

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

06.05 – МКР. 2158 «С». 2023.11.23. 27 ПЗ

МАЗУРИКА ВЛАДИСЛАВА СЕРГІЙОВИЧА

2024 р.

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

УДК 504.5:632.95:631.46

ПОГОДЖЕНО

Декан факультету захисту
рослин, біотехнологій та екології

_____ Юлія КОЛОМІЄЦЬ
(підпис)

«__» _____ 2024 р.

ДОПУСКАЄТЬ ДО ЗАХИСТУ

Завідувач кафедри загальної
екології, радіобіології та безпеки
життєдіяльності

_____ Алла КЛЕПКО
(підпис)

«__» _____ 2024 р.

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
на тему «Екотоксикологічна оцінка агрохімікатів за впливом на біологічну
активність ґрунту»

Спеціальність 101 Екологія

Освітня програма Екологічний контроль і аудит

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна

Гарант освітньої програми

Кандидат
сільськогосподарських
наук, доцент, доцент
кафедри екології
агросфери та екологічного
контролю

_____ (підпис)

Марина ЛАДИКА

Керівник магістерської кваліфікаційної роботи

Кандидат
сільськогосподарських
наук, доцент кафедри
загальної екології,
радіобіології та безпеки
життєдіяльності, старший
науковий співробітник

_____ (підпис)

Валерія БОНДАРЬ

Виконав

_____ (підпис)

Владислав МАЗУРИК

КИЇВ - 2024

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин, біоресурсів та природокористування

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри загальної екології, радіобіології
та безпеки життєдіяльності,

доктор біологічних наук _____ Алла КЛЕПКО
(підпис)

«__» _____ 2024 р.

ЗАВДАННЯ

ДО ВИКОНАННЯ МАГІСТЕРСЬКОЇ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ СТУДЕНТУ

Мазурик Владислав Сергійович

Спеціальності «101» Екологія

Освітня програма Екологічний контроль і аудит

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна

Тема магістерської кваліфікаційної роботи «Екотоксикологічна оцінка агрохімікатів за впливом на біологічну активність ґрунту»

Затверджена наказом ректора НУБіП України від «23» листопада 2023 р. №2158С

Термін подання завершеної роботи на кафедру «15» листопада 2024 р.

Вихідні данні до магістерської кваліфікаційної роботи – лабораторні дослідження

Перелік питань, що підглядають дослідженню:

- визначити чутливість ґрунтових бактерій до нанопрепарату;
- визначити концентрації, за яких відбувається інгібування росту бактерій;
- дослідити вплив наноагрохімікатів на ґрунтовий біоценоз по морфологічним групам;
- провести аналіз отриманих результатів.

Перелік графічного матеріалу – рисунки, схеми, таблиці

Дата видачі завдання «__» _____ 2023 р.

Керівник магістерської
кваліфікаційної роботи

(підпис)

Валерія БОНДАРЬ

Завдання прийняв до
виконання

(підпис)

Владислав МАЗУРИК

РЕФЕРАТ

Магістерська робота складається з пояснювальної записки. Пояснювальна записка викладена на 60 сторінках друкованого тексту і складається із вступу, 3 розділів, висновків і списку використаних джерел із 51 найменувань.

Мета роботи – оцінити стан ґрунту після внесення в нього наноагрохімікатів за впливом на біологічну активність ґрунту та чутливість бактерій до нанопрепарату.

Предмет дослідження – ґрунт, відібраний на території, яка не піддається постійному антропогенному навантаженню, нанопрепарат, ґрунтові бактерії.

Об'єкт дослідження – процес впливу наноагрохімікатів на біологічну активність ґрунту

В результаті виконаної роботи було:

- проаналізовано вплив наноагрохімікатів на основі різних наночастинок та їх сполук на ґрунтовий мікробіом;

- визначено токсичний вплив досліджуваного наноагрохімікату на бактерії біопрепарату;

- визначено вплив застосування наноагрохімікату на ґрунтові бактерії різних морфологічних груп;

- визначено концентрації при яких відбувається інгібування росту бактерій;

- на основі отриманих результатів сформовано висновки про дію наноагрохімікату на ґрунтовий мікробіом.

Ключові слова: НАНОПРЕПАРАТ, ҐРУНТ, ҐРУНТОВІ БАКТЕРІЇ, МІКРОБІОМ ҐРУНТУ, ЧУТЛИВІСТЬ БАКТЕРІЙ, ТОКСИЧНІСТЬ

ЗМІСТ

ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	8
1.1 Характеристика наноагрохімікатів, які застосовуються у рослинництві.	8
1.2 Вплив наноагрохімікатів на ґрунтові організми	13
1.2.1. Вплив наночастинок срібла.....	17
1.2.2. Вплив наночастинок золота	20
1.2.3. Наночастинки заліза та оксидів заліза	22
1.2.4. Наночастинки міді та оксидів міді	24
1.2.5. Наночастинки оксиду церію та алюмінію	26
1.2.6. Наночастинки цинку, оксид цинку та оксиду титану	27
1.3 Наноекотоксикологія – новий напрям оцінки небезпечності наноматеріалів та наночастинок.....	30
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ	34
2.1 Характеристика матеріалів.....	34
2.2 Визначення чутливості бактерій до нанопрепарату методом лунок	37
2.3 Метод визначення чисельності бактерій у ґрунті.....	38
2.3.1 Підготовка проб до посіву.....	39
2.3.2 Посів у чашки Петрі.....	40
2.3.3 Підрахунок колоній.....	41
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	43
3.1 Результати токсичної дії нанопрепарату на біопрепарат.....	43
3.2 Результати дії нанопрепарату на ґрунтові бактерії	46
ВИСНОВКИ.....	52
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	54

ВСТУП

Активний розвиток і впровадження наноматеріалів у сільськогосподарську практику не лише надає перевагу фермерам, але й становить загрозу для природних екосистем і людини, оскільки за своєю природою, ці частинки штучно видозмінені, та є ксенобіотиками для довкілля. Вплив наноматеріалів на екологічне середовище стає все більш гарячим напрямком досліджень, і багато дослідників вивчають механізми токсичності наноматеріалів на мікроорганізми. [1]

Після потрапляння в навколишнє середовище НМ піддаються різним перетворенням, не лише фізичним, але й хімічним та біологічним, які можуть змінювати властивості, біодоступність та токсичність НМ, а також їх функціональне призначення. Нанодобрива відрізняються від традиційних агрохімікатів тим, що до їхнього складу входять наночастинки (розмір, яких становить не більше 100 нм). НЧ мають незвичні фізичні та хімічні властивості, які часто радикально відрізняються від властивостей цієї ж речовини у формі суцільних фаз або макроскопічних дисперсій. Біологічні ефекти наночастинок характеризуються високою біоцидною дією, вони можуть зв'язуватися з білками або нуклеїновими кислотами, проникати в клітинні органели чи вбудовуватися в мембрани, і тим самим змінювати функції структур та органел. Через малий розмір наночастинок не розпізнаються захисними системами організму, не піддаються біотрансформації та не елімінуються з організму чи екосистеми. Так само, як і агрохімікати, нанодобрива мають бути безпечними для навколишнього середовища, його компонентів та людини. [1]

Для визначення чутливості бактерій до досліджуваного препарату широко використовують методи лунок та дифузно-дисковий. Установлення класу небезпечності наноагрохімікатів за використання біотестів дасть можливість оцінити рівень їхньої небезпечності для екосистем і запобігти можливному негативному впливу на довкілля, компоненти та здоров'я людини. [1]

Метою дипломної роботи є: оцінити стан ґрунту після внесення в нього наноагрохімікатів та біопрепаратів за впливом на біологічну активність ґрунту.

Предметом дипломної роботи є: ґрунт, відібраний на території, яка не піддається постійному антропогенному навантаженню, наноагрохімікат, біопрепарати, ґрунтові мікроорганізми.

Об'єктом дипломної роботи є: процес впливу наноагрохімікату та біопрепаратів на біологічну активність ґрунту.

Задля виконання дослідження та досягнення мети дипломної роботи поставлено наступні завдання:

- визначити чутливість ґрунтових бактерій до нанопрепарату;
- визначити концентрації, за яких відбувається інгібування росту бактерій;
- дослідити вплив наноагрохімікатів на ґрунтовий біоценоз по морфологічним групам;
- провести аналіз отриманих результатів.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Характеристика наноагрохімікатів, які застосовуються у рослинництві

Нанотехнології - це багатопрофільна наука дослідницької області, яка в основному працює в дизайні, характеристиці, виготовленні та застосуванні наноструктур і наноскладових, і створює контрольований розмір маніпуляцій та форм в нанометричному масштабі (атомному і молекулярному, менше 100 нм), що виробляє конструкції, компоненти та системи принаймні з однією ознакою або новою характеристикою або властивістю. Ці нові матеріали спроектовані навмисно, оскільки вони мають переваги перед традиційними матеріалами. Виробництво нанорозмірних частинкок досягло великих масштабів, за оцінками, становить 260 000–309 000 метричних тонн у 2010 р. - близько 8-28%, 0,4-7% та 0,1-1,5% розраховане на потрапляння в компоненти екосистем: ґрунт, водні об'єкти та атмосферу відповідно. [2]

Відповідно до звіту, опублікованого ФАО у 2013 році про сучасний рівень нанотехнологій у харчовій промисловості та сільського господарства, дослідження проводились протягом десяти років, та були направлені на досягнення стійкості та створення рішень для проблеми навколишнього середовища. Такі дослідження зосереджені на:

- розумному вивільненні активних інгредієнтів (захист врожаю від хвороб та шкідників);
- мінімізуванні втрат поживних речовин при заплідненні та підвищенні продуктивності,
- отриманні біонаносполук із традиційних сільськогосподарські культури. [2]

Зростаюча кількість населення потребує оптимізації використання ресурсів (ґрунту, водних ресурсів) та рекультивації пошкоджених ґрунтів для використання у сільському господарстві. Як підсумок ФАО на форумі експертів 2009 року «Як годувати світ у 2050 р.» заявили, що потрібно буде збільшити виробництво зерна на 70% до 2050 р. Нанотехнології можуть бути інструментом

в сучасному сільському господарстві і приносити користь у вирішенні майбутніх проблем харчування та енергетики. [2]

Розвиток нанокомпозитів і нанокапсул свідчить про те, що контроль кількості активних інгредієнтів потрібно приймати до уваги протягом усього росту врожаю, уникаючи передозування, щоб у майбутньому зменшити збитки. Також вчені значно просунулися у дослідженнях щодо збереження поживних речовин, оскільки відомо, що лише невеликий відсоток внесеного добрива використовується сільськогосподарськими культурами, решта втрачається шляхом промивання, обробки або утримання мінеральних речовин, а використання нанодобрив дозволяє переміщатися поживним речовинам у ризосфері, покращуючи живлення рослини, та даючи добривам час для поступового вивільнення і тривалішої їх дії. Сьогодні можна розробити НЧ або наномасштабні «транспортні засоби» (нанокапсули), які змогли б покращити мобілізацію поживних речовин до прикореневої зони рослин і посилити засвоєння корисних молекул. [2]

Дослідження Біна Хусейна показують, що використання цинку та його нанокомпозитів на основі гідроксиду алюмінію, застосованого як покриття до нанокомпоненту уповільнюють вивільнення поживних речовин [2]. Даний факт підтверджує й інше дослідження Коттегода та ін. [2]: інкапсульовані наночастинки гідроксиапатиту сечовини в деревині, спроможні виділяти азот протягом 60 днів, в той час, як комерційне добриво – протягом 30 днів, тобто удвічі довше. [2]

Станом на сьогодні, вже створили цілий перелік запатентованих продуктів з використанням НЧ, один з яких заснований на суміші композитів калію, азоту та фосфору (NPK), мікроелементів, амінокислот і маннози, призначених для зернових культур [2]. З практики та аналізу даних, нам добре відомо про втрати азоту вимиванням його з ґрунтів, які часто стають причиною евтрофікації води. Дослідження показали, що дана проблема спостерігалася рідше, за умови внесення інкапсульованого добрива, вкритого наноматеріалами, наприклад таких як пластично-крохмальні суміші нанокомпозитів [2]. Вчені розробили і

наноматеріали, що здатні затримувати воду у ґрунті, такі як наноглини, нанозеоліти та наногідрогелі [2]. Наприклад, наноглини, при покритті цинком та виготовлені з поліакриламідного полімеру, є нанокомпозитом, відмінною особливістю якого є високе поглинання води та її утриманням. Це важлива характеристика, оскільки їх можна застосовувати для дощових культур (тих, котрі потребують зволоження) [2]. Нещодавно, був проведений експеримент Махфуді та Буфом, під час якого вони розробили наногідрогелі на основі нанофібрил целюлози (CNF) та поліакрил акриламіді. [2] Дана нанокомбінація створює певні умови, і тим самим, провокує вивільнення сечовини, яка в свою чергу імітує добриво. [2]

Так, одним із яскравих прикладів є створення дослідниками Лю та Лалом синтетичних наночастинок апатиту, як одну із форм фосфору, який зможе поступово надходити до коренів сої (*Glycine max L.*). Створений мезопористий діоксид кремнію (MSiN) використовується як оболонка для пестицидів, що захищає діючу речовину (авермектин) від фотодеградації, і повільно вивільняє її, таким чином активна речовина діє довше [2]. Деякі НМ знайшли своє застосування і у захисті рослин завдяки їх біологічній здатності до розкладання. [2]

Чжао та ін. [2] у своїй праці представили огляд біо-нанокомпозиту: суть якого полягає у використанні полімерних матриць на основі білків або крохмалю, які піддаються біорозкладанню, і їх призначення - захист сумішей добрив від впливу різних факторів, що можуть призвести до зміни характеристик препарату. [2] Також, дедалі частішим є застосування наносенсорів, вони призначені для зондування НМ розміром 100 нм або менше: нанокристалів, нанотрубок або наночастинок, які передають «сигнал» у відповідь, таким чином відображаючи наявність себе у ґрунті. Велика поверхнева реакція наноматеріалів полягає у швидкому реагуванні, на що спрямована чутлива система виявлення НЧ наносенсорами. Їх встановлення на полях дозволяє фермеру в реальному часі отримати достовірну інформацію про стан ґрунту, і, таким чином дає можливість виявити потенційні проблеми на ранніх стадіях (наприклад, дефіцит води у

грунті, потреба поживних речовин) і не допустити їх розвитку, а отже і зберегти власний урожай, а отже і прибуток. [2]

Найбільшими природними джерелами походження наночастинок виділяють: вуглецеві тверді частинки і вугільну сажу, ерозію і геогенний пил. Тому, наявність наноматеріалів у навколишньому середовищі пов'язані не лише з їх внесенням у середовище людиною під час її діяльності. [2] Через різoplanовість застосувань нанотехнологій у різних галузях, НЧ можуть потрапляти у довкілля багатьма шляхами. Наприклад, до осадження наночасточок у водах і ґрунті призводять викиди в атмосферу; забруднення ґрунту може статися і в наслідок очищення стічних вод, у такому випадку наночасточки можуть стати побічним продуктом процесу очищення стічних вод або, ж випадково потратити у землю під час розливу. Незважаючи на знання про шляхи надходження НМ у навколишнє середовище, деякі наночастинки, присутні у ньому досі залишаються нам невідомими [2].

За даними деяких вчених, природні НЧ потрапляють у атмосферу з виверженням вулканів, атмосферні потоки (шторми, сильні вітри) переносять та розповсюджують тверді наночастинки на десятки кілометрів довкола, а далі осідають на землю під дією сили тяжіння, або прибиваються дощем [2].

