

ОЦЕНКА ЭКОТОКСИЧНОСТИ ЧАСТИЦ СЕРЕБРА РАЗНОГО РАЗМЕРА ПО БИОЛОГИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ ЧЕРНОЗЕМА

© 2024 г. Н. И. Цепина^а, С. И. Колесников^а, Т. В. Минникова^{а, *},
А. С. Русева^а, Д. А. Труфанов^а, К. Ш. Казеев^а

^аЮжный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского,
пр-т Стачки, 194/1, Ростов-на-Дону, 344090 Россия

*e-mail: loko261008@yandex.ru

Поступила в редакцию 19.05.2023 г.

После доработки 15.12.2023 г.

Принята к публикации 16.12.2023 г.

Оценивали экотоксичность частиц Ag разного размера по микробиологическим, биохимическим и фитотоксическим показателям верхнего слоя (0–20 см) чернозема обыкновенного (Haplic Chernozem) в лабораторном модельном эксперименте. Исследовали влияние нано- (10 и 100 нм) и микрочастиц (1000 нм) Ag в концентрациях 1, 10 и 100 мг/кг на биологические показатели чернозема обыкновенного через 30 сут после загрязнения: активность каталазы, дегидрогеназ, ферриредуктазы, уреазы, пероксидазы, полифенолоксидазы, инвертазы, фосфатазы, общую численность бактерий, обилие бактерий рода *Azotobacter*, количество проросших семян и длину корней редиса. Установлено, что экотоксичность частиц Ag зависит от их размера: в большинстве случаев частицы Ag размером 10 нм оказывали более сильное экотоксическое влияние на биологические показатели, чем частицы размером 100 и 1000 нм. Существенных различий в экотоксичности частиц Ag размером 100 и 1000 нм выявлено не было. Разница в воздействии частиц Ag различного размера усиливалась с увеличением концентрации Ag в почве: чем больше концентрация Ag в почве (от 1 до 100 мг/кг), тем более выражено отличие в экотоксичности между частицами Ag 10 нм и частицами 100 и 1000 нм. Более чувствительны к загрязнению наночастицами Ag фитотоксические показатели при всех исследованных концентрациях (1, 10 и 100 мг/кг); общая численность бактерий, активность инвертазы и фосфатазы – при 10 и 100 мг/кг; обилие бактерий рода *Azotobacter* и активность дегидрогеназ – при 100 мг/кг. Эти показатели целесообразно использовать при биодиагностике экотоксичности наночастиц Ag.

Ключевые слова: загрязнение почв, наночастицы Ag, микрочастицы Ag, биотестирование

DOI: 10.31857/S0032180X24050093, **EDN:** YLAOHV

ВВЕДЕНИЕ

В результате деятельности человека, включающей синтез, переработку и утилизацию продукции, содержащей наночастицы серебра (AgNPs), увеличивается поступление Ag в окружающую среду, в том числе в почву [11, 35, 38]. При этом экологические последствия загрязнения почв Ag, в том числе наночастицами, исследованы в значительно меньшей степени, чем загрязнение другими тяжелыми металлами. Благодаря антибактериальным свойствам AgNPs широко используются в различных промышленных и бытовых целях, что приводит к неуклонно растущему производству AgNPs и, как следствие, загрязнению ими почв и наземных экосистем [45]. Когда AgNPs попадают в потоки отходов, они накапливаются в осадке сточных вод на очистных сооружениях. Осадки сточных вод могут

быть использованы в качестве удобрений для сельскохозяйственных почв [11, 19]. Кроме того, AgNPs часто применяются в сельском хозяйстве в качестве нанопестицидов и противогрибковых средств [16]. Среди ученых возникают опасения по поводу вероятных угроз AgNPs для здоровья экосистем. Попадая в почву, AgNPs оказывают непосредственное влияние на животных, растения, бактерии и ферменты. Существуют исследования, которые демонстрируют экотоксические эффекты AgNPs, проявляющиеся в ингибировании активности почвенных ферментов [21, 26, 43, 44, 54], численности бактерий [24, 26, 40] и почвенных животных [37, 48], снижении количества проросших семян, длины корней и побегов растений [20, 33, 34, 50, 52]. Таким образом, изменения ферментативной активности, микробиологических и фитотоксических показателей

почвы под воздействием частиц Ag могут служить ранними индикаторами любого неблагоприятного воздействия, которое эти частицы оказывают на здоровье и качество почвы и, как следствие, на ее плодородие.

В литературе встречаются исследования, посвященные сравнительной оценке экотоксичности AgNPs разного размера для обитателей почвенных экосистем. Однако результаты этих исследований противоречивы. Ранее выявлено, что более экотоксичны AgNPs меньшего размера (10–20 нм) [36], для растений (20 нм) [23], для бактерий (10 нм) [56] и для дождевых червей (20 нм) [37]. Показано, что уровень прорастания семян и последующий их рост снижались с увеличением размеров и концентраций AgNPs [52]. Однако есть исследования, в которых экотоксичность AgNPs (30, 80 и 200 нм) [39] и AgNPs (10 и 50 нм) [21], оцененная по активности почвенных ферментов, не зависела от размера частиц.

Представляется актуальным провести комплексную оценку экотоксичности частиц Ag разного размера (10, 100 и 1000 нм) по широкому спектру биологических показателей почвы.

Цель работы – оценка экотоксичности частиц Ag разного размера (10, 100 и 1000 нм) по микробиологическим, биохимическим и фитотоксическим показателям чернозема обыкновенного (Naplic Chernozem) в лабораторном модельном эксперименте.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Характеристика объектов исследования. В качестве объекта исследования выбраны черноземы обыкновенные, Naplic Chernozem [53]. Они занимают значительные территории на Юге России и играют огромную роль в производстве сельскохозяйственной продукции, поэтому снижение их плодородия в результате загрязнения крайне нежелательно. Образцы почвы для модельных лабораторных исследований отбирали из поверхностного слоя ($A_{\text{пах}}$ 0–20 см) почвы на пашне опытного участка Ботанического сада Южного федерального университета (г. Ростов-на-Дону, Россия). Используемая в исследовании почва имеет тяжелосуглинистый гранулометрический состав, содержание гумуса 4.4% и нейтральную реакцию среды pH 7.8. В данном исследовании pH определяли в водной вытяжке почва : вода 1 : 2.5. В инкубационные сосуды закладывали почву с диаметром частиц от 3 до 5 мм, после просеивания почвы через сито с соответствующими размерами отверстий. Частицы Ag сначала растирали с небольшим количеством почвы, а затем смешивали с основной массой образца. В пластиковые контейнеры объемом 500 мл в трехкратной повторности вносили по 300 г почвы с частицами Ag.

