

Лупан К. О., магістр, Калініченко О. О., аспірант, Охмат О. А., доц.

Київський національний університет технологій та дизайну

ЗАСТОСУВАННЯ ІННОВАЦІЙНИХ ПІДХОДІВ У СУЧАСНИХ АГРОБІОТЕХНОЛОГІЯХ

Анотація. У роботі досліджено вплив наночасток срібла та N-ацилгомосеринлактонів (N-АГЛ) на ріст та розвиток рослин озимої пшениці. Проаналізовано механізми дії цих агентів на фотосинтетичні процеси та метаболізм рослин. Встановлено, що обробка насіння наночастками срібла у поєднанні з бактеріальними лактонами C8-АГЛ демонструє найбільше зростання пагонів і кореневої системи, що підкреслює їх потенціал для стимуляції росту рослин. Виявлено також, що дані комбінації позитивно впливають на вміст хлорофілів, каротиноїдів, білків та інших важливих метаболітів, що може стати основою для нових агрономічних практик у сільському господарстві України в умовах зміни клімату та екологічних викликів.

Ключові слова: пшениця, наночастки срібла, N-ацилгомосеринлактони, зелений синтез.

Lupan K. O., Kalinichenko O. O., Okhmat O. A.

Kyiv National University of Technologies and Design

INNOVATIVE APPROACHES APPLICATION IN MODERN AGROBIOTECHNOLOGY

Abstract. This paper investigates the effects of silver nanoparticles and N-acylhomoserine lactones (N-HSL) on the growth and development of winter wheat. The mechanisms by which these agents affect photosynthetic processes and plant metabolism were analyzed. The treatment of seeds with silver nanoparticles in combination with bacterial lactones C8-HSL was found to promote the greatest growth of both shoots and the root system, highlighting their potential for stimulating plant growth. These combinations were also found to positively affect the levels of chlorophylls, carotenoids, proteins, and other important metabolites, which could serve as a basis for new agronomic practices in Ukrainian agriculture amid climate change and environmental challenges.

Keywords: wheat, silver nanoparticles, N-acylhomoserine lactones, green synthesis.

Вступ. У контексті війни в Україні та зменшення посівних площ виникла гостра потреба у підвищенні врожайності сільськогосподарських культур. Значну частку врожаїв займають зернові культури, зокрема пшениця, яка є джерелом приблизно 21% світових потреб у харчовій енергії та білку [1]. З огляду на це, важливо підвищувати врожайність пшениці, одночасно долаючи несприятливі впливи довкілля, спричинені змінами клімату, деградацією ґрунтів, а також шкідниками і хворобами. Одним із напрямків підвищення врожайності є використання агробіотехнологій, що базуються на застосуванні біостимуляторів, здатних покращувати ріст сільськогосподарських рослин, підвищувати їхню врожайність та стійкість до стресових факторів.

Одним з інноваційних напрямів розвитку агробіотехнологій вважають застосування наноматеріалів [2, 3]. Наночастки різних металів знаходять застосування як нанодобрива, нанопестициди, наногербіциди [3], наносенсори та системи доставки агрохімікатів [4]. Найбільш застосовуваними наноматеріалами є наночастки срібла (AgNPs). AgNPs відомі своїми антимікробними властивостями, що дозволяє використовувати їх для захисту рослин від патогенів.

Наночастки срібла здатні ефективно руйнувати біоплівки, утворені бактеріями, грибами або мікробними асоціаціями. Крім того, AgNPs в поєднанні з біополімерами, які виступають у ролі стабілізаторів, забезпечують поступове вивільнення срібла. Це сприяє пролонгованій антимікробній дії AgNPs, підвищує захист рослин від патогенів та забезпечує біодоступність срібла для рослин. Зокрема, екзополісахариди у поєднанні з

AgNPs можуть утворювати гідрогелеві матриці, які можуть безпосередньо стимулювати ріст рослин, впливаючи на метаболізм, водний баланс і антиоксидантну активність; проникати у тканини рослини, впливати на транспорт поживних речовин, підвищувати стійкість рослин до захворювань.