Колоїдні частинки гумінової та фульвокислот, розміром від 1 до 100 нанометрів, котрі належать до глинистої фракції ґрунту також можна ідентифікувати як частинки нанорозмірного масштабу, а отже природні наноструктури. Органічна речовина, а саме гумінові та фульвокислоти, як один із компонентів ґрунту, може сильно змінювати деякі властивості наночастинок, наприклад, впливати на їх агрегацію у ґрунті. Біологічне значення обох структур, базується на структурному забезпеченні - постачанні поживних речовин мікробним спільнотам та підтримці їхньої життєдіяльності та функціонування [2]. З іншого боку, міграція НЧ у ґрунті певною мірою зумовлена їх сполуками з гуміновими та фульвокислотами, які є у ґрунтах, як акцепторами, так і донорами електронів для НЧ, які, зв'язуючись між собою можуть приймати участь у біодеградації забруднюючих сполук [2]. В інших же випадках вони

беруть участь у процесах міграції ксенобіотиків у ґрунтах і можуть посилити хімічну деградацію ґрунту, що є небажаним явищем [2].

Вся діяльність людини, прямо чи опосередковано впливає на довкілля. Розробка нових матеріалів для застосування їх у різних галузях поступово створили нанорозмірний вимір – нову технологічну еру. Джерела потрапляння у навколишнє середовище наночастинок та наноматеріалів антропогенного походження є первинні та вторинні. Первинні - виникають внаслідок експлуатації корисних копалин, а вторинні - потрапляють у довкілля з промисловою діяльністю (з викидами стаціонарних або пересувних джерел) [2]. Наявність та концентрація «первинних» наночастинок локалізована здебільшого у місцях таких видів діяльності, як експлуатація викопного палива, видобуток чорних і кольорових металів та експлуатація природних матеріалів для будівництва. Наночастинки, переважно з первинних джерел не настільки шкідливі, як наночастинки, з вторинного джерела. [2]

Розробка наночастинок набрала приголомшливих обертів протягом останнього десятиліття, розширюється їх застосування в електроніці, медицині та косметиці, сільському господарстві. Більше того, металічні наночастинки (MeНЧ) були запропоновані як новий рубіж у сучасній аграрній культурі [3]. Значна вигода від застосування MeНЧ, зазвичай пояснюється, здебільшого, посиленими фізико-хімічними властивостями НМ (наприклад, висока реакційна здатність, малі дози внесення). Однак, масове використання MeНЧ викликає велике занепокоєння, оскільки, потенційно вони можуть взаємодіяти з різними компонентами довкілля [3].

Графен - найбільш відомий приклад наноматеріалів, а саме вуглецевих трубок, він є добрим провідником, а також має чудові теплові та електричні властивості. Потрапляє у навколишнє середовище у результаті скидання матеріалів, що містять цей компонент у своєму складі - автомобільних елементів, датчиків, електродів і пластику. Даний наноматеріал може поводитися по-різному в навколишньому середовищі, часто він впливає на мікробну та біогеохімічну динаміку в ґрунтовій екосистемі [2].

Більшість металевих наночастинок (MeНЧ) були розроблені для косметичного сектору [2], у якості каталізаторів, котрі використовують у промислових процесах [2], медичній діагностиці [2], доставці ліків (йдеться про нанокапсули) [2] та біоремедіації забруднених ґрунтів і вод [2]. Повідомляється, що розроблені оксиди MeНЧ можуть існувати як у продуктах, так і окремих оксидах певних металів (ZnO , TiO_2 , CeO_2 , CrO_2 , MoO_3 і Bi_2O_3) так і бінарних оксидах металів ($BaTiO_3$, $LaCoO_2$, та $InSnO$) [2], та відповідно до їх складу, змінюється і їх вплив на ґрунтову екосистему та її компоненти. [2]

1.2 Вплив наноагрохімікатів на ґрунтові організми

Вивчення впливу НЧ на навколишнє середовище та його компоненти, наприклад, на ґрунти або ж на мул, стало справжнім викликом для вчених, тому що їх поведінка, міграція, можливі взаємодії і трансформації, можуть бути абсолютно протилежними в відносно їх об'ємних або розчинених аналогів. Крім того, надати їм кількісну оцінку в цих природних матрицях складно, головним чином, через технічні обмеження. Проте, деякі сучасні дослідження демонструють нам, що індуктивно зв'язана плазма з НМ, може бути виявлена методом мас-спектроскопії (spICP-MS), яка є потужним інструментом для визначення мідних або срібних НЧ, серед інших MeНЧ / MeОНЧ [3].

Загальне твердження, засноване на вивченні моделі екосистеми припускає, що ґрунт є найбільшим акумулятором для накопичення MeНЧ / MeОНЧ (8-28%), за ними йдуть водойми (0,4–7%) та атмосфера (0,2–1,5%) [2]. MeНЧ / MeОНЧ під час їх життєвого циклу, на різних етапах: виготовлення, утилізації, застосування в процесах біоремедіації можуть потрапляти в землю через їх вивільнення у довкілля. Коли НЧ потрапляють у ґрунт і беруть участь у процесах ґрунтової екосистеми – вона стає новим викликом для вчених при дослідженнях різного характеру. [3].

Першою проблемою, яку потрібно вирішити, є розрізнення MeНЧ / MeОНЧ від природних НЧ, а по-друге, характеристики властивостей обох MeНЧ / MeОНЧ (тобто тип металу, покриття, розмір, форма) та характеристик ґрунту (тобто рН, іонна сила, вміст органічної речовини та глини). Ці характеристики та

можлива взаємодія між НМ з ґрунтом, як компонентом екосистеми, може вплинути на фізико-хімічні процеси, що включають перетворення MeHЧ / MeOHЧ, що, в свою чергу, вплине на їх поведінку та реактивність, і, одночасно, їхній потенційний вплив на мікроорганізми. Тому дослідження поведінки та характеру впливу MeHЧ / MeOHЧ у ґрунтовій екосистемі, які проводяться з вивчення НМ, є вкрай важливими та актуальними. [3]

Досі вчені не до кінця розуміють яким чином та на яких рівнях НМ можуть існувати та чинити вплив на матрицю ґрунту, на різноманітні процеси, які проходять у ньому. З тих же причин важко інтерпретувати, пояснити та порівняти спостережувані відмінності в багатьох дослідженнях, котрі пов'язані з ґрунтом [4]. Кожен ґрунт та його відповідні мікробіологічні або фізико-хімічні характеристиками, є специфічним станом навколишнього середовища. Після потрапляння у ґрунтову екосистему MeHЧ / MeOHЧ можуть розкладатися або елімінуватися протягом тривалого періоду часу, залежно від певних характеристик ґрунту, а це може загрожувати корисним мікробним спільнотам та їх функціональному характеру, оскільки самі НМ не завжди є безпечними для довкілля. [3,4]

Деякі групи досліджень ґрунтуються на вивченні впливу НЧ на ґрунтові мікробні спільноти, використовуючи дослідження сукупності певних параметрів, наприклад, таких як видова структура, ферментативна активність чи дихання. Ефекти, котрі спостерігалися під час досліджень, різнилися в основному залежно від характеристики MeHЧ/MeOHЧ та типу ґрунту. Мало вивченим на сьогодні є вплив НЧ на екосистему ґрунту і їхню взаємодію з іншими ксенобіотиками (хімічними речовинами або іншими металами). А також, потребують детального вивчення процеси старіння та форми НМ, оскільки на сьогодні не багато відомо, а особливої уваги потребують теми, що стосуються біогенного або інженерного синтезу та створення MeHЧ/MeOHЧ та їх токсичності для екосистеми та її компонентів [3]. Важливим сьогодні є надання базової інформації про небезпечні наслідки для різних класів MeHЧ / MeOHЧ (срібла, золота, заліза, цинку, титану, міді, магнетиту, церію та алюмінію),

отриманих результатів з аналізів, проведених в мікробіоценозах ґрунту, що включають дослідження впливу на структуру мікробних спільнот, функціональність ґрунту та біогеохімічні процеси, опосередковані мікроорганізмами. Інформація, надана в цьому дослідженні, відображає знання отримані протягом останніх п'яти років (2013–2018), з яких можна зробити висновок про те, чи може “нано втручання” справді стати мегаризиком для стабільності мікробіальних спільнот та пов'язаних з ними біологічних процесів. [3]

Дослідження доводять: ґрунт є найбільшим акумулятором MeНЧ / MeОНЧ, і так само доведено, що ці НМ можуть бути у різних формах, потрапляючи в ґрунтову структуру. Це головним чином залежить від фізико-хімічних характеристик MeНЧ / MeОНЧ та ґрунтів [4-7]. Наприклад, проводилося дослідження про роль органічної речовини ґрунту та гумінової і фульвокислоти у зв'язуванні MeНЧ або ж їх здатність впливати на стабільність оксидів нанометалів, і результати вказують на те, що можна очікувати зміну мікробної популяції ґрунту. [8] Проте, Хадрі та ін. [8] у одному із своїх досліджень показали, що наявність природних органічних речовин є ключовим фактором їх зчеплення з ґрунтом, а концентрація або поверхневе покриття функціональних НЧ золота на них істотно не впливає. Подібним чином Мохадасі та ін. спостерігали, що зв'язування цинку з покриттям і без покриття оксидними НЧ (ZnO-НЧ) у різних ґрунтах залежали від вмісту органічної речовини, але в цьому випадку, ефект також залежав від концентрації ZnO-НЧ. В іншій роботі Рейт і Корнеліс [3] оцінювали вплив властивостей ґрунту на рухливість Au-НЧ та платинових НЧ (Pt-НЧ). Цікаво, що низький відсоток (1–20%) доданих НЧ, що були вилучені із водянистої фракції ґрунту, адсорбувався на органічній речовині (53–77%) та зв'язувалися з оксидами заліза чи мангану (до 42%). Автори дійшли висновку, що підвищений вміст глини, органічного вуглецю і оксидів заліза чи мангану зменшували мобільність Au-НЧ і Pt-НЧ, а підвищений вміст піскової фракції навпаки, сприяли їх мобільності. Слід зазначити, що наявність органічної речовини та гумінових речовин являє собою важливе джерело поживних речовин

для мікроорганізмів ґрунту. Отже, високі концентрації MeНЧ / MeОНЧ можуть викликати токсичну дію на ці мікроорганізми. Тим не менше, на поведінку різних MeНЧ / MeОНЧ у ґрунті, як показують дослідження, впливає не лише сама органічна речовина, але також різні сполуки та речовини, що знаходяться у ґрунтах: так як гумінова і фульвокислоти, котрі, як демонструють вчені у своїх дослідженнях, беруть активну участь у механізмах взаємодії титанових НЧ (TiO_2 -НЧ) [6]. З іншого боку, експерименти показують, що при оцінці протягом нанотоксикологічного дослідження слід враховувати рН ґрунту [6]. Ці ж автори, повідомляючи що наноцинк у ґрунті у якості як НЧ, так і сипучому вигляді показав сильну залежність від рівня рН для мікробних популяцій, так найбільші зміни відбулися між рН 4,8 і 5,9. На противагу у іншому дослідженні, Топуз та ін. [3] у своїй праці з вивчення наносрібла повідомили, що на біодоступність срібних НЧ (Ag-НЧ), головним чином, більше впливає вміст органічного вуглецю у ґрунті, ніж його рН. [3]

Ще один важливий аспект, який слід взяти до уваги – «старіння» MeНЧ / MeОНЧ у ґрунті. Під час однієї дослідної роботи Секіне та ін. [10] повідомляли: що мідні НЧ (Cu-НЧ) розчинялися у ґрунтах при різному рН за короткий проміжок часу (0–5 днів), і така ж поведінка відслідковувалася і з іонами міді, у вигляді розчиненої солі ($CuCl_2$) проте в кислих умовах ґрунту. Однак протягом дослідження, з'ясувалося, що розчинення міді, не залежно від її форми відбувалося повільніше, і переважно це відбувалося через зв'язування з FeO (FeOH) або з природною органічною речовиною. Крім того, ті ж автори повідомляли що в довгостроковій перспективі (135 днів) доля форми всієї міді, що знаходилася у досліджуваних зразках ґрунту, залежить від його властивостей: рН, вологості, складу, фракцій, кількості органічної речовини тощо, а також від характеристик самих НЧ: їх концентрації, типу, заряду чи розміру, наявності покриття. Однозначно, можна говорити про те, що дослідження токсичного впливу по поведінки MeНЧ / MeОНЧ у навколиньому середовищі, та безпосередньо у ґрунтах не встигають за темпами їх розробки, і дане питання потребує ще досліджень у даному напрямку. [3]

1.2.1. Вплив наночастинок срібла

Срібні НЧ (Ag-NP) набули популярності завдяки своїм антимікробним властивостям, що призвело до їх використання у багатьох споживчих товарах у всьому світі, таких як: одяг, засоби для чищення та фармацевтичні препарати [11]. З цієї причини доволі передбачувано, що кількість і концентрація Ag-НЧ, яка може потрапити у навколишнє середовище збільшуватиметься. [3]

Дулетт та ін. під час свого експерименту [12] методом метагеномного секвенування, досліджували вплив наночастинок срібла (розміром 44 нм), наночастинок сульфідованого срібла (Ag₂S-НЧ) – розміром -152 нм, та іонів срібла з AgNO₃ на ґрунтовий мікробіом. Автори відзначають, що під час вивчення токсичності, небезпечні концентрації обох варіантів з наночастинками для оперативних таксономічних одиниць (ОТО) проявили себе як менш токсичні у порівнянні з іонами срібла з його нітрату. Однак, серед трьох досліджуваних варіантів, НЧ Ag₂S були значно менш токсичними для ОТО порівняно з іншими формами срібла, майже на 80%. Проте у інших дослідженнях виявили значне зменшення вмісту дегідрогенази та уреазі в ґрунті, що зазнав впливу Ag-НЧ, розміром у 20 нм. Крім того, істотні зміни спостерігалися у складі бактеріального мікробіому, особливо показовими стали зразки з бактеріями типів *Acidobacteria* і *Verrucomicrobiota* у яких їх кількість зменшувалася, і зразки з типами протеобактерій, у котрих відмічалось збільшення їх популяції. [3]

Подібні результати спостерігаються і у дослідженнях ділянок ґрунту, де вносилися Ag-НЧ (20 нм) у концентрації 660 мг/кг, і це спричинило зміни бактеріальних сигнатурах ДНК, основні зміни проявилися у зменшенні кількості жирних кислот, а також вплинуло на різноманіття та рівномірність розподілу бактерій і на послідовність ДНК у мікроскопічних грибів, але при цьому, зниження показника мікробного дихання на 50% не спостерігалось. Крім того, азотфіксуючі бактерії *Rhizobiales* були вразливі до Ag-НЧ [3]. Автори зауважили важливість розміру частинок під час досліджень токсичності, оскільки Ag-НЧ показали значний вплив на мікробну спільноту порівняно з мікрочастинками срібла (3 лм (люмени)). Наявність Ag-НЧ (1–10 нм) у концентраціях 10 та 100

мг/кг у лісових ґрунтах спричинила зменшення мікробної біомаси в обох варіантах концентрацій. Більше того, автори повідомляють про збільшення фактору обміну речовин, що вказує на стрес через зміни, спричинені НЧ, у навколишньому середовищі, [3]. Біологічну активність у концентраціях між 0–50 мг/кг Ag-НЧ (40 нм) оцінювали на ґрунтах з різною текстурою та рівнем солоності [3]. Автори припускають, що біологічні ефекти спричинені НЧ залежали від типу ґрунту та дози срібла, оскільки, ґрунти з низьким вмістом глини були найбільш чутливими до Ag-НЧ, проте, ніяких ефектів не спостерігалось при концентрації < 20 мг/кг. [3]

Вплив Ag-НЧ (20 нм) на мікроорганізми ризосфери також є, і він істотний [13]. Цікаво, що популяції бактерій зазнають більшої шкоди, ніж культури мікроскопічних грибів. Більше того, часто спостерігаються зміни в ризосфері, і важливо, що вони різняться між собою залежно від стану самого ґрунту, а це репрезентує й доводить той факт, що ризосфера також може впливати на поведінку Ag-НЧ. Ефекти нативних Ag-НЧ, котрі мають оболонку з цитрату (9–10 нм) при застосуванні малих доз, близько 1 мг/кг, оцінюють за ростом рослин та різних параметрів ґрунтових популяцій мікроорганізмів [3].

