

JULIA KAWA I KATARZYNA BOŻENA GIECZEWSKA* 

* Autor korespondencyjny/corresponding author: e-mail: k.gieczewska@uw.edu.pl

Zakład Anatomii i Cytologii Roślin, Instytut Biologii Eksperymentalnej i Biotechnologii Roślin,
Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego, ul. Ilji Miecznikowa 1, Warszawa

Department of Plant Anatomy and Cytology, Institute of Plant Experimental Biology and Biotechnology,
Faculty of Biology, University of Warsaw, Ilji Miecznikowa 1, Warsaw

Nanorurki węglowe w biotechnologii roślin: zastosowania, wyzwania i perspektywy

Carbon Nanotubes in Plant Biotechnology: Applications, Challenges and Perspectives

DOI: <https://doi.org/10.12775/KOSMOS.2025.013>

Abstrakt

Nanorurki węglowe (CNT) to nanomateriały o unikalnych właściwościach fizykochemicznych, które znajdują coraz szersze zastosowanie w biotechnologii roślin. W artykule przedstawiono aktualny stan wiedzy dotyczący ich wpływu na kiełkowanie i wzrost roślin, działanie przeciwdrobnoustrojowe, zastosowanie jako nośników materiału genetycznego oraz w konstrukcji bioczuJNIKÓW, wykorzystywanych jako narzędzia do monitorowania procesów fizjologicznych. Opisano zarówno pozytywne efekty CNT, takie jak stymulacja wzrostu i poprawa odporności na stres, jak i potencjalne ryzyka związane z toksycznością. Wskazano na potrzebę dalszych badań nad mechanizmami działania CNT oraz konieczność opracowania bezpiecznych i skutecznych metod ich aplikacji w rolnictwie. Perspektywy zastosowań CNT obejmują celowaną inżynierię genetyczną, diagnostykę oraz inteligentne zarządzanie uprawami w zrównoważonym rolnictwie przyszłości.

Słowa kluczowe: nanorurki węglowe, biotechnologia roślin, transformacja genetyczna, bioczuJNIKI, nanotechnologia w rolnictwie

Abstract

Carbon nanotubes (CNTs) are a class of nanomaterials with unique physicochemical properties that have been gathering attention for potential use in plant biotechnology. This review summarises the current knowledge on the effects of CNTs on seed germination and plant growth, antimicrobial activity, use as gene delivery vectors, and application as biosensors for real-time physiological monitoring. Both beneficial effects, such as growth promotion and stress resistance, and potential toxicological risks are discussed. The paper emphasises the need for further research into the mechanisms of CNT action and the development of safe and effective application strategies. Prospects include targeted genetic engineering, diagnostics, and innovative crop management for sustainable agriculture.

Key words: carbon nanotubes, plant biotechnology, genetic transformation, biosensors, agricultural nanotechnology

WPROWADZENIE

Współczesny człowiek ma kontakt z rosnącą liczbą nowych technologii. Wiele z nich powstało dzięki odkryciom, które były możliwe dzięki żmudnej pracy w laboratorium. Presja poszukiwania innowacyjnych rozwiązań stworzyła podatny grunt dla rozwoju nowych dziedzin nauki. Jedna z nich – nanotechnologia – swoje intelektualne korzenie zawdzięcza Richardowi Feynmanowi – nobliście i jednemu z najwybitniejszych fizyków XX wieku. W 1959 roku, w trakcie swojego wykładu zatytułowanego „There’s Plenty of Room at the Bottom” (ang. Tam na dole jest ciągle dużo miejsca) przedstawił ideę badania i manipulowania materią w skali atomowej oraz rozważał, jakie konsekwencje może mieć miniaturyzacja urządzeń i procesów technologicznych do poziomu pojedynczych cząstek. Choć ówczesna technologia nie pozwalała na realizację tej wizji, rozważania Feynmana zainspirowały rozwój nowego kierunku badań: nanotechnologii.

Nanotechnologia zajmuje się strukturami o wymiarach od jednego do kilkuset nanometrów. Żeby uzmysłowić sobie jak małe są te struktury przypomnijmy, że ludzki włos ma średnicę ok. 80 000 nm, zaś średnica podwójnej helisy DNA to ok. 2 nm. Już od połowy XX wieku pojawiały się koncepcje wykorzystania tak niewielkich struktur do tworzenia nowych materiałów i urządzeń. Choć futurystyczne wizje Feynmana wciąż nie zostały w pełni zrealizowa-

ne, nanotechnologia zdążyła znaleźć szerokie zastosowanie w rozwiązaniach komercyjnych: nici i tkaniny z domieszką nanostruktur dają odporność na zabrudzenia i bakterie ubrania. Nowoczesne oczyszczacze powietrza mogą być wyposażone w filtry nanomateriałowe, pozwalające skutecznie odfiltrować biologiczne i chemiczne zanieczyszczenia. Wzmocnione nanomateriałami kompozyty o ogromnej wytrzymałości i zaskakująco małej masie stosowane są w lotnictwie i kosmonautyce. Transzystory używane do konstruowania chipów komputerowych mają rozmiary kilku do kilkunastu nanometrów. Także biologia i medycyna coraz więcej korzysta z rozwiązań nanotechnologicznych, jednocześnie wskazując na potencjalne zagrożenia związane z zastosowaniem nanomateriałów i ich interakcją z organizmami żywymi.

Powstała w ten sposób bio-nanotechnologia, rozumiana jako nanotechnologia wzbogacona o komponent biologiczny – np. funkcjonalizację nanomateriałów cząsteczkami biologicznymi, lub zastosowanie nanomateriałów w procesach zachodzących w żywych organizmach (Evtugyn, 2022). Dzięki temu bio-nanotechnologia zajmuje się m.in. tworzeniem bioczuJNIKÓW, leków o przedłużonym uwalnianiu czy nanomateriałów o właściwościach antybakteryjnych i antywirusowych. Mniej głośną, ale także ważną dziedziną korzystającą z osiągnięć nanotechnologii jest biotechnologia roślin. W tym kontekście szczególne znaczenie zyskują nanorurki węglowe ((CNTs – ang. *Carbon Nanotubes*)), które ze względu na swoją budowę i właściwo-

ści fizykochemiczne mogą być wykorzystywane w diagnostyce, inżynierii genetycznej, dostarczaniu substancji biologicznie czynnych oraz jako biosensory w biologii roślin (Bayda i in., 2019).