Характеристика наночастиц. В исследовании использовали частицы Ag трех размеров (10, 100 и 1000 нм) в виде порошков, форма сферическая, CAS 7440-22-4, производства Alfa Aesar by Thermo Fisher Scientific (Германия). Химическая чистота частиц Ag составляла около 99.99%. Данные характеристики частиц Ag заявлены производителем.

Методика лабораторного моделирования. В лабораторных условиях было смоделировано загрязнение чернозема обыкновенного нано- (размером 10 и 100 нм) и микрочастицами (размером 1000 нм) Ag в концентрациях 1, 10 и 100 мг/кг почвы. Согласно литературным данным, размер наночастиц, содержащихся в образцах окружающей среды и потребительских товарах, составляет от 10 до 100 нм, однако чаще всего встречаются частицы размером 10–20 нм [14], содержание Ag в почвах составляет от 0.01 до 126 мг/кг [27]. Для оценки влияния нано- (10 и 100 нм) и микрочастиц (1000 нм) Ag на биологические показатели чернозема обыкновенного исследовали верхний слой почвы (0–20 см). Именно в этом слое почвы происходит накопление тяжелых металлов, в том числе Ag. Дозы были рассчитаны исходя из фоновых концентраций Ag. Фоновое содержание Ag в черноземе обыкновенном составляет 0.10 мг/кг. Фоновое содержание Ag в почве было определено методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС) на приборах Elan-DRC-e или Agilent 7700x в ФГУП “Всероссийский научно-исследовательский геологический институт им. А.П. Карпинского”. Оценку влияния нано- (10 и 100 нм) и микрочастиц (1000 нм) Ag на биологические свойства чернозема проводили через 30 сут после загрязнения. Как установлено ранее [31], максимальную экотоксичность тяжелые металлы (в том числе Ag) проявляют на 30 сут после загрязнения, далее наблюдается тенденция восстановления биологических свойств почв. Эксперимент проводили при температуре 22°C и оптимальном увлажнении (60% от полевой влагоемкости). Инкубационные сосуды с почвой и частицами Ag закладывали в трехкратной повторности.

Методы исследования. Для оценки биологических свойств чернозема и экотоксичности частиц Ag исследовали биологические показатели, поскольку именно они первыми реагируют на антропогенное воздействие и показывают нарушение нормального состояния и функционирования почвы [6].

Методы оценки экотоксичности частиц Ag представлены в табл. 1 [6]. Выбор биологических показателей обусловлен следующими причинами. Почвенные микроорганизмы играют ключевую роль в экологических функциях почвы и непосредственно влияют на биологические и геохимические процессы. Они регулируют циклы углерода, азота и серы посредством разложения органических веществ, иммобилизации и минерализации элементов питания [24, 47]. Почвенные микроорганизмы обладают

высокой чувствительностью к загрязнению тяжелыми металлами [8]. Общее количество бактерий в почве характеризует состояние редуцентов в экосистеме. Бактерии рода *Azotobacter* традиционно используются в качестве индикатора состояния почвы при химическом загрязнении. Отклик бактериального сообщества почв на загрязнение Ag определяли по показателям общей численности бактерий (методом люминесцентной микроскопии по Д.Г. Звягинцеву) и обилия бактерий рода *Azotobacter* (методом обрастания комочков на среде Эшби).

В качестве тест-объекта для оценки фитотоксичности выбран редис (*Raphanus sativus* L. var. *radicula*), сорт “18 дней”, поскольку семена этого растения имеют небольшой запас питательных веществ и чувствительны к внешним воздействиям, в частности, к загрязнению тяжелыми металлами [3]. Для оценки фитотоксичности из каждого

вегетационного сосуда через 30 сут после загрязнения было отобрано по 40 г почвы в трехкратной повторности. Навеску почвы помещали в чашки Петри, увлажняли до 80% полной влагоемкости и перемешивали до однородной консистенции. В подготовленную таким образом почву высаживали по 20 семян редиса. Исследуемые образцы находились в условиях постоянной оптимальной температуры, влажности и освещения в климатической камере KBW 240 (Binder). Продолжительность эксперимента составляла 7 сут. Фитотестирование основывалось на сравнении количества проросших семян (шт.) и длины корней (мм) в контрольном и опытных вариантах, поскольку они являются наиболее информативными среди широкого спектра показателей прорастания семян и интенсивности начального роста растений [32].

Таблица 1. Методы исследования экотоксичности частиц Ag

Параметр	Метод	Ссылка
Общая численность бактерий	Метод люминесцентной микроскопии с использованием красителя акридинового оранжевого, подсчет численности бактерий проводили при увеличении $\times 40$	[5]
Обилие бактерий рода <i>Azotobacter</i>	Методом обрастания комочков почвы бактериями рода <i>Azotobacter</i> на среде Эшби	[12]
Количество проросших семян редиса	Оценка количества проросших семян редиса (<i>Raphanus sativus</i> L. var. <i>radicula</i>), через 7 сут эксперимента	[1]
Длина корней редиса	Измерение длины редиса (<i>Raphanus sativus</i> L. var. <i>radicula</i>) через 7 сут эксперимента	[1]
Активность каталазы (H_2O_2 : H_2O_2 – оксидоредуктаза, КФ 1.11.1.6)	Волюметрический метод по скорости разложения перекиси водорода, мл O_2 /(г почвы мин)	[2]
Активность дегидрогеназ (субстрат: НАД (Ф) – оксидоредуктаза, КФ 1.1.1.1)	По интенсивности восстановления в анаэробных условиях трифенилтетразолия хлористого (ТТХ) до трифенилформазанов (ТФФ), мг ТФФ/(10 г почвы 24 ч)	[13]
Активность пероксидазы (донор: H_2O_2 – оксидоредуктаза, КФ 1.11.1.7)	Колориметрическим методом по окислению гидрохинона в хиноны, мг 3,4-бензохинона в 1 г почвы за 30 мин	[7]
Активность полифенолоксидазы (О-дифенол оксидоредуктаза, КФ 1.10.3.1)	Колориметрическим методом по окислению гидрохинона в хиноны, мг 3,4-бензохинона/(1 г почвы 30 мин)	[7]
Активность ферриредуктазы (НАД (Ф) $\times$ H_2 : Fe_2O_3 – оксидоредуктазы, КФ 1.6.99)	Колориметрическим методом по количеству восстановленного трехвалентного железа, мг Fe_2O_3 /(100 г почвы 48 ч)	[13]
Активность инвертазы (β -фруктофуранозидаза, сахароза, КФ 3.2.1.26)	Колориметрическим методом по изменению содержания редуцирующих сахаров, мг глюкозы/(г почвы 24 ч)	[13]
Активность фосфатазы (фосфогидролазы моноэфиров ортофосфорной кислоты, КФ 3.1.3.1–2)	Колориметрическим методом по изменению содержания нитрофенолов с образованием органического фосфора и минеральных субстратов, мкг п-нитрофенола/(г почвы ч)	[22, 51]
Активность уреазы (карбамид – амидогидролаза, КФ 3.5.1.5)	Гидролиз карбамида до аммиака и углекислого газа, мг NH_3 /(10 г почвы за 24 ч)	[2]