Під час одного із досліджень культивовану пшеницю піддавали дії Ag-НЧ, у результаті було помічено, що склад ґрунтової мікробіоти характеризувався високою пропускнуою здатністю послідовності генів 16S рРНК. Результати, також, показали, що експозиція НМ не стримувала проростання та ріст насіння пшениці, а також зміненого вмісту амінокислот у насінні. Наявність Ag-НЧ впливало на структуру бактеріальних популяцій, особливо під час переходу пшениці від насіння до вегетативної стадії, що вплинуло на різноманітність та багатство ґрунту. [3]

В останніх роботах з дослідження наноконкомпозитів оксиду срібла з графеном в концентраціях між 0,1–1 мг/г було помічено, що ферментативна активність в ґрунті знижується до 80%, і подібне зниження (82%) спостерігалось і в процесі нітрифікації [3]. Хоча дослідження, розроблене Батістою та ін. [3] в основному було зосереджене на розкладанні підстилки редуцентами, автори

повідомляють, що ефект Ag-НЧ розмірами від 26 до 44 нм на мікробні спільноти залежав більше від температури, ніж від типу НМ: Ag-НЧ або AgNO₃. Негативні наслідки були відмічені при показниках температури у 10°C і 23°C. Цей факт підкреслює важливість врахування температури для наступних досліджень ефектів та впливу Ag-НЧ в ґрунтах. Нещодавно отримані дані з досліджень, вказують на те, що MeНЧ / MeОНЧ можуть впливати як на склад мікробної спільноти, так і на активність утворення ферментів у ґрунті. Однак вплив НМ залежить від типу НЧ, її форми, поведінки розчинення, а також концентрації та наявності оболонки. [3]

Серед оцінюваних MeНЧ / MeОНЧ, Ag-НЧ розміром у 50 нм, при внесенні 100 мг/кг ґрунту значно гальмує активність утворення ферментів у ґрунтах [14]. Вплив сферичних Ag-НЧ (розміром $20,4 \pm 3,2$ нм та дзета-потенціалом, рівним $23,0 \pm 1,0$ мВ) при застосуванні різних концентрацій (0,025, 0,25 та 2,5 мг/кг) для дослідження ризосферних мікробних спільнот та кукурудзи (*Zea mays L.*) були оцінені і порівняні з частинками нативного срібла. Результати показали, що 2,5 мг/кг Ag-НЧ суттєво знижують вміст розчинених органічних вуглеводнів у ризосфері, порівняно з нативним Ag. Встановлено, що НЧ акумулюються в тканинах рослин, збільшуючи антиоксидантну ферментну здатність. Таким чином з досліджень можна зробити висновок про те, що високі концентрації AgНЧ негативно впливають на родючість ґрунті і пригнічують ріст рослин [3].

Останнім часом з'явилися публікації дослідження впливу Ag-НЧ у розмірній фракції 7–14 нм на дощових черв'яків, які вважаються життєво важливим показником якісного стану ґрунтів та рослин томатів (*Lycopersicon esculentum*), ефекти їх оцінювали у експерименті, котрий тривав 72 тижні [3]. Ag-НЧ у концентраціях 25 і 50 мг/кг спричинив важкий окислювальний стрес у дощових черв'яків виду *Eisenia foetida*. Більше того, 50 ppm наночастинок срібла стимулювали зростання доступності поживних речовин у ґрунті, а також було відмічене розпад та перетворення срібла у форми Ag₂S та Ag₃PO₄, що суттєво впливає на доступність S та P у ґрунтах. [3]

Екологічно репрезентативними є найпростіші ґрунтові організми ізольованого штаму роду *Acanthamoeba* - *Acanthamoeba castellanii* АТСС 30234, які відібрані спеціально для оцінки гострої токсичності Ag-НЧ розміром 70 нм протягом 24 і 96 год при концентраціях від 20 до 600 мг/л [3]. Залежно від зменшення дози спостерігаються зміни метаболічної активності та здатності до розмноження даного штаму після впливу Ag-НЧ протягом 96 год. Автори порівняли токсичність Ag-НЧ з токсичністю іонів срібла AgNO_3 . Короткочасна експозиція Ag-НЧ для найпростіших організмів по відношенню до AgNO_3 , викликали сильну гостру токсичність, тоді як тривалий вплив призводив до подібних ефектів з обома варіантами частинок срібла - AgNO_3 та Ag-НЧ. Біогенно синтезовані Ag-НЧ (2–5 нм) виявили потужну антибактеріальну дію при захворюваннях рослин, при цьому вони не змінюють рідної мікрофлори ґрунтів, про що говорить проведене дослідження експериментальної моделі з *Alternaria brassicicola* та *Arabidopsis thaliana* [15]. Ag-НЧ, які були синтезовані з безклітинного екстракту, проявили себе як «ліки», при цьому активність та структура важливих ферментів ґрунту таких як кислотна та лужна фосфатаза, β -глюкозидаза, уреаза та дегідрогеназа не були порушені, Ag-НЧ також не змінили кількість мікроскопічних грибів, бактерій та актиноміцетів, котрі живуть у ґрунті. Слід зазначити, що вплив Ag-НЧ в ґрунтах на мікроорганізми та їхні популяції може проявляти різноманітні ефекти, котрі напряму залежать від типу НМ. Загалом, результати вказують, що саме зміна форми Ag-НЧ вплинула на мікробіом. Вчені припускають, що Ag-НЧ можуть змінити мікробну популяцію або її структуру, чи впливати на геном і специфічні ферменти. [3]

1.2.2. Вплив наночастинок золота

Золоті НЧ (Au-НЧ) використовуються у багатьох напрямках, наприклад, таких як медицина: у діагностиці та терапії, або при лікуванні раку. Часто, Au-НЧ, зустрічаються у пов'язаних нанокompозитах з графеном, і у такому варіанті вони можуть застосовуватися у різноманітних фотоелектродах чи датчиках, або ж у процесах фотокаталізу [3,16].

Тим не менше, досліджень щодо впливу Au-НЧ на ґрунтові мікроорганізми не так багато, а вже проведені експерименти свідчать про те, що такі НЧ є низькотоксичними. Наприклад, Асадішад та ін. [3] повідомили, що цитратне покриття (50 нм) і Au-НЧ, котрі знаходяться у полівінілпіролідонівій (PVP) оболонці, при застосуванні трьох варіантів концентрацій (0,1 мг/кг, 50 мг/кг і 100 мг/кг) та трьох розмірних частинок (5, 50 та 100 нм) проявили себе у якості екологічно безпечних та показали стимулюючі ефекти для п'яти позаклітинних елементів, які наявні у колообігу поживних речовин. Окрім цього, спостерігалось збільшення кількості актиноміцетів та протеобактерій у ґрунті, обробленому Au-НЧ з цитратним покриттям. Вплив Au-НЧ (16 та 33 мг/кг ґрунту, після 28 днів інкубації) оцінювали на мікробних спільнотах у садовій землі, яку аналізували на рівні фізіологічних профілів на рівні громади та переліку культивованих ґрунтових мікроорганізмів.. Результати продемонстрували, що біогенні Au-НЧ, навіть при застосуванні найвищої досліджуваної концентрації, не вплинули на ґрунтові процеси, тому ці наночастинки можна вважати не шкідливими. [3]

Оскільки також важливо вивчити катаболічні функції мікробних популяцій у ґрунтах під впливом НМ, Вебер та співавт. [36] оцінили вплив Au-НЧ на мікробіом ризосфери з коренів *Typha* за допомогою пластини BIOLOG ECO (Biolog), методом, котрий зазвичай використовується для оцінки здатності видової громади використовувати кілька видів вуглецевих кислот. Тут варто зазначити, що спостерігався тільки незначний інгібуючий ефект катаболічних можливостей при концентрації у 0,05 мг/мл на суглинистих ґрунтових породах. Автори експерименту припустили, що вплив Au-НЧ на катаболічні можливості мікробів громади – є мінімальним. Шукла та ін. [37] презентував дослідження оцінки ефекту Au-НЧ розміром 45 нм у культурі *in vitro* на ріст рослин та ризобактерій. Він показав, що Au-НЧ в дозі 6,25 мг/л спровокували стимулювання розвитку у *Paenibacillus elgii* на 63% та у *Pseudomonas fluorescens* на 57%, а також на 33% у *Bacillus subtilis*, у той же час, тенденції розвитку *Pseudomonas putida* не змінювалися. Відповідно, автори роблять висновок, що Au-НЧ можуть бути використані для розробки нанобіодобрих. Як видно з

літератури, протягом останніх років, Au-НЧ були одними з менш досліджених за впливом на ґрунтові мікробні спільноти. [3]

1.2.3. Наночастинки заліза та оксидів заліза

Залізо - один з найпоширеніших елементів у земній корі, а отже воно є поширене у багатьох біогеохімічних компонентах [17]. Нульовалентне залізо, оксид заліза та НЧ з магнетитом ($ZVFe$ -НЧ, FeO -НЧ та Fe_3O_4 -НЧ) в основному використовуються у якості ефективних засобів для усунення забруднення ґрунту за рахунок відновних трансформацій та елімінування багатьох забруднень [3, 18]. Кристалічна структура заліза, так само як і розміри НЧ, їх розчинність чи заряд, а також наявність органічних молекул поряд з ним, однозначно можуть впливати на реактивність НЧ і, отже, на їх токсичність [17]. Крім того, цитотоксична дія НЧ на основі заліза на бактерії пов'язана з окислювальним стресом через утворення АФК. Такі ефекти можуть призвести до взаємодії кисню з відновленим залізом, або порушити іонно - транспортний ланцюг, за рахунок спорідненості клітинних мембран та НЧ. [3]

Шах та ін. [3] у своєму експерименті довели, що згідно результатів, які отримані під час піросеквенування, наночастинки $ZVFe$ в ґрунті (діапазон розмірів 2–58 нм при 550 мг/кг) не спричиняють значних змін в бактеріальних спільнотах. Крім того, у даному варіанті дослідження, створюваний вплив на ґрунтову мікробіоту можна віднести за рахунок результату дії екологічних параметрів, ніж за рахунок наявності НЧ. Квазісферичні FeO -НЧ ($10,0 \pm 2,5$ нм) при концентраціях в 1 мг/кг та 10 мг/кг ґрунту говорять про те, що на противагу Ag -НЧ, оксид заліза створює позитивний вплив на цикли N і C, про що свідчить посилений мікробний метаболізм, а також потенціал нітрифікації та її активність [3]. Як обговорювалося авторами, таке явище можна пояснити роллю заліза, як важливого мікроелемента, котрий бере участь у мікробному метаболізмі та біохімічних реакціях, наприклад, таких як синтез нітратів, фіксація азоту або синтез ДНК. [3]

Концентрації у 1000 або 2000 мг/кг ZVFe-НЧ, оцінювалися за впливом на ґрунт, і результати показали, що при концентрації у 1000 мг/кг не спричинили негативного впливу на мікробні популяції, проте така концентрація є цілком не токсична для росту коренів рослин (рослини не є цільовим об'єктом для НЧ нульововалентного заліза, а отже НМ впливає на кореневу систему не напряму) [19]. При застосуванні концентрації 2000 мг/кг, мікробна біомаса, кількість вуглецю, та мінералізованого азоту була значно зменшена після 180 днів інкубації [20]. Fe₃O₄-НЧ широко використовується в медичних препаратах, в основному завдяки їх характеристикам біосумісності [40]. Тим не менше, деякі дослідження повідомляють про їх вплив на ґрунтове середовище: Антісарі та ін. [3] оцінили вплив Fe₃O₄-НЧ на мікробну біомасу. Результати показали збільшення співвідношення C / N з 8 у контролі до 17 при найнижчій кількості оцінюваних Fe₃O₄-НЧ (10 мг/кг) у перший тиждень та за метаболічним коефіцієнтом через 60 днів, що демонструє мікробний стрес і зміни, спричинені співвідношенням також і бактеріальної та грибової біомаси. До того ж, було засвідчено що залізо поглиналося ґрунтовими мікроорганізмами з розчинених НЧ, в той час як Fe₃O₄-НЧ мав низьку розчинність, на це вказує дослідження клітинних лізосом, з використанням методу із застосуванням хлороформу (CHCl₃). Більше того, повідомляється, що ефекти Fe₃O₄-НЧ можуть змінюватися залежно від типу ґрунту. [3]

Френк та ін. [21] спостерігав токсичний ефект від Fe₃O₄-НЧ на мікробних спільнотах у піщаному суглинковому ґрунті порівняно з піщано-глинистим ґрунтом, через зміни у бактеріальному складі та гідролітичній активності, і навпаки, в піщано-глинистому ґрунті негативних ефектів не спостерігалось. Цао та ін. [3] досліджував вплив квазісферичних Fe₃O₄-НЧ (розмірним діапазоном 10,2 ± 2,6 нм), синтезованих шляхом техніки спільного осадження на арбускулярній мікоризі (АМ) спільнот екосистеми: «гриби – рослина». Використовуючи експеримент з пророщуванням у тепличних горщиках кукурудзи *Zea Mays L.*, було відмічено зростання АМ спільноти грибів з внесенням концентрацій 0,1 мг/кг, 1,0 мг/кг та 10,0 мг/кг Fe₃O₄-НЧ, і порівняно з

об'ємним Fe_3O_4 . Автори відзначають, що найвища перевірена концентрація Fe_3O_4 -НЧ була токсичною для АМ-грибів, негативно впливала на їх різноманітність, їхню видову структуру, в порівнянні з об'ємними частинками Fe_3O_4 . [3]

Отже, тверді частинки Fe_3O_4 можуть погіршити доступність поживних речовин для грибів АМ кукурудзи, і погіршують родючість ґрунту. [3]

1.2.4. Наночастинки міді та оксидів міді

НЧ міді та оксиду міді (Cu -НЧ та CuO -НЧ, відповідно) викликають цікавість завдяки своїм корисним характеристикам, такі як висока тепло- та електропровідність, застосування їх у якості каталізатору та низька вартість [43–44], завдяки чому вони були включені до багатьох споживчих товарів. [3]

Френк та співавт. [3] намагалися оцінити шкідливий вплив різних концентрацій CuO -НЧ на активність бактеріальних популяцій двох типів ґрунтів. У результаті експерименту, вони дійшли висновку, що у ґрунті піщано-суглинкового (SL) типу мікробіом постраждав більше, ніж мікробіом піщаного глинисто-суглинкового (SCL) типу ґрунту, оскільки вплив на активність бактерій, структуру їх популяції та видовий склад, тому що окислювальний потенціал НЧ CuO був сильнішим. Навіть за умови, що піщаний глинисто-суглинковий ґрунт зазнав меншого впливу, все ж таки, його окислювальний потенціал суттєво зменшився, а також змінилося видова структура. Кількість бактерій класу бацил була зниженою після внесення CuO -НЧ експозицією 0,1% і 1% для ґрунтів SL та SCL відповідно. *Rhizobiales* та *Sphingobacteriaceae* також зазнали негативного впливу. Автори звернули увагу, що, ймовірно, вміст глини і органічних речовин, взаємодіючи з CuO -НЧ могли б зменшити токсичний вплив CuO -НЧ на ґрунтові мікроорганізми, що перебувають у симбіозі з рослинами солончаків (*Pragmites australis* та *Halimione portulacoides*) [3]. CuO -НЧ та іони Cu суттєво змінюють мікробну спільноту, та можуть спричинити порушення функцій екосистеми. [3]