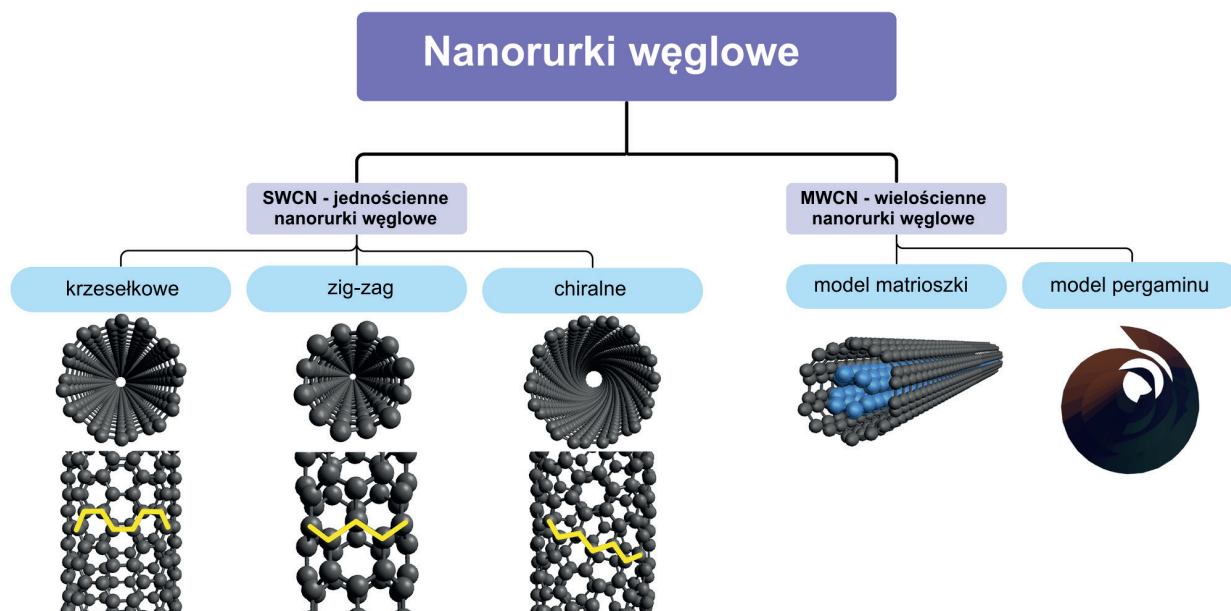
NANORURKI WĘGLOWE

Nanorurki węglowe to jedna z wielu alotropowych odmian węgla. W zależności od wielkości mogą być klasyfikowane jako nanocząstki – czyli obiekty o wymiarach w zakresie 1–100 nm we wszystkich kierunkach przestrzennych lub, częściej, jako nanomateriały węglowe – czyli obiekty, których co najmniej jeden wymiar mieści się w wymienionym zakresie (ISO/TS 80004-1:2015). Każda nanorurka złożona jest z atomów węgla ułożonych w strukturę heksagonalną, tworzącą powierzchnię boczną walca. Średnice nanorurek mieszczą się w przedziale od 1 do 100 nm, zaś ich długości mogą osiągać kilka mikrometrów.

Nanorurki węglowe są nierozpuszczalne w wodzie i w rozpuszczalnikach organicznych, ponieważ silne oddziaływania van der Waalsa i π - π między rurkami przewyższają potencjal-

ne interakcje z cząsteczkami rozpuszczalnika. W niektórych roztworach ulegają tylko łatwiejszej dyspersji, czyli zawieszeniu. CNT mają neutralny ładunek i wykazują tendencję do agregacji w roztworach wodnych z powodu oddziaływań hydrofobowych tworzących się między pojedynczymi CNTs. Możliwa jest ich dyspersja w wodzie, wymaga jednak dostarczenia energii zewnętrznej np. przez sonikację. Wyróżnia się dwa główne typy CNT: jednościenne (SWCNT, ang. *Single-Walled Carbon Nanotubes*) oraz wielościenne (MWCNT, ang. *MultiWalled Carbon Nanotubes*) różniące się liczbą koncentrycznych warstw składających się na tę nanocząstkę (Ryc. 1). SWCNT można również klasyfikować zależnie od ułożenia sześciokątów względem osi walca (Ryc. 1). Od tego układu zależą będą właściwości fizyczne CNT – w szczególności ich zdolność do przewodzenia prądu elektrycznego.

CNT otrzymuje się głównie syntetycznie, stosując metody wysokotemperaturowe, jak: wyładowanie łukowe między elektrodami grafitowymi (Iijima, 1991), laserowe odparowanie grafitu w atmosferze gazu obojętnego oraz chemiczne osadzanie z fazy gazowej (CVD, ang. *Chemical Vapor Deposition*), w którym gazy węglowodoro-



Ryc. 1. Schemat przedstawiający podział nanorurek węglowych z uwagi na ich budowę. Na podstawie Hermes i in. 2020 oraz Hasnain i Nayak 2019. Obrazy wygenerowane z użyciem programów Avogadro w wersji 1.2.0 oraz Biorender w wersji 4.3

rowe rozkładają się na powierzchni katalizatora metalicznego, prowadząc do wzrostu nanorurek (Cassell i in., 1999). Metoda CVD jest obecnie najczęściej stosowana, ponieważ umożliwia uzyskanie CNT o kontrolowanej średnicy, długości i strukturze ścian.

Co ciekawe, CNT mogą powstawać również w sposób naturalny. Obecność takich nanostruktur węglowych stwierdzono m.in. w popiołach po pożarach lasów, w produktach erupcji wulkanicznych czy w materiałach powstałych w wyniku uderzeń meteorytów (Monthieux i Kuznetsov, 2006). CNT mogą być również pozyskiwane wtórnie, np. z sadzy czy odpadów bogatych w węgiel, co czyni je potencjalnie tanim i łatwo dostępnym materiałem.

Cechą charakterystyczną wszystkich CNT jest ich duża powierzchnia właściwa, która może być łatwo modyfikowana chemicznie. W celu poprawy dyspersji nanorurek w wodzie można doprowadzić do kowalencyjnego przyłączania się grup funkcyjnych do powierzchni ściany nanorurki lub do jej końców, powodujących np. zmianę ładunku na powierzchni CNT. Modyfikacje kowalencyjne poprawiają zawieszalność nanorurek, zmieniając ich ładunek powierzchniowy i poprawiają stabilność zawiesiny wodnej. Powierzchnia CNT jest również zdolna do adsorpcji niekowalencyjnej, co umożliwia wiązanie do CNT biocząsteczek, takich jak białka i kwasy nukleinowe. Wnętrze nanorurek może służyć jako kapsuła dla innych cząsteczek, co umożliwia ich zastosowania jako nośników substancji aktywnych. Te właściwości sprawiają, że CNT są atrakcyjnym narzędziem w badaniach biologicznych i biotechnologicznych (Hasnain i Nayak, 2019).

WPLYW NANORUREK NA KIELKOWANIE I ROZWÓJ ROŚLIN

Wpływ CNT na roślinę może uwidaczniać się już na etapie kiełkowania nasion. Badania wskazują, że efekt ten zależy od rodzaju CNT, ich stężenia oraz gatunku rośliny. Przykładowo, pokrycie powierzchni nasion pomidora zawieszoną MWCNT zwiększa liczbę kiełkujących nasion i wpływa na wydłużenie korzeni czy łodyg

już dorosłej rośliny (Khodakovskaya i in., 2009), natomiast zastosowanie SWCNT o niskiej czystości wykazywało działanie fitotoksyczne, prowadząc do zamierania kiełkowania (Canas i in., 2008).