Ферментативная активность является важным показателем качества почв, отражает широкий диапазон биологических процессов в почве, многие из показателей ферментативной активности являются чувствительными и информативными при оценке почв, загрязненных тяжелыми металлами [10]. В связи с чем был исследован широкий спектр показателей ферментативной активности почвы класса оксидоредуктаз (каталаза, дегидрогеназы, пероксидаза, полифенолоксидаза, ферриредуктаза) и гидролаз (уреаза, инвертаза, фосфатаза) с использованием соответствующих методов.

Для проверки полученных данных на достоверность был проведен дисперсионный анализ с последующим определением наименьшей существенной разницы (НСР).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изменение микробиологических показателей при загрязнении частицами Ag разного размера (10, 100 и 1000 нм). Результаты влияния нано- (10 и 100 нм) и микрочастиц (1000 нм) Ag на микробиологические показатели (общую численность бактерий и обилие бактерий рода *Azotobacter*) представлены в табл. 2. Концентрация 1 мг/кг микрочастиц Ag (1000 нм) вызвала снижение общей численности бактерий на 15% относительно контроля. При внесении 10 мг/кг наночастиц размером 10 нм общая численность бактерий снижалась на 88%, при внесении наночастиц Ag размером 100 нм — на 22%, микрочастицы Ag размером 1000 нм снижали численность бактерий на 20% относительно контрольных значений соответственно. При концентрации 100 мг/кг наночастицы размером 10 и 100 нм вызвали уменьшение общей

Таблица 2. Влияние нано- (10 и 100 нм) и микрочастиц (1000 нм) Ag на микробиологические свойства и фитотоксичность чернозема обыкновенного

Размер частиц Ag, нм	Контроль	Содержание элемента в почве, мг/кг			НСР _{0.05}
		1	10	100	
Микробиологические показатели					
Общая численность бактерий, млрд/г почвы					
10	3.67	3.38	0.81	0.40	0.19
100	3.67	3.42	3.23	2.29	0.29
1000	3.67	3.11	2.93	2.48	0.28
НСР _{0.05}		0.35	0.25	0.18	
Обилие бактерий рода <i>Azotobacter</i> , %					
10	100	100	95	23	12
100	100	100	100	100	-
1000	100	100	100	100	-
НСР _{0.05}		-	10	8	
Фитотоксические показатели					
Количество проросших семян редиса, шт					
10	17.5	15.0	13.0	10.5	1.4
100	17.5	17.5	16.5	15.0	1.75
1000	17.5	16.0	15.5	15.0	1.58
НСР _{0.05}		1.75	1.58	0.89	
Длина корней редиса, мм					
10	52.3	38.5	27.5	6.7	3.14
100	52.3	58.7	52.3	35.5	5.23
1000	52.3	47.1	55.0	34.0	4.71
НСР _{0.05}		5.23	4.71	2.62	

численности бактерий на 89 и 38%, а микрочастицы Ag размером 1000 нм — на 32%. Ранее установлено, что дозы 0,5, 5, 10, 50 и 100 мг/кг наночастиц Ag (AgNPs) уменьшали относительную популяцию почвенных бактерий относительно контрольных значений на 22, 40, 59, 73 и 82% соответственно [15]. Как и в настоящем исследовании, степень снижения микробиологических показателей зависела от дозы AgNPs в почве, а максимальное снижение показателя зафиксировано при 100 мг/кг [15]. В работе [26] аналогичная концентрация 1 мг/кг наночастиц Ag вызвала уменьшение микробной биомассы и численности азотфиксирующих бактерий.

При концентрациях 10 и 100 мг/кг частицы Ag размером 10 нм оказали более сильное экотоксическое влияние на общую численность бактерий, чем частицы Ag размеров 100 и 1000 нм, что подтверждено статистически. Однако при дозе 1 мг/кг статистически достоверная разница между степенью экотоксического влияния частиц Ag на общую численность бактерий отсутствовала.

Снижение обилия бактерий рода *Azotobacter* отмечено только при концентрации 100 мг/кг наночастиц размером 10 нм на 77% относительно контроля.

При дозе 100 мг/кг частицы Ag размером 10 нм оказали более сильное экотоксическое влияние на обилие бактерий рода *Azotobacter*, чем частицы Ag размеров 100 и 1000 нм, что статистически подтверждено. При концентрациях 1 и 10 мг/кг статистически достоверной разницы между степенью экотоксического влияния частиц Ag на обилие бактерий рода *Azotobacter* не наблюдали.

Наночастицы Ag размером 10 нм оказывали более сильное экотоксическое влияние на степень фиксации азота почвенными бактериями *Azotobacter vinelandii*, чем наночастицы размером 50 нм [56].

По результатам предыдущих исследований показано, что наночастицы Ag меньшего размера (10 нм) обладают способностью напрямую проникать в клетку и изменять окислительно-восстановительный процесс, приводить к нарушению синтеза ДНК и белков, а также функционирования органелл [18, 41].

Изменение фитотоксических показателей при загрязнении частицами Ag разного размера (10, 100 и 1000 нм). Результаты влияния нано- (10 и 100 нм) и микрочастиц (1000 нм) Ag на фитотоксические показатели (количество проросших семян и длина корней редиса) чернозема обыкновенного представлены в табл. 2. При концентрации 1 мг/кг наночастиц Ag размером 10 нм установлено снижение количества проросших семян редиса на 14% относительно контроля. Концентрация 10 мг/кг наночастиц Ag размером 10 нм и микрочастиц Ag размером 1000 нм вызвала уменьшение количества проросших семян редиса относительно контрольных значений на 26 и 11% соответственно.

При концентрации 100 мг/кг наночастиц размеров 10 и 100 нм и микрочастиц Ag размера 1000 нм отмечено снижение проросших семян редиса относительно контроля на 40, 24 и 24%.