Вплив на мікроорганізми нативних наночастинок оксиду міді розміром 40 нм при різних концентраціях від 0, 100, 500, і 1000 мг/кг в затопленому рисовому ґрунті було оцінено та порівняно з TiO_2 -НЧ розміром 20 нм [3]. Наночастинки оксиду міді демонстрували більший негативний вплив на ґрунт і мікробні популяції в порівнянні з НЧ оксиду титану, за їх рахунок було відмічено зменшення мікробної біомаси ґрунту та ферментативної активності (фосфатази, уреазі та дегідрогенази). Крім того, завдяки чудовій здатності до розчинення CuO -НЧ впливає на ґрунтові мікробні популяції, погіршуючи біодоступність поживних речовин та підвищення окисного стресу. Вплив CuO -НЧ на бактеріальну ґрунтову спільноту порівнювали також і з Fe_3O_4 -НЧ (розміри яких були до 50 нм) [3]. Результати говорять про високу токсичність CuO -НЧ для ґрунтових бактеріальних спільнот, за оцінкою денатурації білків методом градієнтного гелю-електрофорезу. [3]

Шах та ін. [14] повідомили, що високий вміст органічного вуглецю в ґрунті може збільшити час утримання Cu -НЧ та іонів міді, а отже, негативний вплив на мікробні спільноти, за рахунок цього, подовжиться. Більше того, ті ж автори повідомили, що рН ґрунту також сильно впливає на долю Cu -НЧ в ґрунті а отже, і на мікробні спільноти. Вони вказали, що Cu -НЧ (10–100 нм) у кислому ґрунті спричиняють зміни в структурі білків бактерій. Виходячи з усього вищеперерахованого, можна сказати, що лужне, нейтральне або кисле рН слід враховувати при дослідженнях з поведінки і впливу НЧ у ґрунті. Більше того, в умовах відкритого навколишнього середовища, ґрунт ризосфери має сильніший вплив на розчинення та токсичність Cu -НЧ в порівнянні з сипучим ґрунтом [25], і тому можна очікувати різний характер впливу на ґрунтові популяції. [3]

В іншому дослідженні [3] оцінювали вплив форми та розміри MeNCH / MeONCH , а також їх розчинний потенціал та метаболічний потенціал ґрунтових бактерій. Результати свідчать, що хоча розміри НМ мають важливе значення щодо своїх антимікробних властивостей, слід враховувати їх форму. Сферичні НЧ міді (500 нм) були більш токсичними для ґрунтових мікробних спільнот, ніж

паличкоподібні Cu-НЧ (78 нм), це продиктовано їх морфологією та здатністю до розчинення (виділення іонів). [3]

1.2.5. Наночастинки оксиду церію та алюмінію

НЧ церію (CeO_2 -НЧ) та оксиду алюмінію (Al_2O_3 -НЧ) мають кілька застосувань. Наприклад, CeO_2 -НЧ активно використовуються для біосенсингу та медичних програм [26] та у якості антибактеріального засібу [27]. Al_2O_3 -НЧ застосовують як додоток до сумішей біодизелю та дизелю для посилення реологічних та фільтраційних властивостей рідин або як повідомляють Дж. Парада та ін. як протимікробні засоби [28]. Їх токсичний вплив на довкілля оцінювали переважно на рослинах, водних організмах, наземних безхребетних або окремих штаммах бактерій [29-30].

Наприклад, Молл та ін. [31] оцінили вплив CeO_2 -НЧ розміром 50 нм при концентрації 400 мг/кг на симбіотичні мікроорганізми ґрунту з покривом червоної конюшини (*Trifolium pratense*). Автори повідомили про незначний вплив на кореневі бактерії *Rhizobium*. [3]

Лі та ін. [3] оцінювали, чи нативний CeO_2 -НЧ (25 нм) може впливати на родючість та якість ґрунту, а саме чи не модифікує він ферментативну активність ґрунту. Дослідження проводилось у системі «ґрунт-рослина», і автори вимірювали питому ферментативну активність трьох ферментів ґрунту (β-глюкозидази, фосфатази, і уреазі). CeO_2 -НЧ вносили в окремі горщики з органічною твердою червоною пшеницею (*Triticum aestivum*) в концентраціях 0, 100, 500, і 1000 мг/кг. Наночастинки CeO_2 у концентраціях 100 і 1000 мг/кг пригнічували активність ферментації β-глюкозидази та уреазі, проте стимулювали активність фосфатази. Крім того, автори повідомили, що з часом НЧ оксиду церію поступово зменшують свій токсичний вплив на ферменти ґрунту. [3]

Негативний вплив Al_2O_3 -НЧ на мікробіологічну спільноту якщо і є, то він не суттєвий, навіть коли застосовуються Al_2O_3 -НЧ (50 нм) у високих концентраціях (5000 мг/кг) [3]. Подібні результати були продемонстровані МакГі та ін. [3] у своїй праці, де Al_2O_3 -НЧ розмірами 20–30 нм при концентрації

50 мг/кг не викликали значних змін в структурі мікробних популяцій або в активності утворення ферментів. У цьому експерименті вплив Al_2O_3 -НЧ на грибні та бактеріальні спільноти, ґрунтів зайнятих під сільськогосподарськими та пасовищними ділянками оцінювали за допомогою електрофорезу білків і ферментного аналізу, і порівняно з впливом Ag-НЧ. Al_2O_3 -НЧ (50 мг/кг) не мали негативних наслідків на мікробні спільноти (як бактеріальні, так і грибові). [3]

1.2.6. Наночастинки цинку, оксид цинку та оксиду титану

Протягом останніх років наночастинки цинку, оксиду цинку та оксиду титану (Zn -НЧ, ZnO -НЧ та TiO_2 -НЧ, відповідно) широко використовуються в косметиці, наприклад як одна зі складових сонцезахисних кремів, а також активно застосовуються у виробництві пластику та фарб. Більше того, ці НЧ використовують з метою ліквідації забруднення ґрунтів і вод. [3]

Шень та ін. [3] оцінили у своєму експерименті, екотоксикологічні параметри в різних ґрунтах, котрі піддавали дії різних концентрацій ZnO -НЧ (10–300 нм) від 1000 до 10000 мг/кг ґрунту за впливом на активність гідролізу та дегідрогенази діацетату флуоресцеїну та амоніфікацію. Показник амоніфікації за наявності ZnO -НЧ був істотно знижений при концентрації 1000 мг/кг, а також негативного впливу зазнали усі досліджувані ферменти і параметри дихання. Проте при цьому токсичність ZnO -НЧ суттєво корелювала з рН: більшого негативного впливу зазнавали ґрунти з кислим або нейтральним рН, але менший вплив був відмічений на лужних ґрунтах. На думку авторів, це пояснюється впливом рН на іонне розчинення ZnO -НЧ. [3]

Ефекти нативних ZnO -НЧ розмірами $58,40 \pm 30,13$ нм при 1000 мг/кг оцінювали за впливом на ґрунтові мікроорганізми та їх функції з використанням пророщування фінікової пальми (*Phoenix dactylifera*) [3]. Відмічено, що за внесення ZnO -НЧ у ґрунт порівняно з контролем, у підстилці було зафіксовано зменшення утворення колоній грибів та бактерій. При введенні НМ у ґрунт, що передбачає поглинання та накопичення НЧ ZnO , з дослідження мікробної біомаси Zn було виявлено у клітинному цитозолі мікроорганізмів. Загалом Дж.

Парада та ін. вказали, що ZnO-НЧ були токсичними для ґрунтового мікробіому, це пояснюється тим, що вони впливають на мінералізацію вуглецю та азоту. Подібні результати були отримані Хай та його співавт. [3] у аналогічному дослідженні, де після додавання ZnO-НЧ у тих же концентраціях, відмітили зниження кількості *Azotobacter*, Р-солубілізуючих та К-солубілізуючих бактерій, а також зниження активності ферментів у ґрунті. [3]

В інших дослідженнях, зафіксували, що після внесення підвищених концентрацій ZnO-НЧ, життєздатність клітин *P. aeruginosa*, *P. fluorescens* та *B. amy loliquefaciens* значно зменшилась, а також знизилася вироблення β -індолоцтової кислоти. На противагу цьому, Сіндхура та ін. [33] повідомили, що додавання Zn-НЧ спричиняє зміну ферментативної або мікробіальної активності в ґрунті. Більше того, зростання біологічної активності та фізіологічних параметрів рослин не спостерігалось. Нещодавно у дослідженні було оцінено ефекти на зростання *Lactuca sativa L.* нативних ZnO-НЧ (90 нм) та об'ємного ZnO при різних концентраціях (0, 1, 10, 100 мг/кг), та їх вплив на ризосферну ґрунтову бактеріальну спільноту. Автори повідомляють [3], що і НЧ і об'ємні частинки, при концентрації у 10 мг/кг, модифікує структуру ґрунтового мікробіому. Крім того, деякі роди ціанобактерій проявили подібну реакцію на об'ємні ZnO та ZnO-НЧ, що демонструється їх систематичним розподілом. [3]

При вивченні довгострокових наслідків (56 днів) за впливом на активність ґрунтових екзоферментів, а саме: флуоресцеїн діацетату (FDA) гідролази, уреаз, арилсульфатази, β -глюкозидази, дегідрогенази та кислої фосфатази використовували нативні ZnO-НЧ розмірами <50 нм, у концентраціях 50 і 500 мг/кг [34]. За винятком FDA гідролазної активності, значні ефекти (збільшення або зниження ферментативної активності) спостерігалися при вивченні решти ферментів. Основні висновки полягали в тому, що НЧ ZnO при 50 та 500 мг/кг можуть негативно впливати на ґрунтові ферменти, головним чином на уреазу та кислоту фосфатазу, які можуть вплинути на цикли фосфору та азоту в ґрунті. Це пояснюється тим, що цинк може взаємодіяти з сульфгідрильними частинами в

активних центрах ферментів, наприклад, таких як уреаза, і зменшити її каталітичну активність. [3]

Згідно з методом Phytotoxkit FTM було вивчено вплив нативних ZnO-НЧ (50 нм) та TiO₂-НЧ (100 нм) у різних ґрунтах [3]. Результати вказують, що обидва варіанти досліджуваних НМ впливали на ріст коріння *Lepidium sativum*, проте ніякого впливу на схожість насіння (проростання), при цьому не було відмічено. При дослідженні токсичності було встановлено сталу температуру та освітлення, у якості дослідження і абіотичного впливу на НМ. Відмічено, що TiO₂-НЧ є менш токсичними в порівнянні з НЧ ZnO. Крім того, було зафіксовано зниження токсичної дії НЧ при підвищеній температурі, у той час, як посилення токсичних ефектів спостерігались за зміни світлових умов. Автори припустили, що підвищена температура і тривалий час контакту НЧ з ґрунтом (старіння) можуть посилити взаємодію НЧ з компонентами ґрунту та зменшити негативний вплив НЧ на насіння рослини, внаслідок утворення комплексів між Zn та органічною речовиною ґрунту. Вони дійшли висновку, що вплив НЧ на рослини обумовлений кількома абіотичними чинниками, що контролюють систему «НЧ-ґрунт-рослина». [3]

Зміни в ґрунтовому мікробіомі, також спостерігалися після додавання TiO₂-НЧ. Молл та співавт. [3] повідомили, що зміни, спричинені TiO₂-НЧ (розмірами 29 і 92 нм) були відмічені у бактеріальних спільнотах, але не в популяціях мікроскопічних грибів. Це вказує на те, що реакція мікробних спільнот на TiO₂-НЧ може регулюватися розміром НМ. [3]

Симонін та ін. [35] досліджували ефекти TiO₂-НЧ (21 нм) при 1 та 500 мг/кг в ґрунті. Автори повідомили, що навіть найнижча концентрація TiO₂-НЧ мала токсичний вплив на нітрифікаційну здатність та кількість аміачно-окислювальні мікроорганізмів через 90 днів контакту з НМ. Дане дослідження, проведене у лабораторних умовах мало на меті вивчити ефекти TiO₂-НЧ, що вносять або одноразово (50 мг/л), або багаторазово (двічі по 25 мг/л або тричі по 16,5 мг/л) на чисельність та активність ґрунтових мікробних спільнот через два місяці інкубації. Результати продемонстрували, що при повторному додаванні

НЧ, токсичний ефект був більшим для ґрунтових мікроорганізмів [3]. Експозиція ґрунту, нелегованого або легованого азотом, в концентраціях TiO_2 -НЧ (40–60 нм) менше 200 мг/кг не викликали змін у мікробного складу ризосфери кукурудзи або сої. Також не спостерігалось у ґрунті, ніякого впливу на арбускулярні мікоризні гриби або біологічне закріплення азоту ризобіями при внесенні TiO_2 -НЧ (29 нм) при концентраціях від 100 до 1000 мг/кг. [3] Більш чутливі мікроорганізми, наприклад такі як нітрифікуючі бактерії або археї зазнали впливу TiO_2 -НЧ у ґрунті. Однак, неklasичну реакцію на дозу НЧ виявив Симонін та ін. [3]. Автори оцінювали концентрації НМ у 0,05 і 500 мг/кг і повідомили, що чисельність архей зменшилася на 40% при дослідженні обох варіантів концентрацій. Більше того, було відмічено ураження *Nitrospira* та *Nitrobacter* (нітрифікація знизилася на 25%) при 0,05 мг/кг, і найвищих концентраціях (100 і 500 мг/кг). Щодо впливу властивостей ґрунту на негативний вплив НМ, то було відмічено, що токсичність TiO_2 -НЧ більше пов'язана з рН ґрунту та вмісту органічної речовини більше, ніж з самою структурою ґрунту [3]. Хуанг та співавт. [3] повідомили, що TiO_2 -НЧ діапазоном розмірів від 8 до 25 нм у присутності металаксилу незалежно від його концентрації, не спричиняють суттєвих змін у біомасі чи мікробіомі ґрунту. [3]

1.3 Наноекотоксикологія – новий напрям оцінки небезпечності наноматеріалів та наночастинок

Нанотехнології - це фактично нове середовище розвитку технологій, проте вона застосовується як один з варіантів для вирішення проблем забруднення - наноремедіація [38]. Останнім часом нанотехнології застосовуються, для захисту навколишнього середовища, оскільки санація отримала значну увагу з боку наукового співтовариства [39], незважаючи на те що, нанотехнології є напрямком що активно розвивається. [3]

У 1996 році Гіллхем був першим дослідником, який представив ідею використання нульововалентного заліза при знезараженні с галогенованих забруднювачів, через їх проникну реактивність, виходячи з досвіду застосування

наноматеріалів [3]. Деякі автори використовують штучно синтезовані наночастинки нульовалентного заліза з використанням хімічного синтезу, тоді як інші отримують його з різних екстрактів зеленого листя. У багатьох випадках використання НЧ, було ефективним для руйнування забруднень, таких як органічних галогенованих вуглеводнів [3], нітратів, важких металів [40-41], інсектицидів та барвників [42]. Існує дуже мало досліджень, які вивчають технології з використанням наночастинок для елімінації забруднень у ґрунті, дослідження в цій галузі були зосередженні більше для знезараження та очищення вод [3]. Наночастинки мають здатність адсорбувати та сприяти деградації забруднюючих речовин за допомогою різних механізмів, таких як окисно-відновні реакції, поверхневі процеси, адсорбція, іонообмін, комплексоутворення та електростатична взаємодія [3].

