

ЭКОЛОГИЯ

УДК 557.475:574.5:574.6

ТОКСИЧНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА ДЛЯ РАСТЕНИЙ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВОДНОЙ СИСТЕМЕ

С.А. Остроумов, В.А. Поклонов, С.В. Котелевцев, С.Н. Орлов

(лаборатория физико-химии биологических мембран, e-mail: ostroumov@mail.bio.msu.ru)

Рост производства и использования наноматериалов может привести к появлению новых видов загрязнения окружающей среды, в том числе водных экосистем. Таким новым видом загрязнения среды может оказаться загрязнение водной среды наночастицами. Необходимо более полное исследование биологических эффектов при воздействии наночастиц на водные организмы. Изучали взаимодействия наночастиц золота (Au) с водными макрофитами *Ceratophyllum demersum*. Использовали водные микрокосмы с этими растениями. Наночастицы золота (Au) добавляли в водную среду микрокосмов, содержащих макрофиты *C. demersum*. Затем анализировали состояние растений. Впервые показана фитотоксичность наночастиц Au для водных макрофитов. Предложен и успешно апробирован новый метод выявления фитотоксичности. Фитотоксичность выявлена при концентрации золота (в форме наночастиц) $6 \cdot 10^{-6}$ М– $1,8 \cdot 10^{-5}$ М.

Ключевые слова: гидробионты, водные микрокосмы, макрофиты, наночастицы, Au, *Ceratophyllum demersum*.

В современных условиях биосфера находится под воздействием химического загрязнения [1, 2], которое проявляется себя и в наземных, и в водных экосистемах.

Продолжение поступления в водные экосистемы различных химических веществ делает актуальными задачи экологического и экотоксикологического мониторинга, оценки опасности химических веществ, изучения различных аспектов взаимодействий между поступающими в биосферу химическими веществами и организмами [1–5]. В рамках этих исследований ранее изучались новые аспекты взаимодействий поллютантов с водными макрофитами в условиях лабораторных микрокосмов [6–9].

Данная работа была посвящена изучению ранее неизвестных биологических эффектов, наблюдаемых при воздействии наночастиц золота на водные организмы (на примере макрофитов). Золото (Au) — тяжелый металл первой группы и шестого периода системы элементов Д.И. Менделеева с атомным номером 79, атомный вес $196,9665 \pm 1$. Биологические эффекты этого элемента изучены меньше, чем воздействия других тяжелых металлов [10, 11]. В связи с разработкой возможностей использования наночастиц золота (gold nanoparticles, AuNPs) в медицинских целях, в том числе для диагностики и терапии рака, болезни Альцгеймера, артрита, ВИЧ, туберкулеза [11], представляет интерес изучение всего спектра возможных биологических эффектов, вызываемых различными препаратами Au. Некоторые препараты Au (I) токсичны, накапливаются в почках, в меньшей степени

ни в печени, селезенке и гипоталамусе. Накопление Au в почках может привести к их заболеванию, а также к дерматитам, стоматитам, тромбоцитопении [10]. В научной литературе отсутствовала информация о взаимодействиях наночастиц Au с водными макрофитами и сведения о том, могут ли наночастицы золота проявлять фитотоксическое действие в отношении высших водных растений. Современные задачи исследований экотоксикологии и химико-биотических взаимодействий [12–18] делают необходимым получение научных сведений о потенциальной токсичности максимально широкого спектра химических веществ и продуктов, в том числе наночастиц.

Цель данной работы — проверить гипотезу о возможной биологической активности наночастиц золота и выяснить, могут ли они оказывать токсическое воздействие на водные макрофиты *Ceratophyllum demersum* L.

Объекты и методы

Эксперименты проводились в пресноводных микрокосмах. Микрокосмы были созданы с участием массово встречающегося вида пресноводных организмов — водных растений *Ceratophyllum demersum* L. В соответствии с ранее отработанной методикой содержания макрофитов в лабораторных условиях [6, 8, 9] в микрокосмы вносили водные макрофиты и отстоянную водопроводную воду (ОВВ). Растения *C. demersum* были собраны в пруду в пойме р. Москвы в ее верхнем течении.