При дозах 10 и 100 мг/кг отмечено, что частицы Ag размером 10 нм оказали большее экотоксическое влияние на количество проросших семян, чем частицы Ag размеров 100 и 1000 нм, что подтверждается наличием статистически достоверной разницы. В то же время при концентрации 1 мг/кг статистически достоверной разницы между степенью экотоксического влияния частиц Ag на количество проросших семян не зафиксировано.

Наночастицы Ag размером 10 нм концентрацией 1 мг/кг ингибировали длину корней редиса на 26%. При концентрации 1 мг/кг наночастиц Ag размером 100 нм отмечен стимулирующий эффект на длину корней редиса на 12%. Наночастицы Ag размером 10 нм дозы 10 мг/кг и микрочастицы Ag размером 1000 нм снижали длину корней редиса на 47 и 10% соответственно. При концентрации 100 мг/кг наночастиц размером 10 и 100 нм и микрочастиц Ag размером 1000 нм зафиксировано сокращение длины корней редиса на 87, 32 и 35%.

На всех концентрациях наблюдали, что частицы Ag размером 10 нм оказывали более сильное экотоксическое влияние на длину корней редиса, чем частицы Ag размеров 100 и 1000 нм, что подтверждено статистически.

Ранее в исследованиях был отмечен дозозависимый ингибирующий эффект наночастиц Ag на прорастание семян риса, их последующий рост и развитие [43], на морфометрические показатели пшеницы [34, 36], на количество проросших семян и длину корней редиса [30]. Наночастицы Ag размером 10 и 20 нм уменьшали рост корней пшеницы в большей степени, чем при размерах наночастиц 40, 60 и 100 нм [36]. Наночастицы Ag негативно влияют на процесс фотосинтеза при накоплении в листьях, причем степень влияния зависит от размера частиц. Наночастицы Ag диаметром 20 нм были более токсичны, чем наночастицы диаметром 51 и 73 нм [23].

В литературе встречаются исследования, свидетельствующие, что частицы Ag большего размера могут быть более токсичными: экотоксическое влияние наночастиц Ag размером 120 и 150 нм на прорастание семян и рост риса (*Oryza sativa* L.) выражено сильнее, чем при размерах 20 и 30–60 нм [52]. Однако объяснений более высокой экотоксичности частиц Ag большего размера относительно частиц меньшего размера нами встречено не было. Данное явление требует дополнительных исследований.

Изменение ферментативной активности при загрязнении частицами Ag разного размера (10, 100 и 1000 нм). Результаты влияния нано- (10 и 100 нм) и микрочастиц (1000 нм) Ag на активность

ферментов класса оксидоредуктаз (каталазы, дегидрогеназы, ферриредуктазы, пероксидазы, полифенолоксидазы) и гидролаз (уреазы, инвертазы и фосфатазы) чернозема обыкновенного представлены в табл. 3.

При концентрации 1 мг/кг наночастиц Ag размером 10 нм отмечено снижение активности каталазы на 17%, наночастиц Ag размером 100 нм и микрочастиц Ag размером 1000 нм на 10 и 12% соответственно. Зафиксировано ингибирование активности каталазы при концентрации 10 мг/кг наночастиц размером 10 и 100 нм и микрочастиц Ag размером 1000 нм относительно контроля на 18, 22 и 15% соответственно. Показатели активности каталазы при концентрации 100 мг/кг наночастиц размером 10 и 100 нм и микрочастиц Ag размером 1000 нм были ингибированы на 22, 24 и 20% соответственно. В результатах исследований, проведенных ранее, отмечено, что наночастицы Ag ингибировали активность каталазы при 10 и 100 мг/кг на 14 и 17% соответственно [30].

Во всех концентрациях статистически достоверной разницы между степенью экотоксического влияния частиц Ag на активность каталазы не установлено.

Концентрация 1 мг/кг микрочастиц Ag размером 1000 нм оказала стимулирующий эффект на активность дегидрогеназ чернозема обыкновенного на 14%. Концентрация 10 мг/кг наночастиц размером 100 нм и микрочастиц Ag размером 1000 нм вызвала одинаковое ингибирование активности дегидрогеназ на 11%. При внесении в почву 100 мг/кг наночастиц Ag размером 10 и 100 нм активность дегидрогеназ снижалась на 50 и 13% соответственно.

При дозах 1, 10 и 100 мг/кг частицы Ag размером 10 нм оказали более сильное экотоксическое влияние на активность дегидрогеназ, чем частицы Ag размеров 100 и 1000 нм, что статистически подтверждено. Однако при 10 мг/кг достоверной разницы между степенью экотоксического влияния частиц Ag размером 10 и 100 нм на активность дегидрогеназ не зафиксировано.

По результатам ранее проведенных исследований показано, что наночастицы Ag ингибировали активность дегидрогеназ при 10 и 100 мг/кг относительно контроля на 17 и 41% соответственно [30]. Также при обработке почвы концентрацией 100 мг/кг была отмечена наименьшая активность почвенной дегидрогеназы через 7 сут инкубации [15]. Отмечена высокая чувствительность активности дегидрогеназ к наночастицам с Ag, при 100 мг/кг снижение показателя происходит на 92% от контроля через сутки после загрязнения [54]. При этом активность дегидрогеназ была более чувствительна к загрязнению наночастицами Ag, чем активность каталазы [30].

При концентрации 10 мг/кг микрочастиц Ag размером 1000 нм активность пероксидазы была

ингибирована на 11%. Концентрация 100 мг/кг наночастиц размером 10 и 100 нм и микрочастиц Ag размером 1000 нм вызвала ингибирование активности пероксидазы на 17, 16 и 14% соответственно.

На всех концентрациях статистически достоверной разницы между степенью экотоксического влияния частиц Ag на активность пероксидазы не зафиксировано.

Концентрация 10 мг/кг наночастиц Ag размером 100 нм снизила активность полифенолоксидазы на 17%. При 100 мг/кг наночастиц Ag размером 10 и 100 нм зафиксировано ингибирование активности полифенолоксидазы на 16 и 20% соответственно.

При дозе 100 мг/кг частицы Ag размеров 10 и 100 нм оказали более сильное экотоксическое влияние на активность полифенолоксидазы, чем частицы 1000 нм, что подтверждено статистически. Однако при концентрациях 1 и 10 мг/кг статистически достоверной разницы между степенью экотоксического влияния частиц Ag на активность полифенолоксидазы не наблюдали.