AgNPs отримують за допомогою хімічних, фізичних та біологічних методів. Однак, хімічний та фізичний методи синтезу наночастинок вимагають створення спеціальних умов синтезу, застосування високовартісних та доволі агресивних відновників або розчинників, використання ультразвуку тощо. Вищезгадане робить хімічний та фізичний методи синтезу ресурсовитратними. На противагу, біосинтез («зелений» синтез) наночастинок вважають більше перспективним через низку переваг: екологічність, ресурсоощадливість, відсутність у технології токсичних або агресивних хімічних матеріалів. Для реалізації технології «зеленого» синтезу AgNPs найчастіше використовують біологічні агенти: дріжджі, бактерії та гриби [5].

Поряд з наночастинами для впливу на різні фізіологічні процеси в рослинах (наприклад, покращення фотосинтезу, стимулювання росту кореневої системи, підвищення стресостійкості в умовах посухи тощо) використовують лактони. Лактони мають широкий спектр біологічної активності, зокрема антибактеріальної, фунгіцидної, вони є інгібіторами амілаз і протеаз, мають регуляторну дію на проростання насіння та ріст рослин [6–8].

Постановка завдання. Виходячи з вищенаведеного, мета роботи полягала у дослідженні впливу наночастинок срібла та лактонів бактеріального походження на ріст сільськогосподарської культури – пшениці.

Як модельний об'єкт в дослідженні використано озиму пшеницю сорту Подолянка (різновид лютесценс). Сорт отриманий в Інституті фізіології рослин і генетики НАН Миронівському інституті пшениці ім. В.М. Ремесла НААНУ. Сорт Подолянка є середньораннім сортом інтенсивного типу, універсальним, стійким до посухи та вилягання.

Для дослідження також використано наночастки срібла, синтезовані шляхом біосинтезу за допомогою лізату штаму дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* Y-1995, вирощеному на поживному середовищі Сабура [5]. Розмір синтезованих наночастинок, визначений методом динамічного розсіювання світла (DLS), склав менше 100 нм [9, 10]. В дослідженні також використано N-ацилгомосеринлактони (АГЛ), які відносять до класу молекул медіаторів бактеріального походження. Молекули N-гексаноїл- (C6-АГЛ) та N-октаноїл- (C8-АГЛ) гомосеринлактони (L та DL ізомери) отримані методом органічного синтезу в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В. П. Кухаря НАН України.

Експериментальні дослідження передбачали обробку модельного об'єкта різними комбінаціями дослідних матеріалів. Дослідні групи обробляли:

- індивідуально N-ацилгомосеринлактонами (L6, DL6, L8, DL8);
- індивідуально наночастинами срібла (AgNPs) або нітратом срібла (AgNO_3);
- комбінацією нітрату срібла з N-ацилгомосеринлактонами (AgNO_3 +L6, AgNO_3 +DL6, AgNO_3 +L8, AgNO_3 +DL8);
- комбінацією AgNPs з N-АГЛ (AgNPs+L6, AgNPs+DL6, AgNPs+L8, AgNPs+DL8).

Для експерименту сформовано 15 дослідних груп, включаючи контрольну дослідну групу.

Для реалізації експерименту попередньо очищене насіння пшениці обробляли дослідними матеріалами або їх комбінацією. Насіння у чашках Перті витримували у термостаті за температури 25 ± 1 °C, після чого насіння висаджували в гумус у стерильних умовах. Вирощування упродовж 14 днів здійснювали у контрольованому середовищі

термостату за температури 22 °С, при вологості 60% та циклом освітлення – 16 годин світла / 8 годин темряви.

Отримані пагони пшениці та її кореневу систему досліджували як візуально, так і за допомогою хімічних, фізичних та інструментальних методів аналізу для визначення впливу застосовуваних матеріалів на ріст модельного об'єкту [11–13].

Результати дослідження. Після вирощування упродовж 14 діб здійснено візуальний аналіз та визначено розміри пагонів та коренів пшениці всіх дослідних груп (табл. 1).