Таблица 1

Биомасса макрофитов *Ceratophyllum demersum* в микрокосмах, использованных для инкубации в присутствии НРЧ Au

Номера микрокосмов	Биомасса макрофитов <i>C. demersum</i> (сырой вес), г
1	4,5
2	3,4
3	4,4
4	3,4
5	1,9
6	2,3

Макрофиты *C. demersum* инкубировали в микрокосмах из прозрачного полимерного материала в условиях естественной фотопериодичности. В каждом микрокосме находилось по 500 мл воды (ОВВ) и макрофиты в количестве, соответствующем биомассе 2–4 г сырого веса (табл. 1). Температура воды 20°. В микрокосмы были добавлены препараты коллоидных наноразмерных частиц (НРЧ) золота (Au). Размер частиц составлял 20 ± 5 нм. Препарат НРЧ содержал $3 \cdot 10^{-4}$ М Au. Объем добавок в микрокосмах № 1 и № 2 — по 2 мл, в микрокосмах № 3 и № 4 — по 6 мл. Режим добавок: сделано по 5 добавок в каждый микрокосм. Первая добавка была сделана в начале инкубации. Последующие добавки были сделаны на 3, 8, 17 и 25-й дни инкубации. Через 28 сут инкубация была закончена. Суммарное внесение Au в микрокосмах № 1, 2, 3 и 4 после последней пятой добавки составило: в микрокосмах № 1 и № 2 после внесения пяти добавок по 2 мл — $6 \cdot 10^{-6}$ М; в микрокосмах № 3 и № 4 после внесения пяти добавок по 6 мл — $1,8 \cdot 10^{-5}$ М. Микрокосмы № 5 и

№ 6 служили контролем — наночастицы золота в них не добавляли.

Результаты и обсуждение

Состояние макрофитов в ходе инкубации охарактеризовано в табл. 2. В течение инкубации микрокосмов с макрофитами в течение первых дней не отмечено проявлений фитотоксичности НРЧ.

Было показано, что в условиях опыта при суммарном добавлении НРЧ Au $1,8 \cdot 10^{-5}$ М заметно выраженная фитотоксичность проявляется через 24 сут.

При суммарном добавлении НРЧ Au $6 \cdot 10^{-6}$ М также проявляются некоторые признаки фитотоксичности, но в менее выраженной степени.

Отметим, что при воздействии НРЧ Au наряду с гибелю части побегов отмечались сублетальные эффекты, связанные с расположением побегов растений в столбе воды. При токсическом сублетальном воздействии побеги располагались в столбе воды в среднем ниже, чем в контроле. В контроле все побеги плавали в верхней части столба воды и не касались дна, а при воздействии НРЧ Au побеги опускались ниже и некоторые побеги касались дна. Аналогичные сублетальные эффекты отмечены нами и при наблюдении макрофитов, которые были инкубированы в присутствии таких тяжелых металлов, как Cu, Zn, Cd и Pb, а также при инкубации макрофитов в присутствии органического поллютанта (додецилсульфата натрия, ДСН). Это указывает на то, что нами был найден и использован новый метод обнаружения и характеристики сублетальных проявлений фитотоксичности при воздействии поллютантов на водные растения *C. demersum*.

Полученные результаты дополняют ранее накопленные сведения об экотоксикологии металлов [1, 2, 4, 5] и фитотоксичности химических веществ (напри-

Таблица 2

Состояние макрофитов *Ceratophyllum demersum* в течение инкубации в присутствии НРЧ Au

Номер микрокосма	Величины добавок, мл	Суммарно внесено (в расчете на 1 л)	Проявление фитотоксичности через 17 сут	Проявление фитотоксичности через 24 сут	Проявление фитотоксичности через 28 сут
1, 2	2	$6 \cdot 10^{-6}$ М	Почти все побеги плавают, 1–2 побега упираются в дно	Растения занимают верхние 70–80% столба воды	Зона расположения растений в столбе воды шире, чем в контроле, часть растений расположена ниже, чем в контроле. Некоторые побеги упираются в дно. Погибло 20% побегов
3, 4	6	$1,8 \cdot 10^{-5}$ М	Часть побегов опустилась на дно микрокосмов; начинается гибель концевых участков некоторых побегов	Растения занимают весь столб воды; часть побегов упирается в дно или лежит на дне. Заметна гибель 40–50% побегов	Растения занимают весь столб воды, включая придонную зону. Часть побегов упирается в дно или лежит на дне. Погибло 50% побегов
5, 6	0	0	Все побеги плавают в верхней части микрокосмов. Побегов, упирающихся в дно, нет	Все побеги плавают в верхней части микрокосмов. Зона расположения макрофитов находится выше, чем в сосудах 1–4. Побегов, упирающихся в дно, нет. Погибло менее 10% побегов	Все побеги плавают в верхней части микрокосмов. Зона расположения макрофитов находится выше, чем в сосудах 1–4. Побегов, упирающихся в дно, нет. Погибло менее 10–15% побегов