Концентрация 10 мг/кг наночастиц Ag размером 100 нм ингибировала активность ферриредуктазы на 77%. При внесении в почву 10 мг/кг наночастиц размером 10 и 100 нм и микрочастиц Ag размером 1000 нм показатели активности ферриредуктазы были ингибированы на 36, 47 и 22% соответственно. Концентрация 100 мг/кг наночастиц размером 10 и 100 нм и микрочастиц Ag размером 1000 нм ингибировала активность ферриредуктазы на 90, 89 и 51% соответственно.

На всех концентрациях частицы Ag размеров 10 и 100 нм оказали более сильное экотоксическое влияние на активность ферриредуктазы, чем частицы Ag размером 1000 нм, что подтверждено статистически.

При концентрации 1 мг/кг наночастиц размером 10 и 100 нм и микрочастиц Ag размером 1000 нм отмечено ингибирование активности инвертазы на 18, 10 и 17% соответственно. При внесении в почву 10 мг/кг наночастиц размеров 10 и 100 нм и микрочастиц Ag размером 1000 нм активность инвертазы была ингибирована на 49, 21 и 20% соответственно. Концентрация 100 мг/кг наночастиц размеров 10 и 100 нм и микрочастиц Ag размера 1000 нм вызвала ингибирование активности инвертазы на 49, 25 и 41% соответственно.

При концентрациях 10 и 100 мг/кг статистически подтверждено, что частицы Ag размером 10 нм более экотоксичны, чем частицы Ag размеров 100 и 1000 нм. При дозе 1 мг/кг статистически достоверной разницы между экотоксическим влиянием частиц Ag на активность инвертазы не зафиксировано.

Концентрация 1 мг/кг наночастиц размером 100 нм вызвала стимулирующий эффект активности фосфатазы на 16%.

Таблица 3. Влияние нано- (10 и 100 нм) и микрочастиц (1000 нм) Ag на ферментативную активность чернозема обыкновенного

Размер частиц Ag, нм	Контроль	Содержание элемента в почве, мг/кг			НСР _{0.05}
		1	10	100	
Ферментативная активность					
Активность каталазы, мл O ₂ /(г почвы 1 мин)					
10	14.57	12.07	11.93	11.33	1.03
100	14.57	13.17	11.43	11.00	1.03
1000	14.57	12.77	12.43	11.63	1.06
НСР _{0.05}		0.95	0.89	0.86	
Активность дегидрогеназ, мг ТФФ/(10 г почвы 24 ч)					
10	46.16	41.88	41.22	22.95	3.83
100	46.16	46.33	45.33	40.25	4.39
1000	46.16	52.41	46.48	45.07	4.8
НСР _{0.05}		4.93	4.52	3.79	
Активность пероксидазы, мг 3,4 бензохинона/(г почвы 30 мин)					
10	0.87	0.84	0.82	0.73	0.08
100	0.87	0.84	0.79	0.73	0.08
1000	0.87	0.83	0.77	0.75	0.08
НСР _{0.05}		0.09	0.08	0.08	
Активность полифенолоксидазы, мг 3,4 бензохинона/(г почвы 30 мин)					
10	0.54	0.52	0.49	0.45	0.05
100	0.54	0.49	0.45	0.43	0.05
1000	0.54	0.52	0.50	0.49	0.05
НСР _{0.05}		0.05	0.05	0.05	
Активность ферриредуктазы, мг Fe ₂ O ₃ /(100 г почвы 48 ч)					
10	3.08	2.90	1.98	0.30	0.21
100	3.08	2.79	1.65	0.35	0.13
1000	3.08	3.18	2.42	1.50	0.26
НСР _{0.05}		0.25	0.17	0.26	
Активность инвертазы, мг глюкозы/(г почвы 24 ч)					
10	43.06	35.41	22.05	21.80	3.1
100	43.06	38.70	34.14	32.50	3.75
1000	43.06	35.95	34.41	25.44	3.49
НСР _{0.05}		3.83	3.19	2.8	
Активность фосфатазы, мкг <i>n</i> -нитрофенола/(г почвы 1 ч)					
10	145.89	145.48	134.03	131.68	14.01
100	145.89	169.25	150.69	144.08	15.46
1000	145.89	157.43	151.32	139.82	15.02
НСР _{0.05}		16.49	15.32	14.59	
Активность уреазы, мг NH ₃ /(10 г почвы за 24 ч)					
10	3.37	2.90	2.84	2.74	0.3
100	3.37	3.07	3.01	2.73	0.31
1000	3.37	3.30	3.09	2.80	0.32
НСР _{0.05}		0.32	0.31	0.28	

В работе [21] установлено ингибирующее влияние AgNPs аналогичного размера (10 нм) на активность кислой фосфатазы. В исследовании [46] дозы наночастиц Ag (0.01, 0.1, 0.5, 1, 5, 10) оказывали стимулирующий эффект на активность фосфатазы, а дозы 20 и 50 мг/кг ингибировали активность фермента.

На всех концентрациях статистически достоверной разницы между степенью экотоксического влияния частиц Ag на активность фосфатазы не зафиксировано. Степень уменьшения активности фосфатазы при загрязнении наночастицами Ag зависела от дозы, а размер частиц влияния не оказывал [19].

При концентрации 1 мг/кг наночастиц Ag размером 10 нм отмечено снижение активности уреазы относительно контроля на 14%. Концентрация 10 мг/кг наночастиц размером 10 и 100 нм вызвала уменьшение активности уреазы на 16 и 11% соответственно. Концентрация 100 мг/кг наночастиц размеров 10 и 100 нм и микрочастиц Ag размера 1000 нм ингибировала активность уреазы на 19, 19 и 17% соответственно.

На всех концентрациях не зарегистрировано статистически достоверной разницы между экотоксическим влиянием частиц Ag разного размера на активность уреазы.

По результатам исследований, проведенных ранее, показано, что активность уреазы максимально снизилась при концентрации 100 мг/кг AgNPs [15]. Концентрации наночастиц Ag (0.01, 0.1, 0.5, 1, 5, 10) оказывали стимулирующий эффект на активность уреазы, а 20 и 50 мг/кг ингибировали активность фермента [46].