W badaniach nad wpływem CNT na kiełkowanie nasion ryżu, stwierdzono, że odpowiednie stężenia CNT (do 100 µg/mL) mogą promować kiełkowanie i wzrost korzeni. Wyższe stężenia (150 µg/mL) prowadziły do obniżenia tych parametrów, sugerując toksyczność przy nadmiernych dawkach (Dhingra i in., 2022). Podobne zależności zaobserwowano w doświadczeniach polowych na gorczycy sarepskiej (*Brassica juncea*), której nasiona zaprawiane MWCNT kiełkowały szybciej. Rośliny po kontakcie z nanorurkami charakteryzowały się szybszym rozwojem korzeni, a nawet zwiększonym plonowaniem – liczba ziaren w zaprawianych osobnikach wzrosła o 63% w stosunku do roślin bez MWCNT (Szollosi i in., 2020).

Zastosowanie MWCNT, otrzymanych syntetycznie z materiału pochodzącego z popiołów powstałych po pożarach lasów, w stężeniu 30 µg/mL zwiększyło zdolność kiełkowania i biomasę łubinu (*Lupinus elegans*). Jednak wyższe stężenie (50 µg/mL) prowadziło do spadku tych parametrów, co wskazuje na znaczenie odpowiedniego dawkowania nanomateriału (Lara-Romero i in., 2017).

Główny mechanizm odpowiedzialny za zmiany w procesie kiełkowania roślin w obecności CNT ma związek z dostępnością najważniejszego związku egzogenego regulującego kiełkowanie – wody. Według przyjętego modelu, nanorurki mogą ułatwiać wnikanie wody do nasion poprzez przebijanie łupiny nasiennej i tworzenie w niej nanorurkowych mikrokanałików. Intensywniejszy pobór wody przyspiesza fazę imbibicji, zwiększając sprawność procesu kiełkowania. Geometria nasion będzie wpływała na stopień, w jakim nanorurki są zdolne proces kiełkowania usprawnić – przy dużym stosunku powierzchni do objętości nasiona, czyli dla drobnych nasion, zwiększony przez nanorurki pobór wody będzie miał duże znaczenie. Natomiast w przypadku nasion o dużych rozmiarach, ich objętość będzie większa, co skut-

kować będzie zmniejszonym wpływem CNT na kiełkowanie. Zakładając taką zależność należy oczekiwać, że dla wybranych gatunków o drobnych nasionach nanorurki powinny wpłynąć pozytywnie na proces kiełkowania, jednak obserwacje dotyczące lucerny siewnej, której nasiona są drobne, pokazują brak efektu nanorurek na kiełkowanie. Wyjaśnieniem tej rozbieżności może być twardość łupiny nasiennej, która w przypadku lucerny utrudnia penetrację przez CNT (Miralles i in., 2012).

Postuluje się również, że po wnikięciu do tkanek młodej siewki CNT mogą zwiększać przepuszczalność błon komórkowych, co ułatwia wymianę gazową i transport jonów, aktywując procesy metaboliczne w zarodku i tkankach wzrostowych. W przypadku tymianku (*Thymus daenensis*) odnotowano wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych (SOD, POD), a także poziomów fenoli i flawonoidów, co może wskazywać na poprawę ogólnej vitalności siewek (Samadi i in., 2020). Pośrednio lub bezpośrednio CNT mogą wpływać również na ekspresję genów związanych ze wzrostem rośliny, o czym świadczy zwiększenie aktywności enzymów, zawartości chlorofilu na gram świeżej masy siewek marchwi czy zwiększenie suchej masy siewek gorczycy (Park i Ahn, 2016, Szollosi i in., 2020, Dhingra i in., 2022).

Dodatkowo, w doświadczeniach z kukurydzą (*Zea mays*), połączenie MWCNT z *Bacillus subtilis* wykazywało synergiczny efekt w poprawie tolerancji na zasolenie – m.in. poprzez utrzymanie korzystnego stosunku stężeń jonów Na^+/K^+ (niższego niż w kontroli) oraz zwiększoną aktywność enzymów antyoksydacyjnych, takich jak peroksydaza i katalaza (Luo i in., 2022).

Wpływ nanorurek na rośliny został opisany na różnych etapach wzrostu i rozwoju. MWCNT mogą stymulować rozwój włóśników korzeniowych rzepaku (*Brassica napus*) i rzodkiewnika (*Arabidopsis thaliana*) poprzez szlaki sygnałowe tlenu azotu i etylenu. Opisane efekty zależne były od stężenia MWCNT oraz obecności inhibitorów odpowiednich ścieżek sygnałowych (Zhao i in., 2020).

Opublikowane prace przeglądowe podkreślają złożoność mechanizmów związanych

z efektem CNT na rośliny. Z jednej strony, CNTs mogą działać jako promotor wzrostu – zwiększając biomasę i długość korzeni/pędów; z drugiej – mogą indukować stres oksydacyjny, prowadzący do uszkodzeń komórkowych. Zmienność uzyskanych wyników przypisuje się różnicom w składzie chemicznym, strukturze i funkcjonalizacji CNT, a także zróżnicowaniem międzygatunkowym i środowiskowym (Vithanage i in., 2017, Vithanage i in., 2018). W innym opracowaniu przeglądowym autorzy omówili potencjał CNT w kontekście zrównoważonego rolnictwa, koncentrując się na roli nanorurek w poprawie kiełkowania, wzrostu i odporności roślin na stresy środowiskowe. Ci sami autorzy podkreślają znaczenie odpowiednich modyfikacji powierzchni nanorurek dla zwiększenia ich skuteczności i ograniczenia potencjalnych efektów toksycznych (Safdar i in., 2022).

PRZECIWDROBNOUSTROJOWE DZIAŁANIE NANORUREK WĘGLOWYCH

Nanorurki węglowe wykazują właściwości przeciwdrobnoustrojowe, które mogą być wykorzystywane w ochronie roślin przed patogenami. Działanie nanorurek opiera się na kilku mechanizmach:

- (1) w przypadku bakterii – na zdolności do fizycznego uszkodzania błon i ścian komórkowych, co prowadzi do wycieku cytoplazmy i śmierci komórki; dzięki niewielkiej średnicy CNT mogą przebijać błony i ściany komórkowe niczym nanoigły;
- (2) adsorpcji istotnych biocząsteczek, takich jak białka błonowe, enzymy czy lipidy z powierzchni komórek mikroorganizmów, co zaburza ich prawidłowe funkcjonowanie; CNT mogą również wiązać cząsteczki związków odżywczych z otoczenia, obniżając ich dostępność dla drobnoustrojów;
- (3) indukowaniu stresu oksydacyjnego poprzez generowanie reaktywnych form tlenu (ROS), które uszkodzają DNA i RNA, prowadzą do peroksydacji lipidów błonowych i utleniają aminokwasy białek. Proces powstawania ROS może zachodzić bezpośrednio, w wyniku katalitycznych reakcji redoks

na powierzchni CNT oraz pośrednio (częściej) poprzez stymulację endogennej produkcji ROS w komórkach drobnoustrojów. (Chen i in., 2019).