Таблица 3

Фитотоксичность неорганических и органических веществ, примеры

Химические вещества	Организмы	Ссылки
Наночастицы золота	Водные макрофиты <i>Ceratophyllum demersum</i>	Новые результаты в данной статье
ПАВ додецилсульфат натрия, Тритон X-100, тетрадецилтриметиламмонийбромид	Проростки растений <i>Fagopyrum esculentum</i> , <i>Sinapis alba</i> , <i>Oryza sativa</i>	[26]
Катионный ПАВ	Проростки <i>Fagopyrum esculentum</i>	[27]
Полимерный ПАВ	Проростки <i>Fagopyrum esculentum</i> Moench	[28]
Додецилсульфат натрия	Водные макрофиты <i>Najas guadelupensis</i> L.	[9]
ПАВ	Проростки <i>Sinapis alba</i> , <i>Triticum aestivum</i>	[29]
ПАВ додецилсульфат натрия	Водные макрофиты <i>Potamogeton crispus</i> L.	[30]
Жидкое моющее средство “Vilva”	Проростки <i>Fagopyrum esculentum</i> ; <i>Oryza sativa</i>	[26, 31]
Синтетическое моющее средство “Аист-Универсал”	Водные макрофиты <i>Fontinalis antipyretica</i> Hedw.	[6]
Дeterгент “Каштан”	Водные макрофиты <i>Pistia stratiotes</i>	[26]
Синтетическое моющее средство “Кристалл”	Проростки растений <i>Oryza sativa</i> , <i>Fagopyrum esculentum</i>	[26]
Дeterгент “Каштан”	Проростки растений <i>Oryza sativa</i> , <i>Cucumis sativus</i>	[26]
Синтетическое моющее средство “Аист-Универсал”	Проростки гречихи <i>Fagopyrum esculentum</i>	[7]
Тяжелые металлы (Cu, Zn, Pb, Cd).	Водные макрофиты <i>Lilaeopsis brasiliensis</i> и <i>Utricularia gibba</i>	[32]
Наночастицы оксидов металлов (TiO ₂ , CuO, Al ₂ O ₃)	Проростки растений <i>Lens culinaris</i>	[33]
Наночастицы оксида меди	Водные макрофиты <i>Elodea canadensis</i>	[24]

мер, [3, 6–9]), а также о химико-биотических взаимодействиях в водной среде [12–18]. Новые результаты дополняют обнаруженные ранее факты о фитотоксичности химических веществ для высших растений, выявленных при тестировании на проростках растений (например, [26–29, 31, 33]) и на высших водных растениях (например, [9, 24, 30, 32])

Примеры фитотоксичности различных химических веществ и препаратов приведены в табл. 3. Отметим, что некоторые из этих веществ являются мемб-

ранотропными и могут воздействовать на структуру и функции биологических мембран.

Полученные результаты вносят вклад в изучение взаимодействий металлов с водными растениями [34–35], а также в изучение токсичности наноматериалов для водных организмов [36]. Накопление фактов о потенциальной токсичности наноматериалов представляет интерес также в связи с тем, что выдвигаются предложения использовать наноматериалы для очищения вод от контаминаントов [37].