Оценка экотоксичности частиц Ag в зависимости от их размера. Как видно из полученных результатов, в большинстве случаев наночастицы Ag размером 10 нм оказывали более сильное экотоксическое влияние на исследуемые биологические показатели, чем наночастицы Ag размером 100 нм и микрочастицы Ag размером 1000 нм. Существенных различий в экотоксичности частиц Ag размером 100 и 1000 нм выявлено не было. Разница в воздействии частиц Ag разного размера усиливалась с увеличением концентрации Ag в почве: чем больше концентрация Ag в почве (от 1 до 100 мг/кг), тем более выражена разница в экотоксичности между частицами Ag 10 нм и частицами 100 и 1000 нм. Более чувствительны к загрязнению наночастицами Ag фитотоксические показатели при всех исследованных концентрациях (1, 10 и 100 мг/кг); общая численность бактерий, активность инвертазы и фосфатазы – при 10 и 100 мг/кг; обилие бактерий рода *Azotobacter* и активность дегидрогеназ – при 100 мг/кг. Эти показатели целесообразно использовать при биодиагностике экотоксичности наночастиц Ag.

Большая токсичность наночастиц Ag по сравнению с микрочастицами, по-видимому, обусловлена

рядом факторов. Наночастицы Ag обладают более выраженной способностью проникать через биологические барьеры организма, накапливаться в клетках и высвобождать ионы Ag под действием окислителей [25]. Более высокая реакционная способность наночастиц Ag обусловлена большой площадью их поверхности [55]. Антимикробная активность наночастиц Ag вызвана высвобождением катионов Ag с наноструктурированной поверхности [17], а также их способностью изменять проницаемость клеток и продуцировать активные формы кислорода [29, 42]. Наночастицы Ag размером менее 10 нм могут проникать в цитоплазму и нарушать клеточный метаболизм и ингибировать биохимические процессы [41, 49]. Между AgNPs размером 10 нм и клеткой происходит более эффективный контакт, что приводит к более высокой внутриклеточной биодоступности Ag, чем в случае с более крупными нано- и микрочастицами Ag [28].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Загрязнение чернозема обыкновенного нано- (10 и 100 нм) и микрочастицами (1000 нм) Ag ведет к уменьшению значений биологических показателей чернозема обыкновенного. Степень экотоксичности Ag зависит от концентрации металла в почве. Чем выше концентрация Ag в почве, тем сильнее снижение значений биологических показателей. Степень экотоксичности Ag зависит от размера его частиц. В большинстве случаев наночастицы Ag размером 10 нм оказывали более сильное экотоксическое влияние на исследуемые биологические показатели, чем наночастицы Ag размером 100 нм и микрочастицы Ag размером 1000 нм.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при государственной поддержке гранта Российского научного фонда № 22-74-00054 в Южном федеральном университете.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что конфликт интересов у них отсутствует.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв М.: Изд-во Моск. ун-та, 1983. 248 с.
2. Галстян А.Ш. Ферментативная диагностика почв. Проблемы и методы биологической диагностики и индикации почв // Тр. Всес. совещания. М., 1976. С. 22–24.
3. Дикарев А.В., Дикарев В.Г., Дикарева Н.С. Исследование фитотоксичности свинца для растений ре-дуса и салата при выращивании на разных типах почв // Агрохимия. 2019. № 6. С. 72–80. <https://doi.org/10.1134/S0002188119030050>

4. Добровольская Т.Г., Звягинцев Д.Г., Чернов И.Ю., Головченко А.В., Зенова Г.М., Лысак Л.В., Манучарова Н.А., Марфенина О.Е., Полянская Л.М., Степанов А. Л., Умаров М.М. Роль микроорганизмов в экологических функциях почв // Почвоведение. 2015. № 9. С. 1087–1096.
5. Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2005. 445 с.
6. Казеев К.Ш., Колесников С.И., Акименко Ю.В., Даденко Е.В. Методы биодиагностики наземных экосистем. Ростов-на-Дону: Изд-во ЮФУ, 2016. 356 с.
7. Карягина Л.А., Михайлова Н.А. Определение активности полифенолоксидазы и пероксидазы // Вест. АН БССР. Сер. сельскохозяйств. наук, 1986. № 2. С. 40–41.
8. Колесников С.И., Казеев К.Ш., Вальков В.Ф. Экологические последствия загрязнения почв тяжелыми металлами. Ростов-на-Дону: Изд-во СКНЦ ВШ, 2000. 232 с.
9. Колесников С.И., Казеев К.Ш., Татосян М.Л., Вальков В.Ф. Влияние загрязнения нефтью и нефтепродуктами на биологическое состояние чернозема обыкновенного // Почвоведение. 2006. № 5. С. 616–620.
10. Колесников С.И., Тимошенко А.Н., Казеев К.Ш., Акименко Ю.В., Мясникова М.А. Оценка экотоксичности наночастиц меди, никеля и цинка по биологическим показателям чернозема // Почвоведение. 2019. № 8. С. 986–992.
11. Куликова Н. А. Наночастицы серебра в почве: поступление, трансформация, токсичность // Почвоведение. 2021. № 3. С. 304–319. <https://doi.org/10.31857/S0032180X21030096>
12. Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1980. 223 с.
13. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 2005. 252 с.
14. Aznar R., Barahona F., Geiss O., Ponti J., Luis T. J., Barrero-Moreno J. Quantification and size characterisation of silver nanoparticles in environmental aqueous samples and consumer products by single particle-ICPMS // Talanta. 2017. V. 175. P. 200–208. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.07.048>
15. Balandeh S., Lakzian A., Javadmanesh A. Effects of Silver Nanoparticles on Soil Microbial Activity and Bacterial Populations in a Calcareous Soil Using qPCR // J. Water Soil. 2022. V. 35(6). P. 859–843. <https://doi.org/10.22067/JSW.2021.67908.1004>
16. Bhattacharyya A., Duraisamy P., Govindarajan M., Buhroo A.A., Prasad R. Nano-biofungicides: emerging trend in insect pest control // Advances and applications through fungal nanobiotechnology. 2016. P. 307–319. https://doi.org/10.1007/978-3-319-42990-8_15
17. Chernousova S., Eppler M. Silver as antibacterial agent: ion, nanoparticle, and metal // Angewandte Chemie International Edition. 2013. V. 52. P. 1636–1653. <https://doi.org/10.1002/anie.201205923>
18. Choi O., Hu, Z. Size-dependent and reactive oxygen species nanoselective toxicity to nitrifying bacteria // Environ. Sci. Technol. 2008. V. 42. P. 4583–4588. <https://doi.org/10.1021/es703238h>
19. Courtois P., Vaufléury A., Grosser A., Lors C., Vandenbulcke F. Transfer of sulfidized silver from silver nanoparticles, in sewage sludge, to plants and primary consumers in agricultural soil environment // Sci. Total Environ. 2021. V. 777. P. 145900. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145900>
20. Cyjetko P., Milošić A., Domijan A-M., Vinković Vrček I., Tolić S., Peharec Štefanić P., Letofsky-Papst I., Tkalec M., Balen B. Toxicity of silver ions and differently coated silver nanoparticles in *Allium cepa* roots // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2017. V. 137. P. 8–28. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.11.009>
21. Eivazi F., Afrasiabi Z., Jose E. Effects of Silver Nanoparticles on the Activities of Soil Enzymes Involved in Carbon and Nutrient Cycling // Pedosphere. 2018. V. 28. P. 209–214.
22. Eivazi F., Tabatabai M. A. Phosphatases in soils // Soil biology and biochemistry. 1977. V. 9(3). P. 167–172.
23. Falco W. F., Scherer M. D., Oliveir S. L., Wender H., Colbeck I., Lawson T., Caires A. R.L. Phytotoxicity of silver nanoparticles on *Vicia faba*: Evaluation of particle size effects on photosynthetic performance and leaf gas exchange // Scie. Total Environ. 2020. V. 701. P. 134816 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134816>
24. Forstner C., Orton T. G., Wang P., Kopittke P.M., Dennis P.G. Soil chloride content influences the response of bacterial but not fungal diversity to silver nanoparticles entering soil via wastewater treatment processing // Environ. Poll. 2019. V. 255. P. 113274. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113274>
25. Gliga A.R., Skoglund S., Odnevall I., Fadeel B., Karlsson H. Size-dependent cytotoxicity of silver nanoparticles in human lung cells: the role of cellular uptake, agglomeration and Ag release // Particle and Fibre Toxicology. 2014. V. 11. P. 11. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-11-1>
26. Grün A., Straskraba S., Schulz S., Schlöter M., Emmerling C. Long-term effects of environmentally relevant concentrations of silver nanoparticles on microbial biomass, enzyme activity, and functional genes involved in the nitrogen cycle of loamy soil // J. Environ. Sci. 2018. V. 69. P. 12–22. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.04.013>
27. Huang Y.N., Qian T.T., Dang F., Yin Y.G., Li M., Zhou D.M. Significant contribution of metastable particulate organic matter to natural formation of silver nanoparticles in soils // Nat. Commun. 2019. V. 10. P. 4–11. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11643-6>
28. Ivask A., Kurvet I., Kasemets K., Blinova I., Aruoja V., Suppi S., Vija H., Kärkinen A., Titma T., Heinlaan M., Visnapuu M., Koller D., Kisand V., Kahru A. Size-de-