Skuteczność działania przeciwdrobnoustrojowego, podobnie jak przy wpływie na kiełkowanie i wzrost roślin, zależy od wielu czynników, takich jak rodzaj mikroorganizmu (jego rozmiar, kształt, struktura błon), typ i wymiary CNT oraz ich modyfikacje powierzchniowe. Mniejsze i dłuższe nanorurki wykazują zazwyczaj większą aktywność biologiczną ze względu na większą powierzchnię interakcji. CNT o mniejszej średnicy mają skuteczniejsze działanie na mikroorganizmy, prawdopodobnie z uwagi na większą łatwość wnikięcia do wnętrza komórek. Długość CNT również nie pozostaje bez znaczenia. Obserwacje pokazują, że skuteczność CNT jest wprost proporcjonalna do ich długości, ponieważ ich większa powierzchnia daje większą przestrzeń na potencjalną interakcję CNT z białkami bądź kwasami nukleinowymi. Wszelkie modyfikacje powierzchni CNT mogą zmieniać ich ładunek i skład chemiczny, określając z jakimi biomolekułami zmodyfikowane CNT mogą wchodzić w interakcje, oraz w jakich organellach komórki będą się gromadzić zależnie od ładunku, redefiniując ich wpływ na mikroorganizmy (Zhang i in., 2017, Chen i in., 2019).

Warto jednak zauważyć, że CNT mogą wpływać również na mikroorganizmy symbiotyczne, ważne dla zdrowia roślin, np. bakterie brodawkowe. Dlatego użycie CNT musi być ostrożnie dostosowane do konkretnego celu biologicznego. Przykładem skutecznego zastosowania CNT w ochronie roślin jest ograniczenie rozwoju grzyba *Alternaria solani* na pomidorach za pomocą oprysków zawierających MWCNT. Badania wykazały, że opryski wodą zawierającą MWCNT pozwalają ograniczyć rozwój zarodników tego grzyba u zakażonych roślin, ze skutecznością zbliżoną do komercyjnie dostępnych fungicydów. Ponadto obecność nanorurek powoduje silniejszą aktywację systemów antyoksydacyjnych, objawiającą się zwiększonym poziomem kwasu askorbinowego, flawonoidów czy peroksydazy glutationowej. Sprawniejsze

przeciwdziałanie uszkodzeniom wywołanym przez reaktywne formy tlenu może być ważnym czynnikiem poprawiającym obronę organizmu przed patogenami (Gonzalez-Garcia i in., 2021).

Oprócz funkcji ochronnych wobec patogenów, nanorurki węglowe znajdują także zastosowanie w bardziej zaawansowanych obszarach biotechnologii roślin – jako nośniki materiału genetycznego wykorzystywane w procesach transformacji komórek.

TRANSFORMACJA ROŚLIN Z UDZIAŁEM CNT

Transformacja komórek roślinnych polega na wprowadzeniu do ich wnętrza niewielkiej ilości materiału genetycznego, zazwyczaj zawierającego jeden lub kilka genów w celu badania funkcji genów lub wprowadzenia pożądanych cech użytkowych, takich jak odporność na stres abiotyczny czy choroby. W biotechnologii istnieje szereg technik pozwalających na transformację genetyczną różnych organizmów, jednak w przypadku roślin chętnie stosowane w tym celu są bakterie z rodzaju *Agrobacterium*. Bakterie te są patogenami roślinnymi wywołującymi chorobę zwaną guzowatością korzeni. *Agrobacterium* posiada naturalną zdolność do transferu DNA pomiędzy swoimi komórkami a komórkami zainfekowanej rośliny, stając się w ten sposób świetnym narzędziem inżynierii genetycznej. Niestety *Agrobacterium* nie może być stosowane uniwersalnie u dowolnego gatunku rośliny, ponieważ jest zdolne do infekcji i transformacji tylko określonych gatunków. W tym kontekście nanorurki węglowe zyskują przewagę jako uniwersalne narzędzie dostarczania materiału genetycznego. Zdolność nanorurek węglowych do interakcji z DNA oraz łatwość ich modyfikacji dają bardzo ciekawe możliwości (Rani i in., 2025). W porównaniu z klasycznymi metodami, CNT umożliwiają bezpośrednie przenikanie przez ścianę komórkową i błony, bez konieczności stosowania wektorów biologicznych czy specjalistycznego sprzętu, co może zwiększyć efektywność procesu i czyni je obiecującą alternatywą dla tradycyjnych technik transformacji roślin. Mechanizm oddziaływania opiera się na interakcjach elektrostatycznych pomiędzy

CNT a cząsteczkami DNA, efektywność oddziaływania można regulować poprzez odpowiednie modyfikacje powierzchni nanorurek. Wykorzystywane przy transformacji dwuniciowe koliste cząsteczki DNA (plazmidy) posiadają ujemny ładunek. Nadając powierzchni nanorurki ładunek dodatni możemy spowodować, że zwiąże się ona jonowo z DNA jeszcze silniej. Uzyskanie takiego ładunku możliwe jest m.in. przez kowalencyjne przyłączenie do CNT polimerów, takich jak PEI (polietylenoimina). Tak zmodyfikowane nanorurki można aplikować w postaci wodnych zawiesin bezpośrednio do tkanek roślinnych.

Jednym z przykładów takiej strategii jest zastosowanie SWCNT funkcjonalizowanych arginina, co zwiększa ich dyspersyjność i umożliwia efektywne wiązanie DNA na drodze oddziaływań elektrostatycznych, ułatwiając transport materiału genetycznego do wnętrza komórek roślinnych. Technika ta umożliwiła skuteczne dostarczenie plazmidu z genem kodującym białko GFP do komórek korzeni tytoniu (*Nicotiana tabacum*) (Golestanipour i in., 2018). Dla skuteczności przeniesienia materiału genetycznego kluczowe znaczenie miała tu niewielka średnica SWCNT – poniżej 3 nm – umożliwiająca ich swobodne przechodzenie przez pory ściany komórkowej, których średnica wynosi zwykle od 3 do 5 nm. Dla porównania, inne nośniki, takie jak peptydy przenikające przez błony komórkowe (CPP, ang. *cell-penetrating peptides*), okazały się nieskuteczne, ponieważ ich większe rozmiary uniemożliwiały przejście do wnętrza komórki.