Таблица 4

Возможное использование результатов данной работы

Область использования	Каким образом данная работа полезна в данной области, как могут применяться результаты
Методология научного исследования в области наноматериалов	Разработан и апробирован относительно недорогой эффективный метод оценки потенциальной опасности наночастиц
Методология биотестирования потенциально токсичных веществ	Разработан и апробирован новый, удобный в применении на практике метод оценки фитотоксичности веществ с использованием водных макрофитов и микрокосмов
Науки о наноматериалах	Выявлен новый вид наноматериалов, обладающих фитотоксичностью (наночастицы золота), расширена база данных о наночастицах металлов
Прогнозирование свойств новых веществ и материалов	Получены новые данные, полезные для предсказания свойств веществ и материалов с учетом степени их дисперсности. Расширен круг конкретных примеров, когда повышение дисперсности нетоксичного вещества ведет к появлению нового свойства — токсичности
Экологическое образование, экологическая безопасность	Расширен круг фактов о веществах, которые могут выступать как токсичные загрязнители окружающей среды с вредным воздействием на живые организмы. Это может использоваться для более полной оценки воздействий на окружающую среду (ОВОС)

Области возможного использования результатов указаны в табл. 4 [38, 39].

Проведенная работа позволяет сделать следующие выводы.

Выводы

1. Выдвинута и проверена гипотеза о том, что наноматериалы, представленные наночастицами золота, могут проявлять в водной среде фитотоксичность. Впервые получены данные, которые показывают, что наночастицы золота (Au) в определенных условиях оказывают токсическое воздействие на водные макрофиты.

2. Фитотоксичность обнаружена при использовании лабораторных водных микрокосмов. В условиях опыта в микрокосмах установлено токсическое воздействие наночастиц золота (Au) на макрофит *Ceratophyllum demersum*.

3. В условиях проведенных опытов токсическое воздействие наночастиц золота проявилось при до-

статочно длительном воздействии в течение 17 дней и более.

4. Фитотоксичность выявлена при концентрации золота (в форме наночастиц) $6 \cdot 10^{-6}$ М— $1,8 \cdot 10^{-5}$ М. Не исключено, что фитотоксичность может проявляться и при других концентрациях. При увеличении суммарной концентрации наноразмерных частиц (НРЧ) до $1,8 \cdot 10^{-5}$ М фитотоксичные эффекты проявлялись раньше, чем при суммарной концентрации $6 \cdot 10^{-6}$ М.

5. Проведенная работа расширяет методический арсенал биотестирования. В представленной работе успешно апробирован новый эффективный метод оценки фитотоксичности водорастворимых или взвешенных в воде веществ, который заключается в анализе расположения побегов макрофитов (на примере *C. demersum*) в столбе воды.

