron-sized particles, leachate, and metal salts // ACS Nano. 2011. V. 5. № 9. P. 7214–7225.
35. Hong R., Fischer N.O., Verma A., Goodman C.M., Erick T., Rotello V.M. Control of protein structure and function through surface recognition by tailored nanoparticle scaffolds // J. Am. Chem. Soc. 2004. V. 126. № 3. P. 739–743.
36. Jin L., Son Y., DeForest J.L., Kang Y.J., Kim W., Chung H. Single-walled carbon nanotubes alter soil microbial community composition // Sci. Total. Environ. 2014. V. 466. № 1. P. 533–538.
37. Karajanagi S.S., Vertegel A.A., Kane R.S., Dordick J.S. Structure and function of enzymes adsorbed onto single-walled carbon nanotubes // Langmuir 2004. V. 20. № 26. P. 11594–11599.
38. Karlsson H.L., Cronholm P., Gustafsson J., Moller L. Copper oxide nanoparticles are highly toxic: a comparison between metal oxide nanoparticles and carbon nanotubes // Chem. Res. Toxicol. 2008. V. 21. № 9. P. 1726–1732.
39. Kim H.J., Phenrat T., Tilton R.D., Lowry G.V. Effect of kaolinite, silica fines and pH on transport of polymer-modified zero valent iron nano-particles in heterogeneous porous media // J. Colloid Interface Sci. 2012. V. 370. № 1. P. 1–10.
40. Kim S., Kim J., Lee I. Effects of Zn and ZnO nanoparticles and Zn²⁺ on soil enzyme activity and bioaccumulation of Zn in *Cucumis sativus* // Chemistry and Ecology. 2011. V. 27. № 1. P. 49–55.
41. Kim S., Sin H., Lee S., Lee I. Influence of Metal Oxide Particles on Soil Enzyme Activity and Bioaccumulation of Two Plants // J. Microbiol. Biotechnol. 2013. V. 23. № 9. P. 1279–1286.
42. Kumar N., Shah V., Walker V.K. Perturbation of an arctic soil microbial community by metal nanoparticles // J. Hazard. Mater. 2011. V. 190. № 1–3. P. 816–822.
43. Li X., Yang Y., Jia L., Chen H., Wei X. Zinc-induced oxidative damage, antioxidant enzyme response and proline metabolism in roots and leaves of wheat plants // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2013. V. 89. P. 150–157.
44. Lin D., Xing B. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth // Environ. Pollut. 2007. V. 150. № 2. P. 243–250.
45. Mahapatra O., Bhagat M., Gopalakrishnan C., Arunachalam K.D. Ultrafine dispersed CuO nanoparticles and their antibacterial activity // J. Exp. Nanosci. 2008. V. 3. № 3. P. 185–193.
46. Manceau A., Nagy K.L., Marcus M.A., Lanson M., Geoffroy N., Jacquet T. Formation of metallic copper nanoparticles at the soil–root interface // Environ. Sci. Technol. 2008. V. 42. № 5. P. 1766–1772.
47. Mortimer M., Kasemets K., Ma, Vodovnik Marinš ek-Logar R., Kahru A. Exposure to CuO nanoparticles changes the fatty acid composition of protozoa *Tetrahymena thermophile* // Environ. Sci. Technol. 2011. V. 45. № 15. P. 6617–6624.
48. Neal A.L. What can be inferred from bacterium-nanoparticle interactions about the potential consequences of environmental exposure to nanoparticles? // Ecotoxicology. 2008. V. 17. № 5. P. 362–371.
49. Padmavathy N., Vijayaraghavan R. Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles – an antimicrobial study // Sci. Technol. Adv. Mater. 2008. V. 9. № 3. P. 581–588.
50. Riahi-Madvar A., Rezaee F., Jalali V. Effects of alumina nanoparticles on morphological properties and antioxidant system of *Triticum aestivum* // Iranian J. Science and Technology, Transactions of Electrical Engineering. 2012. V. 3. № 1. P. 595–603.
51. Shaw A.K., Hossain Z. Impact of nano-CuO stress on rice (*Oryza sativa* L.) seedlings // Chemosphere. 2013. V. 93 № 6. P. 906–915.
52. Wang Z.L.J., Zhao J., Xing B. Toxicity and internalization of CuO nanoparticles to prokaryotic alga *Microcystis aeruginosa* as affected by dissolved organic matter // Environ. Sci. Technol. 2011. V. 45. № 14. P. 6032–6040.
53. Wang Z.L.Y., Wu B., Horst A., Kang Y., Tang Y.J., Chen D.R. Anti-microbial activities of aerosolized transition metal oxide nanoparticles // Chemosphere. 2010. V. 80. № 5 P. 525–529.
54. Xiong Z.T.W.H. Copper toxicity and bioaccumulation in Chinese cabbage (*Brassica pekinensis* Rupr.) // Environ. Toxicol. 2005. № 20. P. 188–194.
55. Yadav G., Shrivastava P.K., Singh V.P., Prasad S.M. The intensity of light changes the degree of arsenic toxicity in seedlings *Helianthus annuus* L. // Biological Trace Element Research. 2014. V. 158. № 1. P. 410–421.
56. Yan S., Zhao L., Li H., Zhang Q., Tan J., Huang M., He S., Li L. Single-walled carbon nanotubes selectively influence maize root tissue development accompanied by the change in the related gene expression // J. Hazardous Materials. 2013. V. 246–247. P. 110–118.
57. Yruela I. Copper in plants // Brazilian J. Plant Physiology. 2005. V. 17. № 1. P. 145–156.

Assessment of Ecotoxicity of Copper, Nickel, and Zinc Nanoparticles on the Basis of Biological Indicators of Chernozems

S. I. Kolesnikov^{a,*}, A. N. Timoshenko^a, K. Sh. Kazeev^a, Yu. V. Akimenko^a, and M. A. Myasnikova^a

^a*Ivanovsky Academy of Biology and Biotechnology, Southern Federal University, Rostov-on-Don, 344090 Russia*

**e-mail: kolesnikov@sfedu.ru*

Ecotoxicity of nanoparticles (50–100 nm) of Cu, Ni, and Zn was assessed from changes in the biological indicators of an ordinary chernozem (Haplic Chernozem (Loamic)) in Rostov-on-Don in the laboratory model experiment with incubation of the soil samples with nanopowders of these elements added to the soils in concentrations of 100, 1000, and 10000 mg/kg. The biological indicators were determined in 10, 30, and 90 days after the soil contamination. The addition of Cu, Ni, and Zn nanoparticles led to a decrease in the total number of bacteria, abundance of *Azotobacter* bacteria, catalase and dehydrogenase activities, and germination and length of the roots of radish seeds. Reliable cases of hormesis were not detected. Nanoparticles of Cu and Zn showed a higher toxicity than Ni nanoparticles, which is inconsistent with the hypothesis, according to which the toxicity of nanoparticles depends only on their size and does not depend on the chemical nature of an element. According to the integral indicator of the biological state of the soil, the greatest toxicity of Cu, Ni, and Zn nanoparticles was observed on the 30th day after the pollution.

Keywords: pollution, heavy metals, biotesting, nanopowders