Ши та ін. [3] випробував наночастинки нульовалентного заліза (nZVI), і наночастинки заліза нульової валентності на матриці бентоніту (B-nZVI), при видаленні Cr (VI) у воді і ґрунтовому розчині, забруднених цим металом. В результаті вони виявили, що наночастинки nZVI проявили себе більш ефективними при виведенні бентоніту (B-nZVI), завдяки зменшенню агрегації та збільшенні питомої площі поверхні; крім того, вони отримали високий рівень елімінації Cr (VI), який збільшується прямо пропорційно температурі, але при цьому, кількість B-nZVI зменшувалась із збільшенням рН [3]. Згідно даного експерименту, можна сказати, що B-nZVI активно проявив себе у якості сорбенту шестивалентного хрому, за рахунок своїх фізико-хімічних властивостей, так само, як і для видалення інших забруднювачів, таких як хлоровані органічні сполуки, пестициди, феноли, аміни та органічні кислоти [3]. Даний приклад доводить важливість та актуальність подібних досліджень. [3]

Платформа нанотехнологій – це різноманітні можливості застосування наночастинок у різних секторах. Так звані інженерні наночастинки (ІНЧ) є мільярдною частиною більшого структурного матеріалу, а їх розмір надає їм унікальних властивостей. Більшість ІНЧ – це частинки металів, наприклад, срібло, їх оксиди, такі як алюміній, залізо, діоксид кремнію, титан і цинк, а також

вуглецеві нанотрубки і пил. Вони використовуються в різних промислових продуктах, таких як косметика, провідники, фарби, наповнювачі, мікроелектроніка та «носії» ліків. Такий наномасштабний матеріал завдяки своїм фізико-хімічним властивостям приносить небезпеки та ризики, які не легко побачити людськими очима, вони визначаються не завжди звичайними методами. Такий недолік їх властивостей перетворює їх на першочергову мету у дослідженнях щодо їх звичайного використання, багаторазового впливу при контакті та потрапляння їх в екосистему через промислові чи муніципальні стічні води. [36]

Близько 800 споживчих товарів на ринку включають у свої рецептури ІНЧ через їх особливі властивості. Наноматеріали можуть потрапляти в навколишнє середовище не тільки внаслідок виробництва або процесів застосування, а також шляхом утилізації виробничих відходів, комунальних відходів та вивітрювання продуктів, старіння наноматеріалів. Потрапивши в навколишнє середовище, НМ, як правило, мають цито- та генотоксичну дію. [36] Ці особливості пов'язані обумовленими змінами, спричиненими підвищеною реакційною здатністю, зміни фізико-хімічних та структурних властивостей НП створюють більш високі ризики для здоров'я людей та навколишнього середовища [36].

Необхідно розробити надзвичайно чутливі і специфічні методи вимірювання ІНЧ у навколишньому середовищі для отримання точних результатів для оцінки ризиків НМ. Оцінка ризику з точки зору характеристики небезпеки вимагає визначення токсичності і реакції на концентрацію для критично важливих органів, разом із розподілом цих матеріалів всередині тіла [4]. Найважливішим кроком для точної оцінки ризику є розуміння факторів впливу на взаємодію між різними типами ІНЧ та біомолекулами під час впливу на тварин, людей, рослини, мікробну популяцію та водні системи. ІНЧ, обмежені біологічними білковими рідинами, ініціюватимуть «нано-біо» взаємодію всередині тіла, органів або всередині клітин з постійними динамічними змінами [36].

Підсумовуючи, ми критично обговорили долю, поведінку та токсичність різних класів наноматеріалів в навколишньому середовищі. Хоча кілька дослідницьких груп виявили токсичні ефекти наноматеріалів, проте причини їх токсичності здебільшого невідомі. Досі, нажаль, ще є величезні прогалини у вивченні про природу взаємодії наночастинок із екологічною системою. [36]

Потрібно набагато більше досліджень, щоб оцінити стабільність наноматриць у різноманітних тестах систем для повного визначення потенціалу впливу нанорозмірних компонентів комерційної продукції. Що важливо, потрібно розробляти аналітичні методи, які дозволять моніторинг *in situ* в режимі реального часу для оптимізації виробничих процесів, таким чином мінімізуючи відходи та енергетичні витрати, а також надання технологічної інформації. Незважаючи на описані дослідження в рамках цього огляду все ще існують значні наукові проблеми в цій галузі, які залишаються для вирішення у майбутньому. [37]

Деякі приклади, наведені в цьому огляді, використовують поверхнево-активні речовини в залежності від форми наноматеріалів. Поверхнево-активні речовини часто токсичні, і тому їх потрібно замінити. Нові біоміметичні підходи, в яких молекули будуть використовуватися для контролю змін НЧ та їх властивостей, що може надати перспективні альтернативи в плані отримання похідних наночастинок. Для розробки цих методів необхідні подальші дослідження. Є й обнадійливі результати, які свідчать про те, що екологічна система нанонаук може керувати дизайном, виробництвом та застосуванням екологічно безпечних наноматеріалів у різних композиціях, розмірах, формах та функціональності. Подальший розвиток та застосування цієї основи забезпечить можливість проведення дослідницьких робіт найближчому майбутньому. [37]

Для оцінки безпеки складних багатокомпонентних та багатофункціональних наноматеріалів, вченим потрібно буде розробити перевірені моделі, здатні передбачити надходження, міграцію, перетворення, акумуляцію інженерних наноматеріалів у навколишньому середовищі.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

2.1 Характеристика матеріалів

Мікроелементний 20-ти компонентний препарат основним призначенням, який є покращенням процесу живлення, підвищенням стресостійкості та продуктивності рослин. [43]

Препарат створений на основі діючих речовин нового покоління, активні елементи якого знаходяться в органічних сполуках з харчовими кислотами та ідентичними натуральними компонентами живої природи. [43]

Препарат сприяє підвищенню засвоєння рослинами азоту та фосфору з органомінеральних добрив. Підвищує активність ключових ферментів, відповідальних за процеси фотосинтезу, біосинтезу білків, вуглеводів, ліпідів, а також ферментів захисної та антиоксидантної системи рослин. Вирощуване із застосуванням препарату зерно, збагачується за рахунок ґрунтових мінералів не тільки фосфором, але і цинком, міддю, марганцем, залізом, кремнієм, сіркою, селеном та ін. Це значно підвищує біологічну цінність і покращує технологічні якості вирощуваного зерна. [43]

Нанопрепарат «Аватар 2 Органік» (Аватар), до складу якого входять: нанокарбоксилати калію (0,001-0,1%), магнію (0,02-0,2%), бору (0,0001-0,035%), цинку (0,01-0,1%), заліза (0,001-0,1%), міді (0,001-0,1%), марганцю (0,001-0,05%), молібдену (0,001-0,01%), кобальту (0,0001-0,01%), ванадію (0,000001-0,005%), нікелю (0,00001-0,005%), титану (0,000001 -0,002%), лантану (0,00001-0,005%), селену (0,000001-0,001%), германію (0,000001 – 0,001%), сірки (0,001-0,1%), йоду (0,000001-0,01%), кремнію (0,0001-0,01%), срібла (0,000001-0,001%) та церію (0,0001-0,05%), і вода очищена. [43-44]

Попередня обробка насіння та позакореневе підживлення рослин мікроелементного комплексу «АВАТАР - 2» сприяє отриманню наступних результатів:

- підвищення енергії зростання і всхожести семян основних культур;

- розвиток більш розветвленої та фізіологічно активної корневої системи, активізації в зоні її діяльності аграрно-полезних ґрунтових мікроорганізмів, зокрема фосформобілізуєчих та азотфіксуєчих бактерій;
- підвищення загальної стійкості до негативних почвенно-кліматичних і антропогенних факторів;
- підвищення коефіцієнта використання рослинами макроелементів (азота, фосфор, калій і сери), які знаходяться в ґрунті або переносяться у вигляді мінеральних добрив;
- підвищення продуктивності фотосинтезу, за рахунок збільшення асиміляційної поверхні та кількості хлорофілу;
- покращення якості рослинницької продукції (пoviщення класності зерна пшениці з 3-го до 2-го та 1-го класу, збільшення до 10,0% вмісту клейковини, на 1,0-4,0% білка в зерні пшениці, сирого білка в зерні сої на 2 - 6%, на 20-35% масла в зерні масличної культури, на 1,0 - 1,8% сахаристості цукрової свічки, збільшення кількості сухих речовин, біогенних мікроелементів і вітамінів);
- підвищення урожайності на 15-45% в залежності від культури та агротехніки вирощування. [43]

2.1.2 Біопрепарати

Мікробіологічний препарат «Граундфікс» - біодобриво ґрунтове для мобілізації фосфору та калію з нерозчинних сполук, фіксації азоту та підвищення ефективності використання мінеральних добрив. Препарат містить клітини бактерій штамів *Bacillus subtilis*, *Enterobacter* sp., *Bacillus megaterium* var *phosphaticum*, *Enterococcus* sp, *Paenibacillus polymyxa*, *Azotobacter* sp. загальне число життєздатних клітин $(0,5 - 1,5) \times 10^9$ КУО/см³;

інша корисна мікрофлора (молочно-кислі бактерії, продуценти ферментів) та вітаміни, фітогормони, амінокислоти та інші фізіологічно-активні речовини. [45]

Ефект від використання:

- підвищує доступність і рухомість в ґрунті фосфору і обмінного калію, а також збільшує кількість різних форм азоту в ґрунті;
- підвищує коефіцієнт використання поживних елементів з добрив у 1,2-1,5 рази;
- сприяє вільному надходженню в рослини кремнію;
- поліпшує агрохімічні показники ґрунту;
- збільшує біологічну активність ґрунту, оздоровлює ґрунт та запобігає його деградації;
- підвищує стресостійкість рослин;
- збільшує продуктивність сільськогосподарських культур;
- ефективність препарату не знижується при внесенні з чистим КАС;
- має позитивну післядію. [45]

Мікробіологічний препарат «Екостерн» - деструктор стерні. Препарат складається бактерії роду *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Azotobacter*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Agrobacterium* та гриби роду *Trichoderma*. Загальне число життєздатних ефективних мікроорганізмів не менше ніж $3,5 \times 10^9$ КУО/см³. [46]

Біологічна дія препарату:

- ефективно розкладає рослинні рештки;
- підвищує біологічну активність ґрунту;
- оздоровлює ґрунт та запобігає його деградації;
- збільшує продуктивність сільськогосподарських культур. [46]

Дослідження проводили за наступними варіантами: 1 - біопрепарат Граундфікс, 2 - біопрепарат Екостерн, 3 - нанопрепарат Аватар 2 Органік, 4 - суміш біопрепарату Екостерну + нанопрепарату Аватар 2 Органік, 5 - суміш біопрепарату Граундфікс + нанопрепарату Аватар 2 Органік, 6 - контроль (вода).

Концентрації розчинів готували відповідно до рекомендованих норм витрат: Екостерн - 1,0 л/га, Граундфікс - 5,0 л/га, Аватар 2 Органік - 150 мл/га. Препарати вносили у горщики з ґрунтом з розрахунку 157 мкл робочого розчину на 1 горщик об'ємом 300 мл. У ґрунт висівали насіння сої сорту «Кент». У фазу сходів рослин досліджували мікробіом ґрунту методом послідовних розведень.

Згідно методики, 10 г ґрунту поміщали в колбу, яка містила 90 мл стерильної водопровідної води і збовтували протягом 5 хв. Із колби 1 мл ґрунтової суспензії переносили у пробірку, яка містила 9 мл стерильної води, із цієї пробірки 1 мл суспензії переносили в наступну з 9 мл води. Таким чином робили серію послідовних розведень. Суспензії розведень 10^3 , 10^4 та 10^5 висівали на живильні середовища [47].

2.2 Визначення чутливості бактерій до нанопрепарату методом лунок

Метод дифузії на агаризованому середовищі зазвичай використовується для визначення протимікробної дії у твердих середовищах. Він передбачає нанесення розчинів антибіотиків різної концентрації на чашки, лунки або паперові диски, розміщені на поверхні або пробиті в агарі, засіяні досліджуваним штамом бактерій. [48]

Даний метод широко застосовується при вивченні та оцінці антимікробних властивостей різних препаратів. Дифузійний метод лунок використовується для визначення чутливості заснований на дифузії антибактеріального препарату (АБП) з носія в щільне живильне середовище та пригнічення зростання досліджуваної культури в зоні, де концентрація АБП перевищує мінімальну концентрацію препарату, що пригнічує видимий ріст досліджуваних бактерій на твердому живильному середовищі. [49]

Метод лунок широко використовується для постановки серійних дослідів з вивчення антибіотиків. Методом можна користуватися, якщо у дослідника наявності є рідина яку потрібно дослідити на токсичність, та яка може мати антибактеріальний ефект. [50]

Тестову культуру змішують з нагрітим і охолодженим до 50°C агаром та розливають у чашки Петрі або вносять у чашки і заливають теплим агаром. Крім того, можна 1 мл суспензії тестового мікроорганізму нанести на вже затверділу агарову пластинку і стерильним шпателем розподілити на її поверхні. [50] Потім стерильним пробковим свердлом з агарової пластинки вирізають диски діаметром 10 мм, зазвичай чотири симетрично розташовані отвори або один

отвір по центру. Диски виймають стерильним скальпелем із пластинки і в отримані отвори вносять рівні дози суспензії, що містить досліджуваний метаболіт (приблизно 0,2 мм). Рівень суспензії у лунках повинен бути дещо нижчим від рівня поверхні пластинки. Також важливо стежити за тим, щоб суспензія не потрапила на поверхню пластинки, оскільки в цьому разі результати дослідів оцінити неможливо. [50]

Дифузія антибіотиків з цих джерел в агарозне середовище призводить до пригнічення росту бактерій поблизу джерела та до утворення чистих «зон» без бактеріального газону. Діаметр цих зон збільшується з концентрацією антибіотиків. [48]

Після внесення рідини у лунки чашки обережно встановлюють у холодильник за 10°C і після 10 год інкубації переносять у термостат з температурою 28°C. Через 24 год вимірюють ширину кільця інгібування або стимулювання росту, що утворились біля отвору та класифікують антимікробну дію досліджуваного препарату. Антимікробну дію нанопрепарату Аватар на біопрепарати встановлюють за наступною градацією зон затримки росту (табл. 2.2): [50]

Таблиця 2.2 - Градація токсичності за зонами затримки росту [49-50]

Рівень токсичності:	Зона затримки росту, мм
низький	5-10
середній	10-20
високий	>20

2.3 Метод визначення чисельності бактерій у ґрунті

Зважуємо бюкс на лабораторних вагах, далі робимо наважку ґрунту у 10 г у бюкс. Відкритий бюкс ставимо у сухожарову шафу за температури 105°C на 3 години, випаровуючи вологу зі зразку до сталої його маси. Після просушування бюкс закривають кришкою та дають охолонути близько 45 хв, і зважують на лабораторних вагах. Після цього, ґрунт просушують ще раз протягом 2х годин,

до сталої його маси, таким чином, щоб різниця між показниками була не більша за 0,01 г. [50]

Для розрахунку маси вологи використовуємо формулу:

$$M_{\text{вологи}} = m_2 - m_3, (2.1)$$

де m_2 – маса бюксу з пробою до висушування, г

m_3 - маса зразка після висушування, г [50]

Для розрахунку коефіцієнту вологості ґрунту ми використовуємо наступну формулу:

$$\omega = m / m_1 \times 100\%, (2.2)$$

де m — маса вологи, г;

m_1 — маса сухого ґрунту, г; ($m_3 - m_6$)

100 — коефіцієнт для перерахунку у відсотки, %. [50]

Коефіцієнт вологості ґрунту для перерахунку чисельності мікроорганізмів у пробі на суху речовину обчислюють за формулою:

$$K = 100 / 100 - \omega, (2.3)$$

де ω — вологість ґрунту, %.