Авторы выражают благодарность Ю.А. Моисеевой, Е.А. Соломоновой, сотрудникам МГУ имени М.В. Ломоносова и Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН за помощь и обсуждение.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nagajyoti P.C., Lee K.D., Sreekanth T.V.M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review // Environ. Chem. Lett. 2010. Vol. 8. N 3. P. 199—216.
2. Ермаков В.В., Тютюков С.Ф. Геохимическая экология животных. М.: Наука, 2008. 315 с.
3. Ostroumov S.A. Triton X-100 // Toxicol. Rev. (Toksikologicheskiy Vestnik, Moscow). 1999. N 4. P. 41.
4. Ostroumov S.A. Cadmium sulphate: effect on mussels // Toxicol. Rev. 2004. N 6. P. 36—37.
5. Ostroumov S.A. Potassium fluotitanate (impact on water filtration mussels *Mytilus galloprovincialis*) // Toxicol. Rev. 2007. N 3. P. 39—40.
6. Ostroumov S.A., Solomonova E.A. Synthetic detergent “Aist-Universal”: impact on *Fontinalis antipyretica* Hedw. // Toxicol. Rev. 2007. N 1. P. 40—41.
7. Ostroumov S.A., Solomonova E.A. Synthetic detergent “Aist-Universal”: effects on seed germination and seedling elongation of buckwheat *Fagopyrum esculentum* // Toxicol. Rev. 2007. N 5. P. 42—43.
8. Ostroumov S.A., Solomonova E.A. Investigation of the interaction of sodium dodecyl sulfate with water macrophytes under experimental conditions // Toxicol. Rev. 2008. N 4. P. 21—26.
9. Solomonova E.A., Ostroumov S.A. Effects of sodium dodecyl sulfate on the biomass of macrophytes *Najas guadalupensis* L. // Toxicol. Rev. 2009. N 2. P. 32—35.
10. Стрижко В.С., Меретуков М.А. Золото // Химическая энциклопедия. Т. 2. М.: Советская энциклопедия, 1990. С. 334—338.
11. Boisselier E., Astruc D. Gold nanoparticles in nanomedicine: preparations, imaging, diagnostics, therapies and toxicity // Chem. Soc. Rev. 2009. Vol. 38. N 6. P. 1759—1782.
12. Добровольский Г.В. К 80-летию выхода в свет книги В.И. Вернадского “Биосфера”. Развитие некоторых важных разделов учения о биосфере // Экологическая химия. 2007. Т. 16. № 3. С. 135—143.
13. Моисеенко Т. И. Водная экотоксикология: теоретические и прикладные аспекты. М.: Наука, 2009. 400 с.
14. Моисеенко Т. И., Гашкина Н.А. Микроэлементы в поверхностных водах суши и особенности их водной миграции // Докл. РАН. 2005. Т. 405. № 3. С. 395—400.
15. Ermakov V.V. About the book “Aquatic organisms in water self-purification and biogenic migration of elements” // Water: Chemistry and Ecology. 2009. N 8. P. 25—29.
16. Rand G. Fundamentals of Aquatic Toxicology. Philadelphia: Taylor and Francis, 1995. 1126 p.
17. Ostroumov S.A. Aquatic organisms in water self-purification and biogenic migration of elements. M.: MAKS Press, 2008. 200 p.
18. Химико-биотические взаимодействия. Библиографическая информация (URL: <http://www.scribd.com/doc/62341906/>).
19. Abakumov V.A. New in the study of modern problems environmental science and ecology, including research on water ecosystems and organisms // Achiev. Life Sci. 2012. N 5. P. 121—126.
20. Abakumov V.A. A review of some achievements in environmental sciences, general ecology and aquatic ecology: functioning of ecosystems and environmental toxicology // Ecological Studies, Hazards, Solutions. 2013. Vol. 18. P. 7—15.
21. Ermakov V.V., Gorshkova O.M. Towards a new ecology and environmental science. (Review, bibliography of selected papers and books) // Ecological Studies, Hazards, Solutions. 2013. Vol. 18. P. 29—46.
22. Asharani P.V., Lianwu Y., Gong Z., Valiyaveetil S. Comparison of the toxicity of silver, gold and platinum nanoparticles in developing zebrafish embryos // Nanotoxicol. 2011. Vol. 5. N 1. P. 43—54.
23. Taylor U., Barchanski A., Garrels W., Klein S., Kues W., Barcikowski S., Rath D. Toxicity of gold nanoparticles on somatic and reproductive cells // Adv. Exp. Med. Biol. 2012. Vol. 733. P. 125—133.
24. Johnson M.E., Ostroumov S.A., Tyson J.F., Xing B. Study of the interactions between *Elodea canadensis* and CuO

