

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**
Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ПОГОДЖЕНО
Декан факультету
захисту рослин,
біотехнологій та екології
_____ **Юлія КОЛОМІЄЦЬ**
“ ____ ” _____ 2025 р.

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ
Завідувач кафедри
фізіології, біохімії рослин та
біоенергетики
_____ **Світлана ПРИЛУЦЬКА**
“ ____ ” _____ 2025 р.

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «Модифікація фулереном C₆₀ негативної дії посухи у мікрозелені гороху»

Спеціальність G21 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітня програма «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

Орієнтація освітньої програми Освітньо-професійна

Гарант освітньої програми

д.с.-г.н., професор _____

(підпис)

Микола ЛІСОВИЙ

Керівник магістерської кваліфікаційної роботи

д.б.н., професор _____

(підпис)

Світлана ПРИЛУЦЬКА

Виконав _____

(підпис)

Станіслав ФУРМАНЕЦЬ

КИЇВ – 2025

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри фізіології, біохімії рослин та
біоенергетики

д.б.н., професор _____ Світлана ПРИЛУЦЬКА
“ _____ ” _____ 2025 року

ЗАВДАННЯ

ДО ВИКОНАННЯ МАГІСТЕРСЬКОЇ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ ЗДОБУВАЧУ

Фурманцю Станіславу Олександровичу

Спеціальність G21 «Біотехнологія та біоінженерія»

Освітня програма «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

Орієнтація освітньої програми Освітньо-професійна

Тема магістерської кваліфікаційної роботи «Модифікація фулереном C₆₀ негативної дії посухи у мікрозелені гороху» затверджена наказом від «7» листопада 2024 р. № 2005 «С»

Термін подання завершеної роботи на кафедру 14 листопада 2025 року

Вихідні дані до магістерської кваліфікаційної роботи: аналіз наукових джерел літератури, горох (сорт Есо оригінатор Selgen a.s., Чехія), фулерен C₆₀, посуха.

Перелік питань, що підлягають дослідженню:

1. Здійснити аналіз наукової літератури щодо впливу вуглецевих наноматеріалів на фізіологічні показники сільськогосподарських культур.

2. Провести систематизацію літературних даних стосовно фізіологічних змін у сільськогосподарських рослин в умовах посушливого стресу.

3. Оцінити фізіолого-біохімічні показники гороху за впливу фулерену C₆₀.

4. Визначити зміну фізіолого-біохімічних процесів мікрозелені гороху в умовах моделювання посухи (водного дефіциту).

5. Оцінка впливу фулерену C₆₀ на фізіологічний стан мікрозелені гороху індукований посухою.

Дата видачі завдання 2 вересня 2024 року

**Керівник магістерської
кваліфікаційної роботи**

(підпис)

Світлана ПРИЛУЦЬКА

Завдання прийняв до виконання

(підпис)

Станіслав ФУРМАНЕЦЬ

РЕФЕРАТ

Магістерська робота присвячена дослідженню «Модифікація фулереном C₆₀ негативної дії посухи у мікрозелені гороху». Дослідження виконано в умовах навчально-наукової лабораторії «Біохімії та фітобіотехнології» при кафедрі фізіології, біохімії рослин та біоенергетики.

Робота оформлена в обсязі 75 сторінок формату А4. Для ілюстрації результатів використано 2 таблиці та 21 рисунок.

Структура магістерської роботи є традиційною та включає наступні розділи:

- Вступ
- Огляд літератури
- Матеріали і методи
- Результати та їх обговорення
- Висновки
- Список використаних джерел

Актуальність теми: мікрозелень гороху (*Pisum sativum* L.) розглядається як перспективна культура для застосування в умовах вертикальних ферм, міських теплиць та домашнього вирощування. Її популярність зумовлена високою харчовою цінністю та коротким вегетаційним періодом. Аналіз фізіолого-біохімічних характеристик є важливим для оцінки загального стану рослинного організму та його здатності пристосовуватися до різних агротехнічних умов. Цей аспект має ключове значення в контексті урбаністичного сільського господарства, де критичним є ефективне використання обмежених ресурсів та площі [1].