2.3.3 Підготовка проб до посіву

Для мікробіологічних аналізів готують розведення ґрунтової суспензії. На стерильне годинникове скельце стерильним фарфоровим шпателем беруть наважку ґрунту масою 10 г, переносять у колбу із 90 см³ стерильної водогінної води, отримуючи розведення 1:10 (1-е розведення). Для якісного диспергування та десорбції клітин з ґрунтових агрегатів суспензію обробляють на мікроподрібнювачі тканин або витримують на шейкері протягом 20 хв за 220 об./хв. Далі отриману суспензію ретельно перемішують з використанням стерильної

піпетки шляхом набирання та випускання рідини, і переносять 1 см^3 у пробірку із 9 см^3 стерильної води, отримуючи розведення 1:100 (2-е розведення, 10₂) і далі розведення до 1:1000 (3-є розведення, 10₃), 1:10000 (4-е розведення, 10₄) і т. д. [50-51] Для кожного наступного розведення беруть нову стерильну піпетку. При перенесенні суспензії з пробірки з меншим розведенням до наступної (з більшим розведенням) піпетка не повинна контактувати з стерильною водою. Одночасно із приготуванням розведень відбирають наважку для визначення вологості ґрунту. Розраховують кількість мікроорганізмів на 1 г ґрунту. За показниками вологості ґрунту проводять підрахунок кількості мікроорганізмів на 1 г сухого ґрунту. [50]

2.3.4 Посів у чашки Петрі

Для посіву мікроорганізмів, використовують 3 послідовні розведення із розрахунку, що більше розведення забезпечить формування колоній на рівні десятків, проміжне — сотень, нижче — тисяч. Кількість паралельно засіяних чашок Петрі певного розведення повинна бути не меншою за 3—5. [50-51]

Загальну кількість бактерій визначають на середовищі Звягінцева. Для дослідження азотобактера використовують середовище Ешбі, для дріжджів - середовище Сабуро агар (СА), для загальної кількості актиноміцетів та мікроорганізмів - крохмально-аміачний агар (КАА), для оліготрофів - голодний агар (ГА), для педотрофів – ґрунтовий агар (ГрА), для дослідження наявної кількості целюлозоруйнівних бактерій – середовище Виноградського з фільтрувальним папером. [47, 50].

Посів на тверді середовища проводять глибинним, або поверхневим способом. Поверхневий посів застосовують для бактерій. Розплавлений на водяній бані поживний агар розливають у чашки Петрі, охолоджують, підсушують у термостаті за температури 40—60°C упродовж 10 хв. Стерильною піпеткою наносять $0,1 \text{ см}^3$ ґрунтової суспензії певного розведення на поживне середовище в центр чашки. Потім скляним шпателем Дригальського суспензію ретельно розтирають по поверхні агару. Для визначення кількості аеробних

целюлозоруйнівних мікроорганізмів поверх висіяної культури розкладають стерильний фільтрувальний папір (обеззолений). Чашки переносять у термостат. [50]

Глибинний посів застосовують для обліку, крім бактерій, також грибів і актиноміцетів, оскільки при розтиранні суспензії шпателем міцелій розпадається і кожний шматочок забезпечує ріст окремої колонії. Для глибинного посіву 1 см³ ґрунтової суспензії певного розведення стерильною піпеткою переносять у чашки Петрі і заливають відповідним твердим середовищем (25—30 см³), круговим рухами змішують із суспензією клітин. Після того як агар затвердіє, засіяні чашки переносять у термостат і інкубують за температури 28—30°C необхідний для певних фізіологічних груп мікроорганізмів час та візуально підраховують колонії. [50]

2.3.5 Підрахунок колоній

При підрахунку колоній вибирають те розведення, де їхня кількість не перебільшує 50—150. Якщо кількість колоній на чашці менше 10, то ці результати для підрахунку кількості мікроорганізмів у досліджуваному матеріалі не використовують. Колонії підраховують по всій поверхні чашки, перевернувши її дном доверху. Колонії відмічають чорнилами, або олівцем. При більшій кількості колоній дно чашки Петрі розкреслюють на однакові сектори, підраховують колонії на 2—3 секторах та помножують на їхню кількість. Якщо колонії дрібні, використовують лупу. Паралельний (за потреби) проводять опис колоній (форма колоній, колір, характер краю, поверхня) та мікроскопування їх. Підрахувавши колонії на поверхні чашок Петрі по усіх повтореннях, визначають їхню середню кількість. [50]

Чисельність мікроорганізмів у 1 г сухого ґрунту обчислюють за формулою:

$$N = \frac{a \cdot 10^n}{m \cdot (1 - \omega)} \quad (2.4)$$

де N - кількість клітин мікроорганізмів у 1 г абсолютно сухого ґрунту, од.;

a — середня кількість колоній, що вирости на чашці, од.;

10^n — коефіцієнт n -го розведення;

l — маса ґрунту у першому розведенні, г;

ω — масова частка вологи у досліджуваній пробі, %.

Індекс педотрофності виражається відношенням кількості мікроорганізмів, що ростуть на ґрунтовому агарі, до кількості мікроорганізмів на багатих органічних середовищах (наприклад ГрА / МПА). Він показує функціональність структури мікробного ценозу ґрунту. [50]

Коефіцієнт оліготрофності демонструє забезпечення ґрунту легкозасвоюваними поживними речовинами, що виражається відношенням кількості мікроорганізмів, виявлених на «бідних» середовищах, до їхньої кількості, що вирости на «багатих» поживних середовищах (ГА / МПА).

Коефіцієнт мінералізації й іммобілізації азоту — показник інтенсивності процесів мінералізації та засвоювання азотних сполук у ґрунті, виражений відношенням кількості мікроорганізмів, що ростуть на поживному середовищі з амонійним азотом (крохмал - аміачний агар), до кількості мікроорганізмів, що виявлено на поживному середовищі з органічним азотом (МПА).

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1 Результати токсичної дії нанопрепарату на біопрепарат

Для визначення чутливості бактерій, що входять до складу біопрепаратів, до нанопрепарату Аватар використовували метод лунок. Цей метод дозволив оцінити рівень антимікробної активності нанопрепарату у концентраціях, які відповідали 1, 10, 100 та 1000 рекомендованих для виробництва норм його внесення. Було встановлено, що збільшення норм внесення нанопрепарату Аватар від 1 до 100 рекомендованих норм (РН) не чинить бактерицидної дії на мікроорганізми-складові біопрепаратів, тобто препарати можуть сумісно застосовуватися у технологіях вирощування сільськогосподарських культур без зниження їх ефективності. Токсичний вплив нанопрепарату Аватар проявився лише при збільшенні норми його внесення до 1000 РН (у перерахунку це становить 150 л/га). За такої концентрації нанопрепарату проявилася бактерицидна та бактериостатична дія на мікробну складову біопрепарату Екостерну і бактериостатична дія на мікроорганізми Граундфікс, при розведенні біопрепаратів відповідно до норм витрат (рис. 3.1, табл. 3.1).

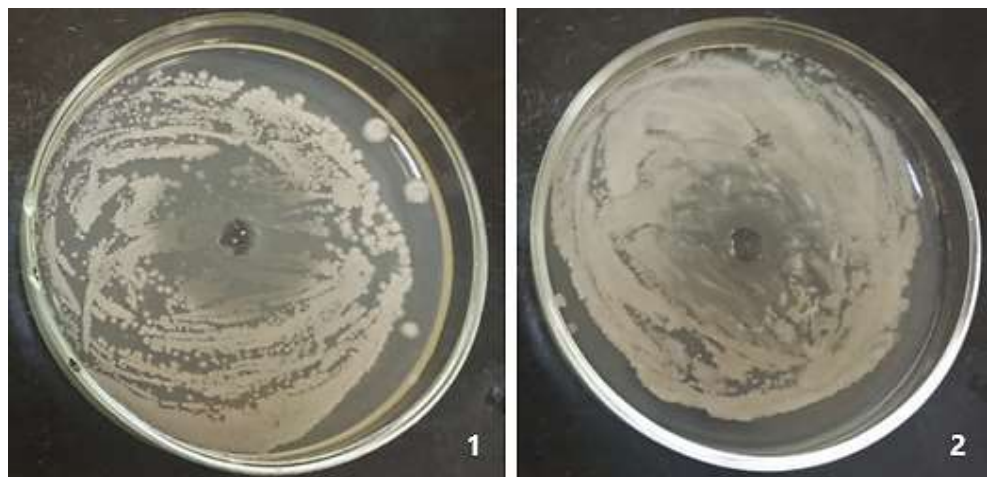


Рисунок 3.1 - Антимікробна дія нанопрепарату Аватар (1000 РН) на мікроорганізми біопрепаратів: 1 - Екостерн (1л/га), 2 - Граундфікс (5л/га)

Таблиця 3.1 - Антимікробна дія нанопрепарату Аватар на мікроорганізми біопрепаратів Екостерн та Граундфікс, у розведенні відповідно до норм витрат

Варіант	Зона затримки росту (d, мм)	Наявність антимікробної дії, можливість сумісного застосування
Екостерн	0	-
Екостерн + 1 РН Аватару	0	відсутня, препарати сумісні
Екостерн + 10 РН Аватару	0	відсутня, препарати сумісні
Екостерн + 100 РН Аватару	0	відсутня, препарати сумісні
Екостерн + 1000 РН Аватару	18 б/ц 31 б/с	токсичність середня, проявляється бактеріостатична дія нанопрепарату, препарати частково сумісні
Граундфікс	0	-
Граундфікс + 1 РН Аватару	0	відсутня, препарати сумісні
Граундфікс + 10 РН Аватару	0	відсутня, препарати сумісні
Граундфікс + 100 РН Аватару	0	відсутня, препарати сумісні
Граундфікс + 1000 РН Аватару	28,7 б/с	проявляється бактеріостатична дія нанопрепарату, препарати частково сумісні

Примітки: «0» - відсутність бактерицидної дії; «цифрова позначка» - діаметр у мм зони дії препарату; «бц» - бактерицидна дія; «бс» - бактеріостатична дія

Також досліджувався вплив нативного нанопрепарату «Аватар» на чутливість бактерій біопрепаратів. Було визначено, що у нативній формі це високо токсичний агрохімікат. За такої концентрації нанопрепарату проявилася

бактерицидна та бактериостатична дія на мікробну складову обох біопрепаратів, для Екостерну і Граундфіксу (рис.3.2, табл. 3.2).

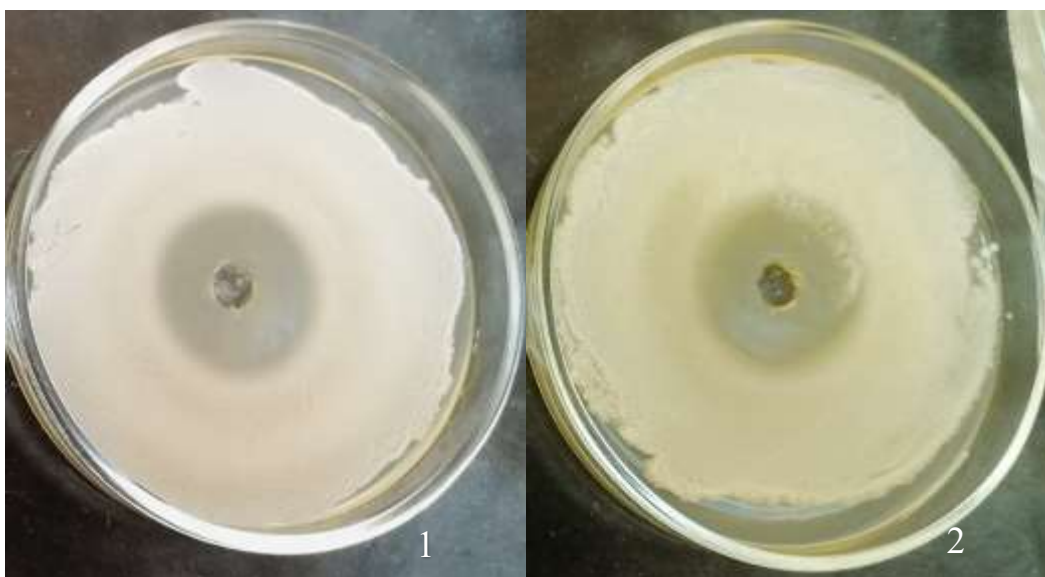


Рисунок 3.2 - Антимікробна дія нанопрепарату Аватар (нативний) на мікроорганізми біопрепаратів: 1 - Екостерн (1л/га), 2 - Граундфікс (5л/га)

Таблиця 3.2 - Антимікробна дія нативного нанопрепарату Аватар на мікроорганізми біопрепаратів Екостерн та Граундфікс

Варіант	Зона затримки росту (d, мм)	Наявність антимікробної дії, можливість сумісного застосування
Екостерн + нативний Аватар	29,6 – б/с; 19 – б/ц	Середня токсичність
Граундфікс + нативний Аватар	19 – б/ц; 31 – б/с	Середня токсичність

Дане дослідження доводить, що наночастинки у концентрованому стані є високонебезпечними. Таким чином, перед внесенням нанопрепарату «Аватар» у

грунт разом із біопрепаратом для подальшого вивчення, ми відслідкували чутливість самих бактерій з біопрепаратів до дії нанопрепарату.

3.2 Результати дії нанопрепарату на ґрунтові бактерії

Результати дослідження показали, що нано- і біопрепарати чинять значний вплив на чисельність основних груп мікроорганізмів ґрунту (табл. 3.3, рис. 3.3.).

Загальна кількість мікроорганізмів, які використовують, переважно, органічні сполуки азоту, під час застосування нанопрепарату Аватар становила $6,6 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту. В той же час за впливу біопрепаратів вона коливалася в межах $4,0-4,6 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту. У контрольному варіанті кількість досліджуваних мікроорганізмів становила $2,2 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту. Сумісне застосування нано- і біопрепаратів призводило до значного збільшення цієї групи ґрунтових мікроорганізмів. Їх кількість підвищувалась до $2,3-4,4 \cdot 10^6$ КУО/г ґрунту. Найефективнішим було сумісне застосування нанопрепарату Аватар і біопрепарату Граундфікс де чисельність мікроорганізмів зростала до $4,4 \cdot 10^6$ КУО/г ґрунту (рис.3.4, табл. 3.4).