Tradycyjne techniki transformacji roślin zwykle koncentrują się na modyfikacji genomu jądrowego, co niesie ryzyko rozprzestrzeniania się transgenu w środowisku. Alternatywą jest transformacja chloroplastów – organelli, których materiał genetyczny dziedziczony jest głównie w linii matczynej i nie ulega łatwemu krzyżowaniu. Dotąd jednak techniki transformacji plastydów były ograniczone do kosztownych i inwazyjnych metod, takich jak mikrowstrzelanie. Zespół badawczy z MIT (Massachusetts Institute of Technology) opracował nanoosiłki oparte na jednościennych nanorurkach węglowych kompleksowanych z chitosanem – na-

turalnym, nietoksycznym biopolimerem. Takie kompleksy są zdolne do przenoszenia materiału genetycznego (plazmidowego DNA) bezpośrednio do chloroplastów w liściach roślin takich jak rukola, szpinak czy tytoń, bez konieczności naruszania integralności komórki specjalistycznym sprzętem (Kwak i in., 2019).

Tak modyfikowane CNT, dzięki swojemu kształtowi i ładunkowi powierzchniowemu, mogą swobodnie przekraczać ściany komórkowe i podwójną błonę chloroplastów, wykorzystując mechanizm nazwany LEEP (ang. *lipid exchange envelope penetration*). Co więcej, wewnątrzkomórkowe różnice pH między cytoplazmą (ok. 7,0–7,2) a stromą chloroplastu (ok. 8,0) umożliwiają selektywne uwolnienie DNA w miejscu docelowym. Skuteczność tej metody potwierdzono, obserwując przejściową ekspresję genu kodującego białko fluorescencyjne, które posłużyło jako marker dostarczenia DNA do chloroplastów, bez wykazania negatywnego wpływu na liście (Kwak i in., 2019). Opracowana metoda jest prostsza, tańsza i bardziej uniwersalna niż dotychczasowe techniki, a jej potencjał obejmuje nie tylko badania podstawowe, lecz także przyszłe zastosowania w precyzyjnej modyfikacji chloroplastów roślin użytkowych.

Dzięki zdolności przenikania przez błony komórkowe i migracji wewnątrzkomórkowej CNT mogą pełnić funkcję uniwersalnych nośników materiału genetycznego w komórkach roślinnych. Umożliwiać jego transport do cytoplazmy, jądra komórkowego lub organelli a w konsekwencji – przeprowadzenie transformacji genetycznej bez potrzeby stosowania tradycyjnych wektorów biologicznych (Islam i in., 2024). Przykładem takiego zastosowania jest wykorzystanie CNT do transferu jednoniciowych kwasów nukleinowych, takich jak małe interferujące RNA (siRNA, ang. *small interfering RNA*). siRNA to krótkie, dwuniciowe cząsteczki RNA (zazwyczaj długości 21–23 nukleotydów), które po wnikięciu do komórki łączą się z kompleksem białkowym RISC (ang. *RNA-induced silencing complex*). Kompleks ten rozpoznaje i degraduje komplementarne cząsteczki mRNA, prowadząc do wyciszenia ekspresji danego genu. W opisywanym przykładzie CNT wykorzystano do prze-

niesienia dwóch komplementarnych, jednoniciowych siRNA, zaprojektowanych do wyciszenia genu białka zielonej fluorescencji (GFP, ang. *Green Fluorescent Protein*). Jednoniciowe fragmenty siRNA adsorbowały się na powierzchni CNT dzięki oddziaływaniom π - π i elektrostatycznym, co chroniło je przed degradacją w środowisku zewnątrzkomórkowym. Po przeniknięciu przez błonę komórkową następowała desorpcja jednoniciowego RNA w cytoplazmie, umożliwiającą połączenie obu nici w aktywny kompleks siRNA. Tak powstałe siRNA, prowadziły do selektywnego wyciszenia genu kodującego białko zielonej fluorescencji (Demirer i in., 2019). Mechanizm ten stanowi przykład tymczasowego, nietrwałego wyciszenia genu (ang. *transient gene silencing*), który może być wykorzystywany do badań funkcji genów bez konieczności trwałej modyfikacji genomu roślin.

W ostatnich latach obserwuje się wyraźny trend rozwojowy w kierunku wykorzystania nanomaterialów, w tym CNT w biotechnologii roślin (Rani i in., 2025). Badania koncentrują się obecnie na opracowaniu metod umożliwiających bezpieczne i precyzyjne dostarczanie DNA, RNA lub białek do komórek roślinnych, z pominięciem tradycyjnych wektorów biologicznych. Szczególne zainteresowanie budzi możliwość funkcjonalizacji CNT ligandami biologicznymi, które pozwalają na celowane dostarczanie materiału do określonych organelli. Zwrócono także uwagę na możliwość wykorzystania CNT do kontroli ekspresji transgenów oraz do badań nad czasową ekspresją genów w badaniach podstawowych. Podsumowując, dalszy rozwój metod opartych na nanoonośnikach, w tym poprawa biokompatybilności i wydajności transformacji, może w przyszłości znacząco usprawnić metody inżynierii genetycznej roślin użytkowych i przyczynić się do rozwoju rolnictwa precyzyjnego.

Wszechstronność nanorurek węglowych sprawia, że ich zastosowania w biotechnologii roślin nie ograniczają się jedynie do funkcji nośników materiału genetycznego. Te same właściwości fizykochemiczne, które umożliwiają ich wykorzystanie w transformacji komórek, pozwalają także na tworzenie zaawansowanych systemów detekcyjnych i diagnostycznych, zdol-

nych do monitorowania procesów biologicznych bezpośrednio w roślinach.

NANORURKI JAKO BIOCIUJNIKI

BioczuJNIK (ang. *biosensor*) to urządzenie analityczne łączące element biologiczny – taki jak enzym, receptor, kwas nukleinowy lub cała komórka – z przetwornikiem fizycznym lub chemicznym, który przekształca reakcję biologiczną w mierzalny sygnał elektryczny lub zjawisko fizyczne (Turner, 2015). W biotechnologii roślin bioczuJNIKI umożliwiają monitorowanie stanu fizjologicznego roślin w czasie rzeczywistym oraz szybką, punktową i precyzyjną reakcję na zmieniające się zapotrzebowania roślin, w perspektywie umożliwiając optymalne zużycie zasobów oraz lepszą wydajność upraw. Dzięki właściwościom przewodzącym i możliwościom modyfikacji powierzchni, CNT doskonale nadają się do integracji z układami elektronicznymi jako podstawa konstrukcji bioczuJNIKÓW. W zależności od swojej budowy CNT mogą wykazywać cechy przewodnika lub półprzewodnika – zależnie od orientacji atomów węgla na powierzchni nanorurki względem osi walca (tzw. konfiguracji strukturalnej). Ta cecha, w połączeniu z dużą powierzchnią właściwą i wysokim przewodnictwem elektrycznym sprawia, że CNT mogą być z powodzeniem integrowane z układami elektronicznymi. Dodatkowo, ze względu na łatwość chemicznej modyfikacji powierzchni, CNT mogą być funkcjonalizowane cząsteczkami biologicznymi umożliwiającymi selektywne wykrywanie określonych związków. Przykładem jest czuJNIK oparty na CNT pokrytych biotyną, które pośredniczą w detekcji białka streptawidyny. Wysokie powinowactwo między biotyną a streptawidyną prowadzi do ich silnego, specyficznego wiązania, co powoduje zmianę przewodnictwa elektrycznego układu i generuje sygnał detekcyjny (Star i in., 2003). Taki uniwersalny model czuJNIKA, w którym powierzchnia CNT jest modyfikowana cząsteczką rozpoznającą badany analit, został również zastosowany do wykrywania DNA w roztworze. W układach tego typu sygnał elektryczny rejestrowany jest za pomocą mikroskopowych sond kontaktujących się z nanorur-