- pendent toxicity of silver nanoparticles to bacteria, yeast, algae, crustaceans and mammalian cells in vitro // PLoS One. 2014. V. 9(7). P. e102108. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102108>
29. Jin X., Li M., Wang J., Marambio-Jones C., Peng F., Huang X., Damoiseaux R., Hoek E. M.V. High-throughput screening of silver nanoparticle stability and bacterial inactivation in aquatic media: influence of specific ions // Environ. Sci. Technol. 2010. V. 44. P. 7321–7328. <https://doi.org/10.1021/es100854g>
 30. Kolesnikov S.I., Tsepina N.I., Minnikova T.V., Kazeev K. Sh., Mandzhieva S.S., Sushkova S.N., Minkina T.M., Mazarji M., Singh R.K., Rajput V.D. Influence of Silver Nanoparticles on the Biological Indicators of Haplic Chernozem // Plants. 2021. V. 10. P. 1022. <https://doi.org/10.3390/plants10051022>
 31. Kolesnikov S.I., Tsepina N.I., Sudina L.V., Minnikova T.V., Kazeev K. Sh., Akimenko Yu. V. Silver ecotoxicity estimation by the soils state biological indicators // Appl. Environ. Soil Sci. 2020. P. 1–9. <https://doi.org/10.1155/2020/1207210>
 32. Kolesnikov S.I., Yaroslavtsev M.V., Spivakova N.A., Kazeev K. Sh. Comparative Assessment of the Biological Tolerance of Chernozems in the South of Russia towards Contamination with Cr, Cu, Ni, and Pb in a Model Experiment // Eurasian Soil Science. 2013. V. 46. P. 176–181.
 33. Kuamri M., Ernest V., Mukherjee A., Chandrasekaran N. In Vivo Nanotoxicity Assays in Plant Models // Nanotoxicity. 2012. V. 926. P. 399–410. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-002-1_26
 34. Kulikova N.A., Volkov D.S., Volikov A.B., Abroskin D. P., Krepak A.I., Perminova I.V. Silver nanoparticles stabilized by humic substances adversely affect wheat plants and soil // J. Nanoparticle Res. 2020. V. 22. P. 100. <https://doi.org/10.1007/s11051-020-04788-9>
 35. Künniger T., Gerecke A.C., Ulrich A., Huch A., Vonbank R., Heeb M., Wichser A., Haag R., Kunz P., Faller M. Release and environmental impact of silver nanoparticles and conventional organic biocides from coated wooden façades // Environ. Poll. 2014. V. 184. P. 464–471. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.09.030>
 36. Lahuta L.B., Szablinska-Piernik J., Stałanowska K., Głowacka K., Horbowicz M. The Size-Dependent Effects of Silver Nanoparticles on Germination, Early Seedling Development and Polar Metabolite Profile of Wheat (*Triticum aestivum* L.) // Int. J. Molecular Sci. 2022. V. 23. P. 13255. <https://doi.org/10.3390/ijms232113255>
 37. Makama S., Piella J., Undas A., Dimmers W.J., Peters R., Puntjes V.F., van den Brink N.W. Properties of silver nanoparticles influencing their uptake in and toxicity to the earthworm *Lumbricus rubellus* following exposure in soil // Environ. Poll. 2016. V. 218. P. 870–878. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.08.016>
 38. Michels C., Perazzoli S., Soares M. Inhibition of the enriched culture of ammonium-oxidizing bacteria by two different nanoparticles: silver and magnetite // Common Environ. Sci. 2017. V. 586. P. 995–1002. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.080>
 39. Mishra P., Xue Y., Eivazi F., Afrasiabi Z. Size, concentration, coating, and exposure time effects of silver nanoparticles on the activities of selected soil enzymes // Geoderma. 2021. V. 381. P. 114682. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114682>
 40. Montes de Oca-Vásquez G., Solano-Campos F., Vega-Baudrit J.R., López-Mondéjar R., Vera A., Morenó J.L., Bastida F. Organic amendments exacerbate the effects of silver nanoparticles on microbial biomass and community composition of a semiarid soil // Sci. Total Environ. 2020. V. 744. P. 140919. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122224>
 41. Morones J.R., Elechiguerra J.L., Camacho A., Holt K., Kouri J.B., Ramirez J.T., Yacaman M.J. The bactericidal effect of silver nanoparticles // Nanotechnology. 2005. V. 16. P. 2346–2353. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/16/10/059>
 42. Musee N., Thwala M., Nota N. The antibacterial effects of engineered nanomaterials: implications for wastewater treatment plants // J. Environ. Monitoring. 2011. V. 13. P. 1164–1183. <https://doi.org/10.1039/c1em10023h>
 43. Ottoni C.A., Lima Neto M.C., Leo P., Ortolan B.D., Barbieri E., De Souza A.O. Environmental impact of biogenic silver nanoparticles in soil and aquatic organisms // Chemosphere. 2020. V. 239. P. 124698. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124698>
 44. Peyrot C., Wilkinson K.J., Desrosiers M., Sauvé S. Effects of silver nanoparticles on soil enzyme activities with and without added organic matter // Environ. Toxicol. Chem. 2014. V. 33. P. 115–125. <https://doi.org/10.1002/etc.2398>
 45. Pulit-Prociak J., Banach M. Silver nanoparticles—a material of the future...? // Open Chem. 2016. V. 14. P. 76–91. <https://doi.org/10.1515/chem-2016-0005>
 46. Rahmatpour S., Shirvani M., Mosaddeghi M.R., Farshid N., Bazarganipour M. Dose–response effects of silver nanoparticles and silver nitrate on microbial and enzyme activities in calcareous soils // Geoderma. 2017. V. 285. P. 313–322. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2016.10.006>
 47. Samarajeewa A.D., Velicogna J.R., Princz J.I., Subasinghe R.M., Scroggins R.P., Beaudette L.A. Effect of silver nanoparticles on soil microbial growth, activity and community diversity in a sandy loam soil // Environ. Poll. 2017. V. 220. P. 504–513. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.094>
 48. Shoults-Wilson W.A., Reinsh B.B., Tsyusko O.V., Bertsh P.M., Lowry G.V., Unrin J.M. Role of particle size and soil type in the toxicity of silver nanoparticles to worms // Soil Sci. Soc. Am. J. 2011. V. 75. P. 365–377. <https://doi.org/10.2136/sssaj2010.0127nps>