- nanoparticles // Rus. J. General Chem. 2011. Vol. 81. N 13. P. 2688–2693.
25. Ostroumov S.A., Kotelevtsev S.V. Toxicology of nanomaterials and environment // Ecologica. 2011. Vol. 18. N 61. P. 3–10.
26. Ostroumov S.A. Biological effects of surfactants. CRC Press. Boca Raton; L.; N.Y.: Taylor & Francis, 2006. 279 p.
27. Ostroumov S.A., Tret'yakova A.N. Effect of environmental pollution with a cationic surface active substance on algae and *Fagopyrum esculentum* sprouts // Soviet J. Ecol. 1990. Vol. 21. N 2. P. 79–81.
28. Ostroumov S.A., Semykina N.A. Reaction of *Fagopyrum esculentum* Moench to pollution of aqueous medium with polymeric surfactants // Rus. J. Ecol. (Ekologia). 1993. Vol. 24. N 6. P. 386–390.
29. Ostroumov S.A., Maksimov V.N. Bioassay of surfactants based on the disruption of seedling attachment to the substrate and rhizoderm root hair formation // Biol. Bull. Academ. Sci. USSR (USA; ISSN 0098-2164). 1992. Vol. 18. N 4. P. 383–386.
30. Solomonova E.A., Ostroumov S.A. Tolerance of an aquatic macrophyte *Potamogeton crispus* L. to sodium dodecyl sulphate // Mos. Univ. Biol. Sci. Bull. 2007. Vol. 62. N 4. P. 176–179.
31. Ostroumov S.A., Khoroshilov V.S. Biological activity of waters polluted with a liquid surfactant-containing detergent // Izvestiya Akademii Nauk SSSR, Seriya Biologicheskaya. 1992. N 3. P. 452–458.
32. Poklonov V.A., Kotelevtsev S.A., Shestakova T.V., Shelykovsky V.L., Ostroumov S.A. The study of phytoremedia-
- tion potential of aquatic plants *Lilaeopsis brasiliensis* and *Utricularia gibba* // Water: Chem. & Ecol. 2012. N 5. P. 66–69.
33. Ostroumov S.A., Xing B. Effects of three types of metal oxide nanoparticles (TiO_2 , CuO , Al_2O_3) on the seedlings of the higher plant *Lens culinaris* // Ecologica. 2012. Vol. 19. N 65. P. 10–14.
34. Ladislas S., El-Mufleh A., Gérante C., Chazarenc F., Andrèus Y., Béchet B. Potential of aquatic macrophytes as bio-indicators of heavy metal pollution in urban stormwater runoff // Water, Air & Soil Pollut. 2012. Vol. 223. N 2. P. 877–888.
35. Singh D., Tiwari A., Gupta R. Phytoremediation of lead from wastewater using aquatic plants // J. Agricult. Technol. 2012. Vol. 8. N 1. P. 1–11.
36. Wong S.W., Leung K.M., Djuricic A.B. A comprehensive review on the aquatic toxicity of engineered nanomaterials // Rev. Nanosci. Nanotechnology. 2012. Vol. 2. N 2. P. 79–105.
37. Mohmood I., Lopes C.B., Lopes I., Ahmad I., Duarte A.C., Pereira E. Nanoscale materials and their use in water contaminants removal – a review // Environ. Sci. Pollut. Res. 2013. Vol. 20. N 3. P. 1239–1260.
38. Ostroumov S.A. Problems of assessment of biological activity of xenobiotics // Mos. Univ. Biol. Sci. Bull. 1990. Vol. 45. N 2. P. 26–32.
39. Ostroumov S.A., Wasternack K. Response of photo-organotrophously growing green flagellates to water pollution by the detergent preparation “Kristall” // Mos. Univ. Biol. Sci. Bull. 1991. Vol. 46. N 2. P. 66–67.

Поступила в редакцию
10.04.13

TOXICITY OF GOLD NANOPARTICLES TO PLANTS IN EXPERIMENTAL AQUATIC SYSTEM

S.A. Ostroumov, V.A. Poklonov, S.V. Kotelevtsev, S.N. Orlov

Modern growth in production and use of nanomaterials may lead to new types of environmental pollution with nanoparticles. There is a need for better studying of the potential toxicity of nanomaterials. Interactions of the nanoparticles of gold (Au) with the aquatic macrophyte *Ceratophyllum demersum* under conditions of microcosms were studied. It is the first study to report some phytotoxicity of the nanoparticles of gold (Au) to aquatic macrophytes. A new method of detection of phytotoxicity was suggested and successfully applied. Phytotoxicity was discovered at concentrations of gold (in the form of nanoparticles) $6 \cdot 10^{-6}$ M– $1,8 \cdot 10^{-5}$ M.

Key words: *aquatic organisms, aquatic microcosms, macrophytes, nanoparticles, Au, Ceratophyllum demersum*.

Сведения об авторах

Острумов Сергей Андреевич — докт. биол. наук, вед. науч. сотр. биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-22-60; e-mail: ostroumov@mail.bio.msu.ru

Поклонов Владислав Александрович — аспирант биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-22-60; e-mail: ostroumov@mail.bio.msu.ru

Котелевцев Сергей Васильевич — докт. биол. наук, вед. науч. сотр. биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-22-60; e-mail: ostroumov@mail.bio.msu.ru

Орлов Сергей Николаевич — докт. биол. наук, зав. лабораторией физико-химии биологических мембран биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-22-60; e-mail: ostroumov@mail.bio.msu.ru