Таблиця 1

Розмір пагонів та коренів пшениці

№	Дослід	Довжина, мм:	
		пагонів	кореневої системи
1	Контроль	21,5	11,8
2	AgNO ₃	18,0	12,8
3	AgNPs	20,6	12,6
4	L6	20,2	15,7
5	L8	20,9	15,3
6	DL6	16,7	12,4
7	DL8	18,0	10,8
8	AgNO ₃ +L6	21,9	11,4
9	AgNO ₃ +L8	20,8	16,8
10	AgNO ₃ +DL6	24,1	15,6
11	AgNO ₃ +DL8	20,3	11,0
12	AgNPs+L6	24,5	13,9
13	AgNPs+L8	26,6	18,4
14	AgNPs+DL6	25,9	14,4
15	AgNPs+DL8	20,7	16,6

Джерело: авторська розробка.

У дослідних варіантах, в яких використано N-АГЛ, коренева система більш розвинена та розгалужена. У порівнянні з показниками контрольної групи також спостерігали зменшення довжини пагонів у досліді, та збільшення кореневої системи за індивідуального використання AgNO₃ або AgNPs. Більш значний вплив AgNPs порівняно з AgNO₃ на ріст пагонів і кореневої системи може бути пов'язаний з більшою ефективністю наночасток аргентуму у порівнянні з нітратом аргентуму через їх розмірність. Використання комбінації AgNPs+C8-АГЛ (варіант 13) мав найбільший вплив на ріст пагонів і кореневої системи пшениці, що вказує на потенціал цієї комбінації для стимуляції росту рослин. У порівнянні з контрольним варіантом, спостерігали збільшення довжини пагонів на 23,7%, кореневої системи – 55,9%; водночас комбінація з AgNO₃, забезпечувала приріст на 27,9% та 9,5% відповідно.

Для ефективного росту рослинам необхідне забезпечення фотосинтезу – процесу перетворення енергії світла на енергію хімічних зв'язків. В клітинах рослин завжди наявні хлоропласти, які і забезпечують вказане перетворення. Хлоропласти містять два види хлорофілу – Chl a та Chl b. Ці пігменти поглинають світло в червоній і фіолетовій частинах спектру. Хлоропласт також містить каротиноїди (Car), які поглинають світло найсильніше в синій частині спектра. Для визначення вмісту каротиноїдів, Chl a та Chl b у дослідних зразках в дослідженні використали спектрофотометричний метод при довжині хвиль, нм: 441, 649, 654 та 665 [12, 13]. За отриманими даними розраховано вміст пігментів у паростках пшениці. Результати розрахунку представлені в табл. 2.

Таблиця 2

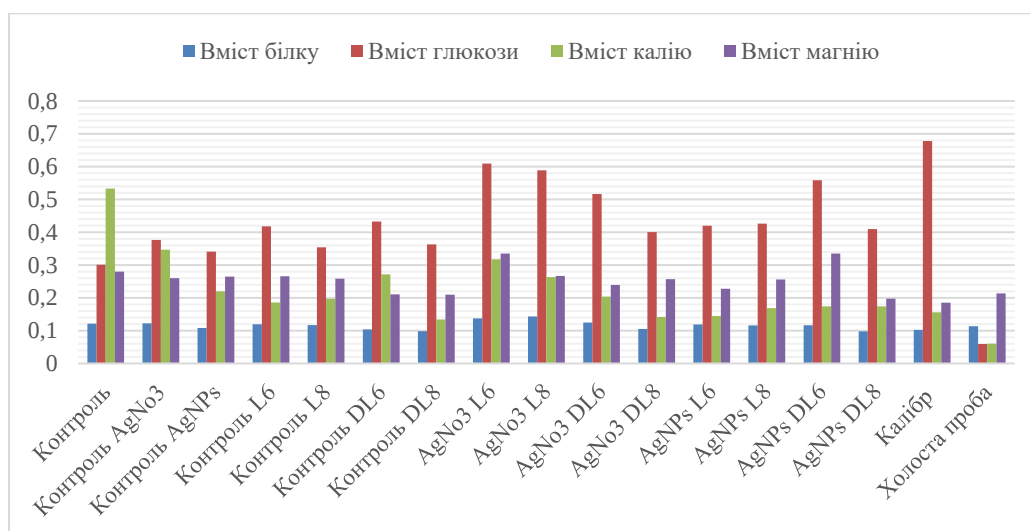
Кількісний вміст пігментів у пагонах пшениці