Таблиця 3.4 - Вплив нано- і біопрепаратів на чисельність основних фізіологічних груп мікроорганізмів ґрунту (соя сорту Кент)

Група мікроорганізмів	Чисельність мікроорганізмів, КУО на 1 г сухого ґрунту					
	Зразок					
	1	2	3	4	5	6
Загальна кількість мікроорганізмів, які використовують переважно органічні сполуки азоту	$4,6 \cdot 10^5$	$4,0 \cdot 10^5$	$6,6 \cdot 10^5$	$2,3 \cdot 10^6$	$4,4 \cdot 10^6$	$2,2 \cdot 10^5$
Дріжджі	$1,3 \cdot 10^5$	$7,0 \cdot 10^3$	$1,8 \cdot 10^4$	$6,2 \cdot 10^4$	$3,0 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^3$
Азотобактер	$7,0 \cdot 10^4$	$8,8 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^5$	$2,4 \cdot 10^5$	$5,6 \cdot 10^4$	$5,9 \cdot 10^4$
Оліготрофи	$1,3 \cdot 10^5$	$1,4 \cdot 10^5$	$2,9 \cdot 10^5$	$3,0 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^5$	$5,8 \cdot 10^4$
Целюлозоруйнівні	$1,9 \cdot 10^3$	$2,7 \cdot 10^3$	$4,0 \cdot 10^3$	$2,3 \cdot 10^3$	$2,8 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^3$
Педотрофні	$2,5 \cdot 10^5$	$1,6 \cdot 10^5$	$2,6 \cdot 10^5$	$5,8 \cdot 10^5$	$2,7 \cdot 10^6$	$2,4 \cdot 10^5$

Мікроорганізми, які використовують переважно мін. сполуки азоту	$7,0 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	$2,0 \times 10^5$	$1,2 \times 10^5$	$1,1 \times 10^6$	$1,6 \times 10^5$
Актиноміцети	$5,1 \times 10^4$	$3,5 \times 10^4$	$4,8 \times 10^4$	$6,0 \times 10^4$	$1,1 \times 10^5$	$5,8 \times 10^4$
Спорові	$2,2 \times 10^4$	$9,7 \times 10^5$	$9,2 \times 10^4$	$1,5 \times 10^5$	$1,9 \times 10^5$	$4,0 \times 10^4$

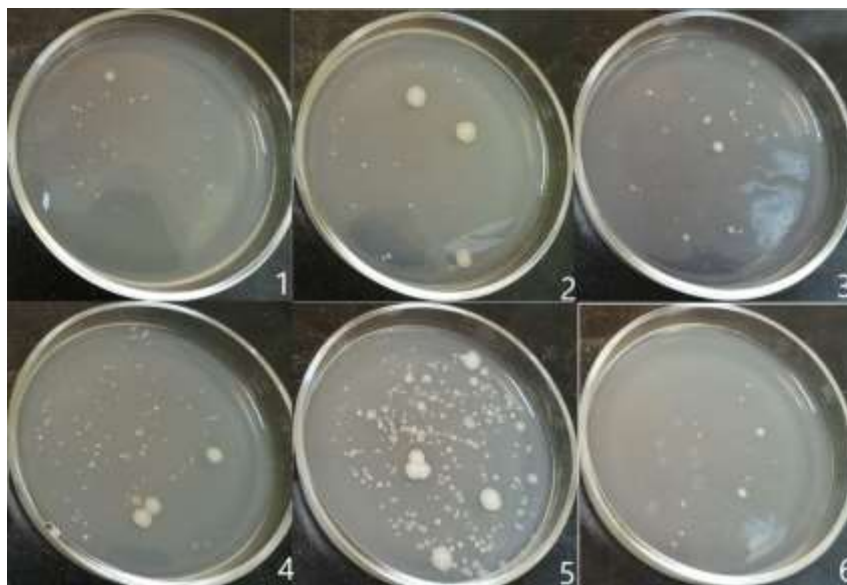


Рисунок 3.4 - Колонії мікроорганізмів, що використовують, переважно, органічні сполуки азоту (середовище Звягінцева, розведення 10^5):

- 1 - біопрепарат Граундфікс, 2 - біопрепарат Екостерн, 3 - нанопрепарат Аватар 2 Органік, 4 - суміш біопрепарату Екостерну + нанопрепарату Аватар 2 Органік, 5 - суміш біопрепарату Граундфікс+ нанопрепарату Аватар 2 Органік, 6 - контроль (вода)

Сумісне застосування нанопрепарату Аватар з біопрепаратом Граунфікс також збільшувало (до $1,1 \cdot 10^6$ КУО/г ґрунту) кількість мікроорганізмів, які використовують мінеральні сполуки азоту. Біопрепарати Граунфікс та Екостерн підвищували до $7,0 \cdot 10^4$ КУО/г ґрунту та до $2,0 \cdot 10^4$ КУО/г ґрунту відповідно чисельність азотфіксуючих бактерій. Це свідчить про включення мінерального

азоту в процесі метаболізму мікроорганізмів, що створює умови їхньої конкуренції за даний елемент [52].

Під впливом нано- і біопрепаратів збільшувалась чисельність оліготрофних мікроорганізмів. Зростання кількості оліготрофів свідчить про доступність легкозасвоюваних речовин, які накопичуються в процесі трансформації органічних решток, зокрема рослинних. Це сприяє покращенню трофічних зв'язків у структурі мікробного комплексу ґрунту [53]. Найвищі значення чисельності оліготрофів були відмічені при застосуванні нанопрепарату – $2,9 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту, біопрепарати також сприяли збільшенню чисельності цієї групи мікроорганізмів – їх кількість була на рівні $1,3-1,4 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту, на контролі – $5,8 \cdot 10^4$ КУО/г ґрунту. Проте, сумісне застосування зазначених препаратів знизило чисельність оліготрофів до $3,0-11,0 \cdot 10^4$ КУО/г ґрунту (рис. 3.5).

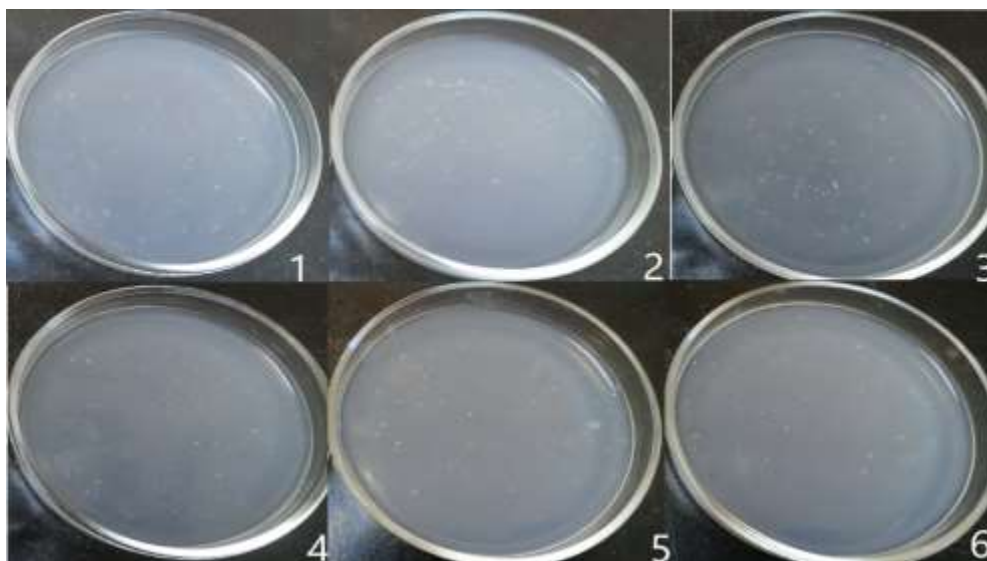


Рисунок 3.5 - Колонії оліготрофних мікроорганізмів (середовище
Голодний Агар, розведення 10^4): 1 - біопрепарат Граундфікс, 2 - біопрепарат
Екостерн, 3 - нанопрепарат Аватар 2 Органік, 4 - суміш біопрепарату Екостерну
+нанопрепарату Аватар 2 Органік, 5 - суміш біопрепарату Граундфікс+
нанопрепарату Аватар 2 Органік, 6 - контроль (вода)

Чисельність целюлозоруйнівних мікроорганізмів, що активно функціонують у мікробоценозі на початкових етапах трансформації органічної речовини [54] суттєво не змінювалася під впливом нано- і біопрепаратів, а коливалася у межах $1,0 - 4,0 \cdot 10^3$ КУО/г ґрунту. Однак, було відмічено тенденцію до їх збільшення відносно контролю, особливо за умов застосування нанопрепарату Аватар (табл. 3.6, рис. 3.6).

Біопрепарат Екостерн спричинював значне збільшення спороутворюючих бактерій. Їхня чисельність досягла рівня $9,7 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту (в контролі – $4,0 \cdot 10^4$ КУО/г ґрунту). Це свідчить про активну участь вище згаданої фізіологічної групи у процесах деструкції органічних решток, а саме очищенні ґрунту. Сумісне застосування біопрепарату Екостерн з нанопрепаратом Аватар призвело до зниження чисельності цих бактерій до $1,5 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту (рис. 3.7). Застосування біопрепарату Граундфікс як окремо, так і сумісно з нанопрепаратом Аватар знижувало чисельність спороутворюючих бактерій відносно контролю.

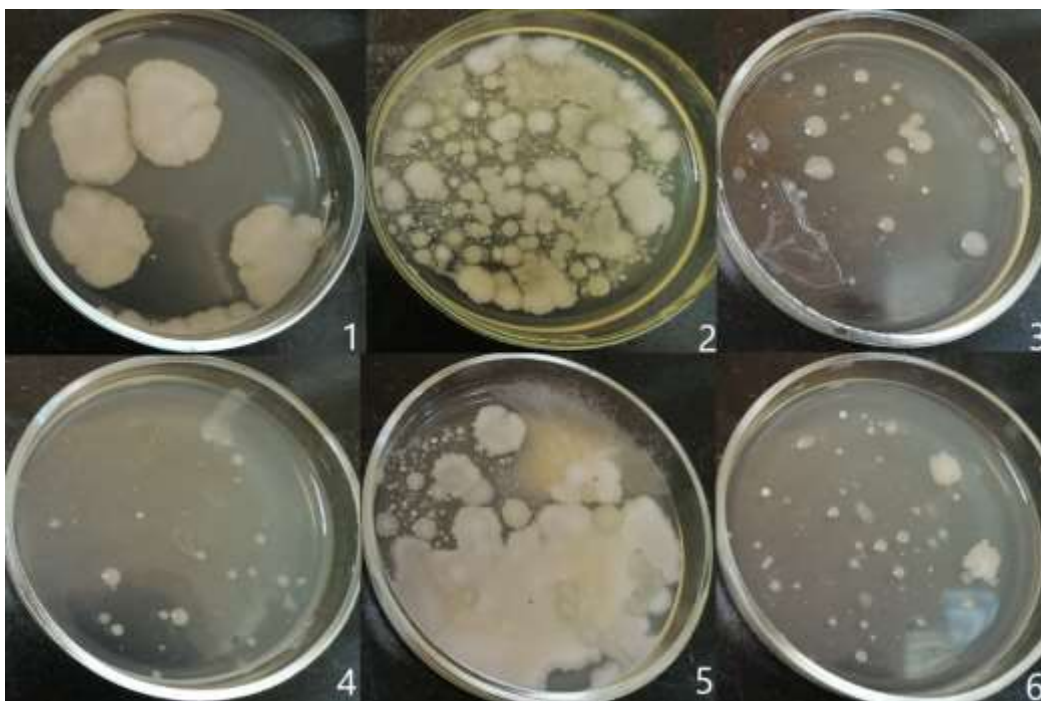


Рис. 3.7. Колонії спороутворюючих мікроорганізмів (середовище Звягінцева, розведення 10^4): 1 - біопрепарат Граундфікс, 2 - біопрепарат Екостерн, 3 - нанопрепарат Аватар 2 Органік, 4 - суміш біопрепарату Екостерну

+нанопрепарату Аватар 2 Органік, 5 - суміш біопрепарату Граундфікс+
нанопрепарату Аватар 2 Органік, 6 - контроль (вода)

Азотфіксуючі бактерії в зразках ґрунту, що досліджувалися, були представлені, переважно, видами роду *Azotobacter*, які здатні засвоювати із повітря атмосферний азот і в процесі життєдіяльності утворювати із молекулярного азоту білки та інші органічні сполуки азоту, які використовуються рослинами. Застосування біопрепаратів Граундфікс та Екостерн підвищило чисельність видів роду *Azotobacter* до рівня $7,0-8,8 \cdot 10^4$ КУО/г ґрунту (на контролі $5,9 \cdot 10^4$ КУО/г ґрунту), нанопрепарату Аватар – до $1,3 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту. Сумісне застосування Екостерну з Аватаром сприяло подальшому збільшенню чисельності *Azotobacter* ($2,4 \cdot 10^5$ КУО/г ґрунту), а Граундфіксу – навпаки, до зниження чисельності азотфіксуючих бактерій ($5,6 \cdot 10^4$ КУО/г ґрунту) (табл.3.8).

Таким чином, нанопрепарат Аватар стимулює розвиток мікроорганізмів, які використовують органічні сполуки, оліготрофів, дріжджів, целюлозоруйнівних і спорових бактерій, азотобактеру. Сумісне застосування нанопрепарату Аватар і біопрепарату Граундфікс позитивно впливає на розвиток мікроорганізмів, що використовують органічні та мінеральні сполуки азоту, актиноміцетів, педотрофів. Сумісне застосування нанопрепарату Аватар з біопрепаратом Екостерн підвищує чисельність мікроорганізмів, що використовують органічні сполуки азоту, дріжджів, актиноміцетів, азотобактеру. Сумісне застосування нанопрепарату Аватар з біопрепаратами Граундфікс та Екостерн пригнічує розвиток оліготрофів, целюлозоруйнівних і спорових бактерій.

Направленість мобілізаційних процесів, що відбуваються у ґрунті, характеризували за співвідношенням еколого-трофічних груп мікроорганізмів, зокрема мікроорганізмів, які використовують переважно мінеральні сполуки азоту, оліготрофів та педотрофів. Для цього було розраховано коефіцієнт мінералізації (КАА/Зв), індекси оліготрофності (ГА/Зв) та педотрофності

(ГрА/Зв). Коефіцієнт мінералізації та іммобілізації азоту використовували для оцінювання ступеню мінералізації органічної речовини в ґрунті. Для всіх варіантів дослідів цей коефіцієнт був низьким, що свідчить про послаблення процесів деструкції органічної речовини і переважання її синтезу.

Таблиця 3.8 - Спрямованість мікробіологічних процесів у ґрунті за впливу нано- і біопрепаратів (соє сорту Кент)

Коефіцієнти	Варіанти дослідів					
	1	2	3	4	5	6
	Варіанти дослідів					
Оліготрофності	0,28	0,35	0,44	0,01	0,03	0,26
Педотрофності	0,54	0,40	0,39	0,25	0,61	1,09
Мінералізації та іммобілізації азоту	0,15	0,05	0,30	0,05	0,25	0,26

Всі варіанти дослідів характеризувалися низьким коефіцієнтом оліготрофності (<1), що свідчить про забезпеченість ґрунтової мікробіоти органічними речовинами, що легко засвоюються, та про формування оптимальних умов для функціонування ґрунтового мікробного комплексу (табл. 3.8). Коефіцієнт педотрофності був найвищим у контрольному варіанті - 1,09, що свідчить про інтенсивну деструкцію органічної речовини ґрунту. Застосування нано- і біопрепаратів уповільнювало цей процес.

ВИСНОВКИ

У даній роботі висвітлено дослідження впливу наноагрохімікату «Аватар» на біологічну активність ґрунту. Згідно поставлених завдань, можна зробити висновки щодо:

1. Бактерії, котрі входять до складу біопрепаратів «Екостерн» та «Граундфікс» виявилися чутливими до впливу наноагрохімікату «Аватар» при внесенні 1000 РД (150 л/га). Зона затримки росту для біопрепарату «Екостерн» склала: 18 мм – бактерицидна дія та 31 мм – бактериостатична дія «Аватару». Зона затримки росту для біопрепарату «Граундфікс» склала: 28,7 мм – бактериостатичної дії «Аватару». При цьому згідно з градацією зон затримки росту – токсичність середня.

2. Згідно з градацією зон затримки росту, спостерігалася високотоксична дія «Аватару» у нативному вигляді. При дослідженні дії на біопрепарат «Екостерн» та біопрепарат «Граундфікс», бактерицидна дія для обох склала 19 мм, а бактериостатична дія 29,6 мм та 31 мм відповідно. Препарат виявив себе у нативі як середньо токсичний.

3. Про вплив препаратів на біологічну активність ґрунту можна говорити з бактеріальних посівів за морфологічними групами. Таким чином, можна прослідкувати як нанопрепарат «Аватар» та біопрепарати «Екостерн» та «Граундфікс» впливають на кількість життєздатних ґрунтових бактерій різних груп. Для цього були розраховані коефіцієнти оліготрофності, педотрофності та мінералізації і іммобілізації азоту. В усіх варіантах дослідження коефіцієнти оліготрофності були менше 1, а отже ґрунт за впливу препаратів, є забезпеченим органічною речовиною. Коефіцієнт педотрофності коливався в межах від 0,25 (сумісне внесення «Аватару» та «Екостерну») до 1,09 (контрольний зразок). Коефіцієнт мінералізації і іммобілізації азоту для всіх варіантів дослідження був низьким, а отже процеси перетворення органічної речовини у ґрунті є послабленими.