kami umieszczonymi na powierzchni próbki lub integrowanymi z tkanką roślinną. Ponieważ detekcja elektroniczna wymaga bezpośredniego kontaktu z badanym obiektem, bioczuJNIKI CNT wykorzystujące pomiar optyczny (np. fluorescencyjny) mogą być bardziej praktyczne w zastosowaniach terenowych i przemysłowych, ze względu na prostszy sposób akwizycji danych i możliwość zdalnego monitoringu (Balasubramanian i Burghard, 2006).

Ostatnie badania wykazały, że SWCNT mogą zostać wykorzystane jako wysoce selektywne bioczuJNIKI do detekcji giberelin (GA), kluczowych hormonów roślinnych regulujących wzrost i rozwój. Opracowano bioczuJNIKI fluorescencyjne działające w zakresie bliskiej podczerwieni, bazujące na SWCNT połączonych ze specjalnie zaprojektowanymi polimerami. Polimery te tworzą tzw. fazy koronowe, które umożliwiają selektywne wiązanie bioaktywnych form GA_3 i GA_4 , wywołując charakterystyczną zmianę intensywności fluorescencji układu CNT-polimer (Boonyaves i in., 2023). Czujniki infiltrują korzenie roślin, wnikając do przestrzeni międzykomórkowych, umożliwiając monitorowanie rozkładu hormonu w czasie rzeczywistym, bez konieczności niszczenia tkanek. Dzięki opracowaniu sprzętu pozwalającego na odniesienie sygnału fluorescencyjnego do pasma Ramana nanorurek (tzw. G-band), możliwe jest uzyskanie dokładnych i powtarzalnych wyników niezależnie od ilości dostarczonego czujnika. Technologia ta pozwoliła na wizualizację dynamiki giberelin w systemach korzeniowych *Arabidopsis*, bazylii i sałaty, m.in. podczas odpowiedzi na stres solny. Takie czujniki, stosowane *ex vivo*, na świeżo pobranych fragmentach korzeni, mają duży potencjał jako narzędzia do badań nad hormonami i ich rolą w architekturze systemu korzeniowego oraz jako wczesne wskaźniki stresu fizjologicznego. Niestety, choć metoda ta charakteryzuje się dużą precyzją i czułością, jej zastosowanie wciąż wymaga specjalistycznego sprzętu do detekcji fluorescencji w zakresie bliskiej podczerwieni oraz zapewnienia stabilnych warunków pomiarowych. Ogranicza to możliwość stosowania bioczuJNIKÓW SWCNT poza warunkami laboratoryjnymi. Jednak autorzy sugerują,

że przyszły rozwój miniaturowych, przenośnych detektorów NIR, takich jak chipy detekcyjne lub urządzenia oparte na smartfonach z odpowiednimi filtrami, może umożliwić zastosowania terenowe. Dodatkowo, ponieważ czujniki działają *ex vivo* (nie są wprowadzane do komórek), możliwe jest wyodrębnienie niewielkiej ilości tkanki korzeniowej i jej analiza na miejscu lub w mobilnym laboratorium.

BioczuJNIKI oparte na nanorurkach węglowych mogą być wykorzystywane nie tylko do analizy procesów zachodzących wewnątrz roślin, ale również do monitorowania środowiska, w którym rośliny rosną, w tym składu i aktywności biologicznej gleby. Tego typu rozwiązania mają duży potencjał w rolnictwie precyzyjnym, gdzie szybka i selektywna detekcja mikroorganizmów lub związków chemicznych w ryzosferze pozwala ocenić stan zdrowia i żyzność gleby. Przykładem może być wykorzystanie bioczuJNIKÓW CNT do wykrywania pożytecznych bakterii, takich jak *Azospirillum brasilense* – mikroorganizmów naturalnie zasiedlających ryzosferę wielu gatunków roślin uprawnych, które wspierają wzrost roślin i zwiększają ich tolerancję na stres środowiskowy. Choć stosowanie bioczuJNIKÓW w preparatach biologicznych może przynosić wymierne korzyści, ich skuteczność zależy od obecności tych mikroorganizmów w środowisku glebowym. Dlatego istotne staje się opracowanie szybkich i selektywnych metod wykrywania takich bakterii w próbkach środowiskowych. Opracowany bioczuJNIK opiera się na połączeniu nanorurek węglowych, złotych nanocząstek i polimeru krzemooorganicznego, co pozwala na osadzenie sondy DNA specyficznej dla badanego mikroorganizmu. Zmiany sygnału elektrochemicznego pojawiają się, gdy sonda wiąże się z fragmentem materiału genetycznego obecnym w próbce gleby.

W odróżnieniu od bioczuJNIKÓW aplikowanych bezpośrednio do tkanek roślinnych, ten system działa całkowicie poza organizmem – analiza sygnału odbywa się na podstawie obecności DNA wyizolowanego z próbek środowiskowych. Dzięki temu nie wprowadza się nanomateriałów do roślin ani gleby, co zwiększa bezpieczeństwo metody i ułatwia potencjalne wdrożenie w prak-