№	Дослід	Кількісний вміст пігментів, мг/г:			
		Chl a	Chl b	Car	Chl a/ b
1	Контроль	0,0075	0,0129	0,0011	0.581
2	AgNO ₃	0,0233	0,0240	0,0190	0.971
3	AgNPs	0,0142	0,0162	0,0153	0.877
4	L6	0,0137	0,0166	0,0179	0.825
5	L8	0,0226	0,0279	0,0191	0.810
6	DL6	0,0278	0,0369	0,0107	0.753
7	DL8	0,0233	0,0274	0,0297	0.850
8	AgNO ₃ +L6	0,0203	0,0222	0,0112	0.914
9	AgNO ₃ +L8	0,0095	0,0143	0,0112	0.664
10	AgNO ₃ +DL6	0,0148	0,0187	0,0086	0.791
11	AgNO ₃ +DL8	0,0101	0,0168	0,0163	0.601
12	AgNPs+L6	0,0099	0,0151	0,0127	0.656
13	AgNPs+L8	0,0102	0,0234	0,0111	0.436
14	AgNPs+DL6	0,0101	0,0160	0,0127	0.631
15	AgNPs+DL8	0,0122	0,0219	0,0015	0.557

Джерело: авторська розробка.

Обробка насіння індивідуально нітратом срібла спричинила трикратне збільшення концентрації Chl a у порівнянні з контрольними зразками і майже 17 кратне збільшення у зразках пшениці каротиноїдів. Це свідчить про сильний стимулюючий вплив AgNO₃ на фотосинтетичну механізм. Найвищий вміст Chl a та Chl b спостерігається в зразку, обробленому лактонами DL6 (варіант 6), а каротиноїдів – у зразку, обробленому лактонами DL8 (варіант 7). Скоріше за все, це пов'язано з впливом АГЛ на активацію антиоксидантної системи та їх фітостимулюючими властивостями.

У подальшому дослідженні визначено вміст (мг/г) у дослідних групах білка за методом Бредфорда, глюкози за глюкозо-оксидазним методом, магнію та калію методом атомно-абсорбційної спектроскопії. Дослідження здійснювали у трьох повторях проти холостої проби. Узагальнені результати дослідження представлені на рис. 1.



Джерело: авторська розробка.

Рис. 1. Вміст білку, глюкози, калію й магнію у пшениці

З рис. 1 видно, що комбінація AgNO_3 з лактонами L6 є найефективнішою комбінацією для підвищення вмісту білка, глюкози та магнію у пшениці; комбінація AgNO_3 з лактонами L8 ефективна для підвищення вмісту глюкози та білка; комбінація AgNPs з лактонами DL6 ефективна для підвищення вмісту у пшениці білка. Вочевидь, нітрат срібла впливає на підвищення активності ферментів, відповідальних за синтез білка, а наночастки срібла та АГЛ впливають на фотосинтез, метаболізм та активацію шляхів накопичення у пагонах пшениці цукрів.

Висновки. В результаті проведеного дослідження було виявлено, що наночастки срібла і N-ацилгомосеринлактони (L6, L8, DL6, DL8) чинять значний вплив на ріст, біометричні показники та метаболізм пшениці. Встановлено, що обробка насіння пшениці наночастками срібла в поєднанні з лактонами L8 сприяє максимальному росту пагонів і корінців, що свідчить про потенціал цієї комбінації для стимуляції розвитку рослин.

Також було визначено, що використання наночасток срібла загалом позитивно впливає на ріст пшениці, порівняно з використанням нітрату срібла, що пов'язано з більш контрольованим та цілеспрямованим ефектом наночасток. Зокрема, наночастки срібла у поєднанні з лактонами DL6 і DL8 показали значний вплив на підвищення вмісту хлорофілу a, b і каротиноїдів, що може свідчити про формування захисних механізмів у рослини.

Дослідження показало, що використання наночасток срібла та N-ацилгомосеринлактонів має значний вплив на ріст пагонів, формування кореневої системи, фотосинтетичну активність, вміст білків, глюкози, мінеральних речовин у пшениці. При цьому, найбільш ефективними комбінаціями для стимуляції росту та метаболічних процесів у пшениці були визначені AgNO_3 з лактонами L6 та L8, а також AgNPs з лактонами DL6. Різний вплив окремих комбінацій метаболічні процеси пшениці, може бути використаний для цілеспрямованого регулювання росту та розвитку рослин, а також для підвищення їх продуктивності в умовах несприятливих факторів навколишнього середовища.