4. Виявлено, що сумісне застосування нанопрепарату «Аватар» з біопрепаратами «Граундфікс» та «Екостерн» пригнічує розвиток оліготрофів, целюлозоруйнівних і спорових бактерій.

5. При внесенні препаратів за рекомендованого виробниками розведення, нанопрепарат «Аватар» не чинитиме токсичної дії на ґрунтові бактерії різних морфологічних груп.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Preparation, characterization and antifungal activity of iron oxide nanoparticles / S. Parveena [та ін.] // *Microbial Pathogenesis*. - 2018. – Vol. 115. - P. 287-292. [Режим доступу: https://www.researchgate.net/publication/322225798_Preparation_characterization_and_antifungal_activity_of_iron_oxide_nanoparticles]
2. Remediating Polluted Soils Using Nanotechnologies: Environmental Benefits and Risks / G. Medina-pérez [та ін.] // *Environmental Studies*. - 2019. - P. 28, Vol. 28. - P. 1013-1030. [Режим доступу: <http://www.pjoes.com/Remediating-Polluted-Soils-Using-nNanotechnologies-Environmental-Benefits-and-Risks,87099,0,2.html>]
3. The nanotechnology among US: are metal and metal oxides nanoparticles a nano or mega risk for soil microbial communities / J. Paradaa [та ін.] // *Critical Reviews in Biotechnology*. - 2019. - P. 39, Vol. 2. - P. 157-172.
4. Simonin M, Richaume A. Impact of engineered nanoparticles on the activity, abundance, and diversity of soil microbial communities: a review. *Environmental Science Pollution Research*. – 2015. – Vol. 22. - P. 13710–13723. [Режим доступу: https://www.researchgate.net/publication/272083560_Impact_of_engineered_nanoparticles_on_the_activity_abundance_and_diversity_of_soil_microbial_communities_a_review]
5. Nanoparticles in the environment: where do we come from, where do we go to? / Bundschuh M [та ін.] // *Environmental Science Europe*. – 2018. – P. 3. Vol. 6 [Режим доступу: <https://enveurope.springeropen.com/track/pdf/10.1186/s12302-018-0132-6.pdf>]
6. Soil pH effects on the interactions between dissolved zinc, non nano- and nano-ZnO with soil bacterial communities / Read DS [та ін.] // *Environmental Science Pollution Research*. – 2016. – Vol. 23. - P. 4120–4128. [Режим доступу: <https://centaur.reading.ac.uk/75777/1/N510610PP.pdf>]
7. Hadri H, Louie SM, Hackley VA. Assessing the interactions of metal nanoparticles in soil and sediment matrices – a quantitative analytical multi-technique approach. *Environmental Science Nano*. - 2018. - Vol. 5. P. 203 – 214

[Режим

доступу:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6512827/pdf/nihms977730.pdf>]

8. Benoit R, Wilkinson KJ, Sauve S. Partitioning of silver and chemical speciation of free Ag in soils amended with nanoparticles. *Chemistry Central Journal*. 2013. Vol. 7. P. 75–81. [режим доступа: <https://bmcchem.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1752-153X-7-75.pdf>]

9. Properties of different natural organic matter influence the adsorption and aggregation behavior of TiO₂ nanoparticles. / Luo M [ta in.] // *Journal of Saudi Chemical Society*. 2018. Vol. 22. P. 146–154. [режим доступа: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S131961031600020X?token=013C48045E6459AD4839BDA459BC3321AB87C6C9F2647B497B565DCA53A8583F84725BAF8174FE38628482D8B3FD E5D6&originRegion=eu-west-1&originCreation=20211109102214>]

10. Aging of dissolved copper and copper-based nanoparticles in five different soils: short-term kinetics vs. long-term fate./ Sekine R [ta in.]// *Journal of Environmental Quality*. 2017. Vol. 46. P. 1198. [режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5868742/pdf/nihms950661.pdf>]

11. Haider A, Kang I-K. Preparation of silver nanoparticles and their industrial and biomedical applications: a comprehensive review. *Advances in Materials Science and Engineering*. 2015. P:1–16. [режим доступа: <https://pdfs.semanticscholar.org/bfce/83b5425261de79b6dc08140d2d5358f14e14.pdf>]

12. Quantifying the sensitivity of soil microbial communities to silver sulfide Nanoparticles using metagenome sequencing. / Doolette CL [ta in.]// *PLoS One*. 2016. Vol. 11. P. 1198–1205. [режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5004803/>]

13. Effects of silver nanoparticles on soil microorganisms and maize biomass are linked in the rhizosphere. / Sillen WMA [ta in.]// *Soil Biology and Biochemistry*. 2015. Vol. 91. P. 14–22. [режим доступа: https://www.researchgate.net/publication/282922858_Effects_of_silver_nanoparticles_on_soil_microorganisms_and_maize_biomass_are_linked_in_the_rhizosphere]

14. Amendment of agricultural soil with metal nanoparticles: effects on soil enzyme activity and microbial community composition. / Asadishad B [ta in.] // *Environmental science and technology*. 2018. Vol. 52. P. 1908–1918 [режим доступа: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.est.7b05389>]
15. Effect of biosynthesized silver nanoparticles on native soil microflora via plant transport during plant–pathogen–nanoparticles interaction. / Kumari M [ta in.] // *3 Biotech*. 2017. Vol. 7. P. 345. [режим доступа: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5610594/pdf/13205_2017_Article_988.pdf]
16. Menon S. A review on biogenic synthesis of gold nanoparticles, characterization, and its applications. *Resources Technology*, 2017. Vol. 3. P. 516–527 [режим доступа: <http://earchive.tpu.ru/bitstream/11683/50336/1/doi.org-10.1016-j.reffit.2017.08.002.pdf>]
17. Braunschweig J, Bosch J, Meckenstock RU. Iron oxide nanoparticles in geomicrobiology: from biogeochemistry to bioremediation. *New Biotechnology*. 2013. Vol. 30. P. 793–802 [режим доступа: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871678413000411?via%3Dihub>]
18. Development of new remediation technologies for contaminated soils based on the application of zero-valent iron nanoparticles and bioremediation with compost. / Galdames A [ta in.] // *Resources Technology*. 2017. Vol. 3. P. 166–176 [режим доступа: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405653716301506>]
19. Effectiveness and ecotoxicity of zero-valent iron nanoparticles during rhizoremediation of soil contaminated with Zn, Cu, Cd and diesel. / Lacalle RG [ta in.] // *Data in Brief*. 2018. Vol. 17. P. 47–56. [режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5988017/pdf/main.pdf>]
20. Toxicity of iron oxide nanoparticles to grass litter decomposition in a sandy soil. / Rashid MI [ta in.] // *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7 P. 41965. [режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5290472/pdf/srep41965.pdf>]
21. Effect of metal oxide nanoparticles on microbial community structure and function in two different soil types. / Frenk S [ta in.] // *PLoS One*. 2013. Vol. 8. P.

- 1–12. [режим доступу:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3862805/pdf/pone.0084441.pdf>]
22. Cu and Cu-Based nanoparticles: synthesis and applications in catalysis. / Gawande MB [ta in.] // *Chemical Reviews*. 2016. Vol. 116. P. 3722–3811 [режим доступу: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acs.chemrev.5b00482>]
23. Din MI, Rehan R. Synthesis, characterization, and applications of copper nanoparticles. *Analytical Letters*. 2017. Vol. 50. P. 50–62 [режим доступу: https://www.researchgate.net/publication/303504124_Synthesis_Characterization_and_Applications_of_Copper_Nanoparticles]
24. Fate and impact of zero-valent copper nanoparticles on geographically-distinct soils. / Shah V [ta in.] // *Science of the Total Environment*. 2016. Vol. 573. P. 661–670 [режим доступу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7384298/pdf/nihms-1522614.pdf>]
25. Gao X, Avellan A, Laughton S. CuO nanoparticle dissolution and toxicity to wheat (*Triticum aestivum*) in Rhizosphere soil. *Environmental science and technology*. 2018. Vol. 52. P. 2888–2897. [режим доступу: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.est.7b05816>]
26. Rajeshkumar S, Naik P. Synthesis and biomedical applications of Cerium oxide nanoparticles – a review. *Biotechnology Reports*. 2018. Vol. 17. P. 1–5. [режим доступу: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S2215017X17302230?token=3465B441BECB52E74A65C687948DA7100A2A19FD7DCF0A7FA9569B9AF7503E8BCBB5E16FEE100FBAD33D4500C0E013C2&originRegion=eu-west-1&originCreation=20211109121546>]
27. Farias IAP, Santos CCL. d, Sampaio FC. Antimicrobial activity of cerium oxide nanoparticles on opportunistic microorganisms: a systematic review. *BioMed Research International*. 2018. Vol. 2018. P. 1–14 [режим доступу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5827881/pdf/BMRI2018-1923606.pdf>]
28. Interaction of Al(2)O(3) nanoparticles with Escherichia coli and their cell envelope biomolecules. / Ansari MA [ta in.] // *Journal of Applied Microbiology*. 2014.

- Vol. 116. P. 772–783. [режим доступа: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jam.12423>]
29. Hong J, Morales MI, et al. Effect of cerium oxide nanoparticles on rice: a study involving the antioxidant defense system and in vivo fluorescence imaging. / Rico CM [ta in.] // *Environmental science and technology*. 2013. Vol. 47. P. 5635–5642. [режим доступа: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/es401032m>]
30. Doskocz N, Affek K, Załeńska-Radziwiłł M. Effects of aluminium oxide nanoparticles on bacterial growth. *E3S Web of Conferences*. 2017. Vol. 17. P. 19. [режим доступа: <https://pdfs.semanticscholar.org/2bbd/61cf8aa1877f6bb7a180d03872bdb54dcf46.pdf>]
31. Effect of nanoparticles on red clover and its symbiotic microorganisms. / Moll J [ta in.] // *Journal Nanobiotechnology*. 2016. Vol. 14. P. 36. [режим доступа: https://www.researchgate.net/publication/302594232_Effect_of_nanoparticles_on_red_clover_and_its_symbiotic_microorganisms]
32. Exploring potential environmental applications of TiO₂ nanoparticles. / Haider AJ [ta in.] // *Energy Procedia*. 2017. Vol. 119. P. 332–345. [режим доступа: https://www.researchgate.net/publication/319477720_Exploring_potential_Environmental_applications_of_TiO2_Nanoparticles]
33. Synthesis, characterization and evaluation of effect of phytogenic zinc nanoparticles on soil exoenzymes. / Sri Sindhura K [ta in.] // *Applied Nanoscience*. 2014. Vol. 4. P. 819–827. [режим доступа: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s13204-013-0263-4.pdf>]
34. Kwak JJ, Yoon S-J, An Y-J. Long-term effects of ZnO nanoparticles on exoenzyme activities in planted soils. *Environmental Engineering Research*. 2016. Vol. 22. P. 224–229 [режим доступа: https://www.researchgate.net/publication/318093978_Longterm_effects_of_ZnO_nanoparticles_on_exoenzyme_activities_in_planted_soils]
35. Titanium dioxide nanoparticles strongly impact soil microbial function by affecting archaeal nitrifiers. / Simonin M. [ta in.] // *Scientific Reports*. 2016. Vol. 6. P. 33643. [режим доступа: <https://www.nature.com/articles/srep33643>]

36. Nano-Ecotoxicology of Natural and Engineered Nanomaterials for Animals and Humans / Vinayak Pachapur [ta in.] // *Nanomaterials in the Environment*. 2019 . Vol. 28. P. 421-437 [режим доступа: <http://www.pjoes.com/Remediating-Polluted-Soils-Using-nNanotechnologies-Environmental-Benefits-nand-Risks,87099,0,2.html>]
37. Toxicity and Environmental Risks of Nanomaterials: Challenges and Future Needs / Paresh Chandra Ray [ta in.] // *Journal of environmental science and health. Part C, Environmental carcinogenesis & ecotoxicology reviews*. 2009. Vol. 27. P. 1-35. [режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2844666/pdf/nihms181469.pdf>]
38. Green production of zero-valent iron nanoparticles using tree leaf extracts. / Machado S. [ta in.] // *Science of the Total Environment*. 2013. Vol. 1. P. 445 [режим доступа: <https://core.ac.uk/download/302866537.pdf>]
39. Karn B., Kuiken T., Otto M. Nanotechnology and insitu remediation: a review of the benefits and potential risks. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2011. Vol. 16. P. 165. [режим доступа: https://www.researchgate.net/publication/49704731_Review_Nanotechnology_and_in_Situ_Remediation_A_Review_of_the_Benefits_and_Potential_Risks]
40. Giasuddin A.B., Kanel S.R., Choi H. Adsorption of humic acid onto nanoscale zerovalent iron and its effect on arsenic removal. *Environmental Science and Technology*. 2007. Vol. 41. P. 2022. [режим доступа: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/es0616534>]
41. Elliott D.W., Lien H.L., Zhang W.X. Degradation of lindane by zero-valent iron nanoparticles. *Journal of Environmental Engineering*. 2009. Vol. 5. P. 317, [режим доступа: https://cfpub.epa.gov/ncer_abstracts/index.cfm/fuseaction/display.pubFullText/publication_id/52853]
42. Characterization of green zero-valent iron nanoparticles produced with tree leaf extracts. / Machado S [ta in.] // *Science of the Total Environment*. 2015. Vol. 76. P. 533 [режим доступа <https://core.ac.uk/download/302866537.pdf>]

43. Аватар 2 Органік. Веб-сайт: https://nano-production.com.ua/index.php?route=product/product&product_id=72 (дата звернення: 21.06.2021)
44. Аватар 2 Органік. Веб-сайт: <https://ogurki.com/product/avatar-2-organik> (дата звернення: 21.06.2021)
45. Біопрепарат Граундфікс. Веб-сайт: <https://btu-center.com/promisloviy-sektor/roslinnitstvo/gruntove-biodobriwo-/graundfiks-groundfix-/> (дата звернення: 04.07.2021)
46. Біопрепарат Екостерн. Веб-сайт: <https://btu-center.com/promisloviy-sektor/roslinnitstvo/b-odestruktori/ekostern/> (дата звернення: 04.07.2021)
47. ДСТУ 7847:2015 Якість ґрунту. Визначення чисельності мікроорганізмів у ґрунті методом посіву на тверде (агаризоване) живильне середовище. http://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=62729
48. Boyan Bonev, James Hooper, Judicae I Parisot. Principles of assessing bacterial susceptibility to antibiotics using the agar diffusion method. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2008. Vol. 61. P. 1295–1301 [режим доступу: [https://www.researchgate.net/publication/5511982 Principles of assessing bacterial susceptibility to antibiotics using the agar diffusion method](https://www.researchgate.net/publication/5511982_Principles_of_assessing_bacterial_susceptibility_to_antibiotics_using_the_agar_diffusion_method)]
49. Експериментальна ґрунтова мікробіологія: монографія / В.В. Волкогон. О.В. Надкернична, Л.М. Токмакова, Т.М. Мельничук. Київ: Аграр.наука, 2010. [режим доступу: <https://www.twirpx.com/file/770759/>]
50. Коломієць Ю.В., Григорюк І.П., Буценко Л.М. Формування мікробіоти ризосфери і підвищення продуктивності рослин томатів за дії біодобрих. Мікробіологічний журнал. 2016. с. 85-94. [режим доступу: <https://journals.indexcopernicus.com/api/file/viewByFileId/69279.pdf>]
51. Симочко Л.Ю., Цикун Т.В., Симочко В.В. Показники оліготрофності та педотрофності ґрунту пралісів широколистяного масиву карпатського біосферного заповідника. Наук. Вісник Ужгородського університету. 2008. №24. с. 91-95. [режим доступу: <http://eprints.zu.edu.ua/6321/1/Theodoxus%20danubialis.pdf>]