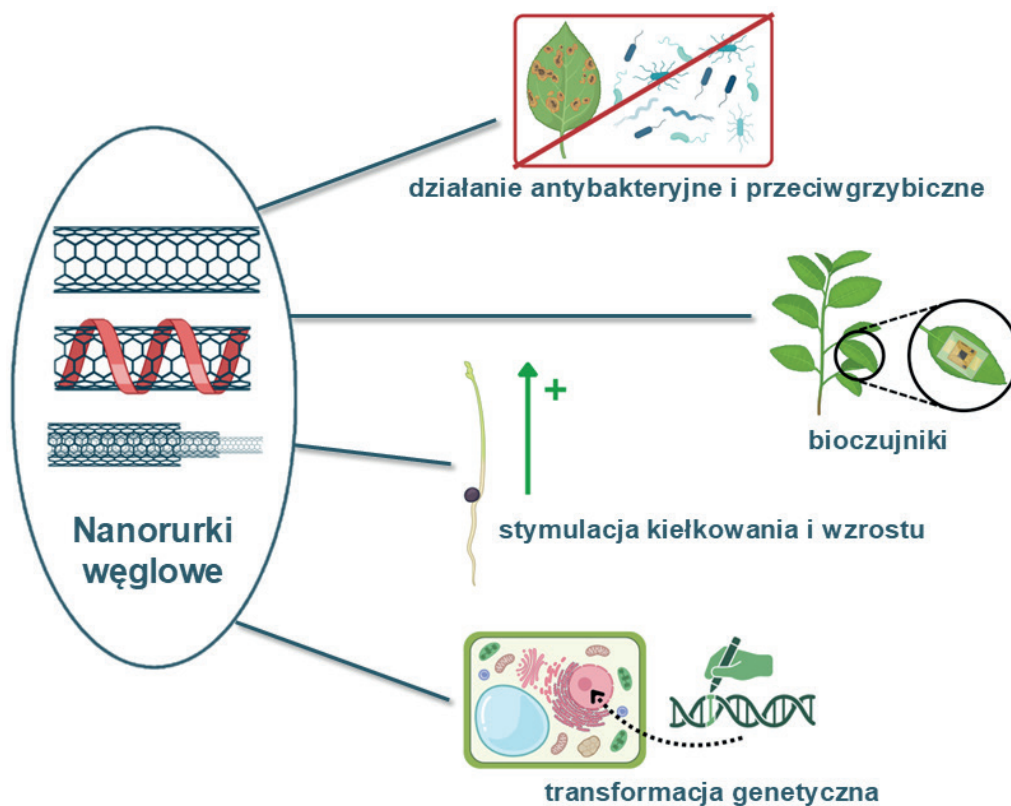
tyce. Opracowany czujnik może znaleźć zastosowanie jako narzędzie diagnostyczne w rolnictwie precyzyjnym, umożliwiające szybką ocenę obecności bakterii stymulujących wzrost jeszcze przed wysiewem lub nawożeniem biologicznym. To przykład zastosowania bio-nanotechnologii w monitorowaniu żyzności i mikrobiologicznej aktywności gleby (Zahrebelnei i in., 2025)

W warunkach polowych bardziej praktyczne są bioczujniki oparte na detekcji optycznej. Przykładem takiego systemu jest czujnik H_2O_2 , wykorzystujący CNT związane z jednoniciowym DNA i heminą (Wu i in., 2020). Pod wpływem wzbudzenia światłem w zakresie bliskiej podczerwieni w obecności H_2O_2 fluorescencja zmodyfikowanych CNT będzie ulegała wygaszeniu, pozwalając na monitoring poziomu nadtlenu wodoru w liściach badanych roślin. Wykorzystanie nanocząstek daje pewną przewagę nad zwykłymi fluorochromami – nie są one toksyczne dla roślin w małych dawkach, nie ulegają fotowygaszeniu oraz mają lepszy stosunek

sygnału do szumu, pozwalając na rzetelniejsze pomiary i zastosowanie w precyzyjnym monitoringu upraw.

PODSUMOWANIE I PERSPEKTYWY DALSZEGO ROZWOJU BADAŃ

Od wykładu Richarda Feynmana o nanomaszynach minęło ponad pół wieku. Pomimo iż wizje noblisty nie stały się w pełni rzeczywistością, nanomateriały stanowią dziś istotny element wielu nowoczesnych technologii. Nanorurki węglowe są bardzo liczną i różnorodną grupą nanomateriałów, pierwszy raz opisaną ponad trzydzieści lat temu. Z uwagi na swoje właściwości CNT cechują się dużą wszechstronnością, dając wiele możliwości ich zastosowania, między innymi w biotechnologii (Ryc. 2). Naukowcy na przestrzeni lat pokazali, że wykorzystanie tych materiałów w systemach biologicznych jest nie tylko możliwe, ale także dające pozytywne rezultaty. Połączenie bio-nanotechnologii z agro-



Ryc. 2. Schemat przedstawiający możliwe zastosowania nanorurek węglowych w biotechnologii roślin. Obrazy wygenerowane z użyciem programów Avogadro w wersji 1.2.0 oraz Biorender w wersji 4.3

techniką, dla uzyskania wydajniejszych plonów może znacząco poprawić naszą zdolność do produkcji pożywienia. W perspektywie zmniejszenia i mniej przewidywalnego klimatu oraz rosnącej populacji nasze zapotrzebowania żywieniowe będą stawały się coraz trudniejsze do zaspokojenia. Nanotechnologia, w tym nanorurki węglowe dają nam ciekawe rozwiązania, jednak nim będą one mogły znaleźć komercyjne zastosowanie ich bezpieczeństwo będzie musiało zostać sprawdzone i potwierdzone.

OŚWIADCZENIA AUTORÓW:

Autorzy deklarują, że wnieśli istotny wkład w powstanie niniejszego artykułu, zaakceptowali kolejność autorów oraz ostateczną wersję manuskryptu. Autorzy oświadczają, że nie występuje konflikt interesów.

BIBLIOGRAFIA

- Balasubramanian, K. i Burghard, M., 2006. Biosensors based on carbon nanotubes. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 385, 452–468. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0314-8>
- Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M. i Rizzolio, F., 2019. The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical-Physical Applications to Nanomedicine. *Molecules* 25. <https://doi.org/10.3390/molecules25010112>
- Boonyaves, K., Ang, M.C., Park, M., Cui, J., Khong, D.T., i in., 2023. Near-Infrared Fluorescent Carbon Nanotube Sensors for the Plant Hormone Family Gibberellins. *Nano Letters* 23, 916–924. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.2c04128>
- Canas, J.E., Long, M., Nations, S., Vadan, R., Dai, L., i in., 2008. Effects of functionalized and nonfunctionalized single-walled carbon nanotubes on root elongation of select crop species. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27, 1922–1931. <https://doi.org/10.1897/08-117.1>
- Cassell, A.M., Raymakers, J.A., Kong, J., i Dai, H.J., 1999. Large scale CVD synthesis of single-walled carbon nanotubes. *Journal of Physical Chemistry B* 103, 6484–6492. <https://doi.org/DOI 10.1021/jp990957s>
- Chen, M., Sun, Y., Liang, J., Zeng, G., Li, Z., i in., 2019. Understanding the influence of carbon nanomaterials on microbial communities. *Environment International* 126, 690–698. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.02.005>
- Demirer, G.S., Zhang, H., Matos, J.L., Goh, N.S., Cunningham, F.J., i in., 2019. High aspect ratio nanomaterials enable delivery of functional genetic material without DNA integration in mature plants. *Nature Nanotechnology* 14, 456–464. <https://doi.org/10.1038/s41565-019-0382-5>
- Dhingra, P., Sharma, S., Singh, K.H., Kushwaha, H.S., Barupal, J.K., i in., 2022. Seed priming with carbon nanotubes and silicon dioxide nanoparticles influence agronomic traits of Indian mustard (*Brassica juncea*) in field experiments. *Journal of King Saud University – Science* 34, 102067. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.102067>
- Evtugyn, G., 2022. Bionanotechnology in multiplex assays. *Mikrochim Acta* 189, 335. <https://doi.org/10.1007/s00604-022-05443-x>
- Golestanipour, A., Nikkhah, M., Aalami, A., i Hosseinkhani, S., 2018. Gene Delivery to Tobacco Root Cells with Single-Walled Carbon Nanotubes and Cell-Penetrating Fusogenic Peptides. *Molecular Biotechnology* 60, 863–878. <https://doi.org/10.1007/s12033-018-0120-5>
- Gonzalez-Garcia, Y., Cadenas-Pliego, G., Alpuche-Solis, A.G., Cabrera, R.I., i Juarez-Maldonado, A., 2021. Carbon Nanotubes Decrease the Negative Impact of *Alternaria solani* in Tomato Crop. *Nanomaterials* 11. <https://doi.org/10.3390/nano11051080>
- Hasnain, M.S. i Nayak, A.K., 2019. Carbon Nanotubes for Targeted Drug Delivery. Springer Singapore.
- Iijima, S., 1991. Helical Microtubules of Graphitic Carbon. *Nature* 354, 56–58. <https://doi.org/DOI 10.1038/354056a0>