49. Sibbald R.G., Contreras-Ruiz J., Coutts P., Fierheller M., Rothman A., Woo K. Bacteriology, inflammation, and healing: a study of nanocrystalline silver dressings in chronic venous leg ulcers // *Advances in SkinWound Care*. 2007. V. 20. P. 549–558. <https://doi.org/10.1097/01.ASW.0000294757.05049.85>
50. Song U., Jun H., Waldman B., Roh J., Kim Y., Yi J., Lee E.J. Functional analyses of nanoparticle toxicity: a comparative study of the effects of TiO₂ and Ag on tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2013. V. 93. P. 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.03.033>
51. Tabatabai M.A., Bremner J.M., Use of p-nitrophenol phosphate in assay of soil phosphatase activity // *Soil Biol. Biochem.* 1969. V. 1. P. 301–307.
52. Thuesombat P., Hannongbua S., Akasit S., Chadchanwan S. Effect of silver nanoparticles on rice (*Oryza sativa* L. cv. KDML 105) seed germination and seedling growth // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2014. V. 104. P. 302–309. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.03.022>
53. World Reference Base for Soil Resources 2014. Update 2015. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. 3rd. Rome. FAO, 2015. ISBN 978-92-5-108370-3.
54. Yan C., Huang J., Cao C., Li R., Ma Y., Wang Y. Effects of PVP-coated silver nanoparticles on enzyme activity, bacterial and archaeal community structure and function in a yellow-brown loam soil // *Environ. Sci. Poll. Res.* 2020. V. 27. P. 8058–8070. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07347-5>
55. Yu H., Xu X., Chen X., Lu T., Zhang P. Preparation and antibacterial effects of PVA-PVP hydrogels containing silver nanoparticles // *J. Appl. Polymer Sci.* 2007. V. 103. P. 125–133. <https://doi.org/10.1002/app.24835>
56. Zhang L., Wu L., Si Y., Shu K. Size-dependent cytotoxicity of silver nanoparticles to *Azotobacter vinelandii*: Growth inhibition, cell injury, oxidative stress and internalization // *PLoS ONE*. 2018. V. 13(12). P. e0209020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209020>

Assessment of Different Sizes Silver Particles According to the Haplic Chernozem Biological Indicators

N. I. Tsepina¹, S. I. Kolesnikov¹, T. V. Minnikova^{1,*},
A. S. Ruseva¹, D. A. Trufanov¹, and K. S. Kazeev¹

¹*Southern Federal University, Academy of Biology and Biotechnology, Rostov-on-Don, 344090 Russia*

*e-mail: loko261008@yandex.ru

The ecotoxicity of Ag particles of different sizes was assessed by microbiological, biochemical and phytotoxic indicators of the upper layer (0–20 cm) of ordinary chernozem (Haplic Chernozem) in a laboratory model experiment. We studied the effect of nano- (10 and 100 nm) and microparticles (1000 nm) of Ag at concentrations of 1, 10 and 100 mg/kg on the biological parameters of ordinary chernozem 30 days after contamination: the activity of catalase, dehydrogenases, ferriredutase, urease, peroxidase, poliphenoloxidase, invertase, phosphatase, the total number of bacteria, the abundance of bacteria of the genus *Azotobacter*, the number of germinated seeds and the length of radish roots. It was found that the ecotoxicity of Ag particles depends on their size: in most cases, Ag particles 10 nm in size had a stronger ecotoxic effect on biological parameters than particles 100 and 1000 nm in size. There were no significant differences in the ecotoxicity of 100 and 1000 nm Ag particles. The difference in the effects of Ag particles of different sizes increased with increasing Ag concentration in the soil: the higher the Ag concentration in the soil (from 1 to 100 mg/kg), the more pronounced the difference in ecotoxicity between 10 nm Ag particles and 100 and 1000 nm Ag particles. Phytotoxic indicators are more sensitive to contamination by Ag nanoparticles at all concentrations studied (1, 10 and 100 mg/kg); total number of bacteria, invertase and phosphatase activity – at 10 and 100 mg/kg; the abundance of bacteria of the genus *Azotobacter* and the activity of dehydrogenases – at 100 mg/kg. It is advisable to use these indicators in biodiagnostics of the ecotoxicity of Ag nanoparticles.

Keywords: pollution, nanoparticles, microparticles, biotesting