Таким чином, отримані результати свідчать про перспективність використання сполук срібла та N-ацилгомосеринлактонів у сільському господарстві для підвищення урожайності пшениці, що може сприяти подоланню проблем, пов'язаних зі змінами клімату, деградацією ґрунтів і зменшенням площі засіву в умовах війни.

Список використаної літератури

1. Jasrotia P., Kashyap P. L., Bhardwaj A. K., Kumar S., & Singh G. P. Scope and applications of nanotechnology for wheat production: A review of recent advances. *Wheat Barley Res.* 2018. № 10 (1). P. 1–14.
2. Mittal D., Kaur G., Singh P., Yadav K., & Ali, S. A. Nanoparticle-based sustainable agriculture and food science: Recent advances and future outlook. *Frontiers in Nanotechnology.* 2020. № 2. 579954.
3. Jiang M., Song Y., Kanwar M. K., Ahammed G. J., Shao S., Zhou J. Застосування фітонанотехнології в сучасному сільському господарстві. *J. Nanobiotechnol.* 2021. № 19. 430.
4. Singh R. P., Handa R., Manchanda G. Nanoparticles in sustainable agriculture: An emerging opportunity. *Journal of controlled release.* 2021. № 329. P. 1234–1248.
5. Харченко Є. І., Лазюка Ю. В., Скроцька О. І., Пенчук Ю. М. Отримання біогенних наночасток срібла з використанням дріжджів і перспективи їх застосування у протимікробній терапії. *Наукові праці НУХТ.* 2021. № 27 (3). С. 33–48.
6. Badhusha M. S. M., Mohideen M. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Saccharomyces cerevisiae* with different pH and study of antimicrobial activity against bacterial pathogens. *Chemical Science Transactions.* 2016. № 5 (4). P. 906–911.
7. Гордей К. Р., Золотайкіна М. Ю., Гонтова Т. М. Сесквітерпенові лактони маруни дівочої. *Тези доповідей Всеук. нак.-практ. конф. з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича (12–13 квітня 2018 р.)* м. Харків / Нац. фармац. ун-т ; редкол.: А. А. Котвицька та ін. Харків: НФаУ, 2018. С. 262–263.

8. Волошанська С. Я., Коссак Г. М., Скробач Т. Б., Харачко Т. І. Фармакологічні властивості Ялівцю звичайного (*Juniperus communis* L.) та екологічні особливості його поширення на Дрогобиччині. *Науковий вісник НЛТУ України*. 2014. Вип. 24.4. С. 179–185.
9. Лазюка Ю. В., Скроцька О. І., Харченко Є. В. Спектрофотометричний аналіз наночасток срібла, синтезованих з використанням безклітинного дріжджового екстракту. *Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті євроінтеграції: Програма та тези матеріалів Х міжнародної науково-технічної конференції* (9–10 листопада 2021 р). Київ: НУХТ, 2021. С. 63–64.
10. Lahuta L. B. et al. The size-dependent effects of silver nanoparticles on germination, early seedling development and polar metabolite profile of wheat (*Triticum aestivum* L.). *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. № 23 (21). 13255.
11. Bradford M. M. Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*. 1976. № 72. P. 248–254.
12. Кисличенко О. А., Процька В. В., Журавель І. О. Дослідження фотосинтезувальних пігментів трави канни садової деяких сортів. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. № 2. С. 141–147.
13. Кисличенко О. А., Процька В. В., Журавель І. О. Ідентифікація та визначення вмісту хлорофілів та каротиноїдів у листі, квітках та траві канни садової сортів «Америка», «Президент» та «Маестро». *Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2018. № 30. С. 16–25.
14. Welz B., Sperling M. Atomic Absorption Spectrometry. Publisher, John Wiley & Sons, 2008. P. 33–36.
15. Okalebo J. R., Gathua K. W., Woomer P. L. Laboratory methods of soil and plant analysis: a working manual second edition. *Sacred Africa, Nairobi*. 2002. № 21. P. 25–26.
16. Flook P., Griffin A. M., Griffin H. G. Computer Analysis of Sequence Data, Parts I and II. *Journal of Evolutionary Biology*. 1994. Vol. 7, №. 5. P. 628–629.