- Islam, T., Kalkar, S., Tinker-Kulberg, R., Ignatova, T., i Josephs, E.A., 2024. The „Duckweed Dip”: Aquatic Spirodela polyrhiza Plants Can Efficiently Uptake Dissolved, DNA-Wrapped Carbon Nanotubes from Their Environment for Transient Gene Expression. *ACS Synthetic Biology* 13, 687–691. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.3c00620>
- Khodakovskaya, M., Dervishi, E., Mahmood, M., Xu, Y., Li, Z., i in., 2009. Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. *ACS Nano* 3, 3221–3227. <https://doi.org/10.1021/nn900887m>
- Kwak, S.Y., Lew, T.T.S., Sweeney, C.J., Koman, V.B., Wong, M.H., i in., 2019. Chloroplast-selective gene delivery and expression in planta using chitosan-complexed single-walled carbon nanotube carriers. *Nature Nanotechnology* 14, 447–455. <https://doi.org/10.1038/s41565-019-0375-4>
- Lara-Romero, J., Campos-Garcia, J., Dasgupta-Schubert, N., Borjas-Garcia, S., Tiwari, D.K., i in., 2017. Biological effects of carbon nanotubes generated in forest wildfire ecosystems rich in resinous trees on native plants. *PeerJ* 5, e3658. <https://doi.org/10.7717/peerj.3658>
- Luo, Y., Zeng, W., Lei, G., Hou, Y., Ao, C. i in., 2022. The effects of multiwalled carbon nanotubes and *Bacillus subtilis* treatments on the salt tolerance of maize seedlings. *Front Plant Sci* 13, 1093529. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1093529>
- Miralles, P., Johnson, E., Church, T.L., i Harris, A.T., 2012. Multiwalled carbon nanotubes in alfalfa and wheat: toxicology and uptake. *Journal of the Royal Society Interface* 9, 3514–3527. <https://doi.org/10.1098/rsif.2012.0535>
- Monthieux, M., i Kuznetsov, V.L., 2006. Who should be given the credit for the discovery of carbon nanotubes? *Carbon* 44, 1621–1623. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2006.03.019>
- Park, S., i Ahn, Y.J., 2016. Multi-walled carbon nanotubes and silver nanoparticles differentially affect seed germination, chlorophyll content, and hydrogen peroxide accumulation in carrot (L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 8, 257–262. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2016.09.012>
- Rani, N., Kumari, K., i Hooda, V., 2025. The role of nanoparticles in transforming plant genetic engineering: advancements, challenges and future prospects. *Functional & Integrative Genomics* 25, 23. <https://doi.org/10.1007/s10142-025-01528-x>
- Safdar, M., Kim, W., Park, S., Gwon, Y., Kim, Y.O., i in., 2022. Engineering plants with carbon nanotubes: a sustainable agriculture approach. *Journal of Nanobiotechnology* 20. <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01483-w>
- Samadi, S., Saharkhiz, M.J., Azizi, M., Samiei, L., i Ghorbanpour, M., 2020. Multi-walled carbon nanotubes stimulate growth, redox reactions and biosynthesis of antioxidant metabolites in *Thymus daenensis* celak. in vitro. *Chemosphere* 249, 126069. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126069>
- Star, A., Gabriel, J.C.P., Bradley, K., i Grüner, G., 2003. Electronic detection of specific protein binding using nanotube FET devices. *Nano Letters* 3, 459–463. <https://doi.org/10.1021/nl0340172>
- Szollosi, R., Molnar, A., Kondak, S., i Kolbert, Z., 2020. Dual Effect of Nanomaterials on Germination and Seedling Growth: Stimulation vs. Phytotoxicity. *Plants* 9. <https://doi.org/10.3390/plants9121745>
- Turner, A.P.F., 2015. Biosensors: Fundamentals and applications – Historic book now open access. *Biosensors & Bioelectronics* 65, A1–A1. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.10.027>
- Vithanage, M., Seneviratne, M., Ahmad, M., Sarkar, B., i Ok, Y.S., 2017. Contrasting effects of engineered carbon nanotubes on plants: a review. *Environmental Geochemistry and Health* 39, 1421–1439. <https://doi.org/10.1007/s10653-017-9957-y>
- Vithanage, M., Seneviratne, M., Ahmad, M., Sarkar, B., i Ok, Y.S., 2018. Correction to: Contrasting effects of engineered carbon nanotubes on plants: a review. *Environ-*

- mental Geochemistry and Health 40, 569. <https://doi.org/10.1007/s10653-017-0050-3>
- Wu, H., Nissler, R., Morris, V., Herrmann, N., Hu, P., i in., 2020. Monitoring Plant Health with Near-Infrared Fluorescent H₂O₂ Nanosensors. *Nano Letters* 20, 2432–2442. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.9b05159>
- Zahrebelnei, F., Lima, D., de Lara, L.S., Gryczak, D.W., Carmo, T., i in., 2025. A sensitive electrochemical DNA biosensor for detecting the genome of a plant growth-promoting bacteria. *Talanta* 286, 127484. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.127484>
- Zhang, H., Yue, M.X., Zheng, X.K., Xie, C.S., Zhou, H., i in., 2017. Physiological Effects of Single- and Multi-Walled Carbon Nanotubes on Rice Seedlings. *Ieee Transactions on Nanobioscience* 16, 563–570. <https://doi.org/10.1109/Tnb.2017.2715359>
- Zhao, G., Zhao, Y., Lou, W., Abdalmegeed, D., Guan, R., i in., 2020. Multi-Walled Carbon Nanotubes Can Promote *Brassica napus* L. and *Arabidopsis thaliana* L. Root Hair Development through Nitric Oxide and Ethylene Pathways. *International Journal of Molecular Sciences* 21. <https://doi.org/10.3390/ijms21239109>