Фулерен C₆₀, відомий своїми антиоксидантними властивостями, може модулювати процеси росту та розвитку рослин. Зокрема, він здатен зменшувати вплив оксидативного стресу, спричиненого абіотичними стресорами, такими як водний дефіцит. Застосування цього біотехнологічного підходу сприяє глибшому розумінню як потенційних переваг, так і можливих ризиків використання наноматеріалів в аграрному секторі. Вивчення механізмів адаптації мікрозелені

гороху до нестачі вологи дає можливість розробити ефективні стратегії підвищення стійкості сільськогосподарських культур до стресових чинників. Детальний аналіз стану антиоксидантної системи рослин та вмісту фотосинтетичних пігментів дозволить поглиблено вивчити реакції рослин на посуху та з'ясувати внутрішні механізми їхньої стресостійкості.

Об'єкт дослідження: оцінити корегуючий вплив фулерену C₆₀ на стрес-реакції мікрозелені гороху, спричинені посухою.

Предмет дослідження: морфометричні показники мікрозелені гороху, стан антиоксидантної системи паростків гороху, вміст пігментів у мікрозелені гороху, фулерен C₆₀, посуха.

Методи дослідження: морфометричні, спектрофотометричні, біохімічні, фізіологічні, статистичні.

Мета роботи - вивчити модифікуючу дію фулерену C₆₀ щодо негативної дії посухи на мікрозелень гороху.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ, ТЕРМІНІВ	9
ВСТУП	10
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	12
1.1. Сільськогосподарське застосування наноматеріалів на основі вуглецю	12
1.1.1. Наночастинки вуглецю як стимулятори росту рослин та добрива	12
1.1.2. Наноінкапсуляція та інтелектуальні системи доставки	13
1.1.3. Протигрибкові та антибактеріальні засоби	14
1.1.4. Системи сенсорного контролю та точне землеробство	15
1.2. Вплив фулеренів на рослини	16
1.2.1. Поглинання фулеренів та фулеролів.	17
1.2.2. Вплив фулерену та його похідних на проростання насіння	18
1.2.3. Ріст і розвиток рослин за впливу фулерену	18
1.2.4. Вплив фулерену та його похідних на стійкість рослин до стресу	20
1.3. Вплив посухи на фізіолого-біохімічний стан рослин	22
1.4. Підходи до пом'якшення негативних наслідків стресу, спричиненого посухою	25
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ	31
2.1. Реактиви та обладнання	31
2.2. Об'єкт дослідження	31
2.3. Вирощування мікрозелені гороху в умовах лабораторії	35
2.4. Оцінка морфометричних показників гороху	36
2.5. Оцінка вмісту пігментів у мікрозелені за використання спектрофотометричного методу	38
2.6. Визначення активності каталази у рослинах гороху спектрофотометричним методом	40
2.7. Визначення концентрації NO у рослинному матеріалі	42
2.8. Статистична обробка отриманих результатів	43
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	45
3.1. Аналіз показників росту та морфометричних характеристик мікрозелені гороху за дії посухи	45
3.2. Морфометричні характеристики мікрозелені гороху за обробки наночастинками фулерену C ₆₀ та дії посухи	48
3.3. Концентрація NO у рослинах гороху за впливу фулерену C ₆₀ та моделювання посухи	52
3.4. Активність каталази у паростка гороху	54

3.5. Вміст фотосинтетичних пігментів у рослинах гороху за дії посухи та модифікації наночастинками фулерену	57
ВИСНОВКИ	61
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	63

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ, ТЕРМІНІВ

АФК – активні форми кисню;

ВНМ – вуглецеві наноматеріали;

ГО – оксид графену;

ВНЧ – вуглецеві наночастинки;

ВНТ – вуглецеві нанотрубки;

SWCNT – одностінні вуглецеві нанотрубки;

CNFs - вуглецеві нановолокна;

ДВНТ – двошарові вуглецеві нанотрубки;

MWCNT – багат шарові вуглецеві нанотрубки;

НЧ – наночастинки;

СОД – супероксиддисмутаза;

КАТ – каталаза;

ПОД – пероксидаза.

ВСТУП

Зростання світового виробництва та використання наночастинок має значний вплив на навколишнє середовище, біологічні системи та здоров'я людей. Особливе місце серед багатофункціональних наноматеріалів займають різні наноалотропи вуглецю завдяки своїм численним корисним властивостям і потенціалу застосування у широкому спектрі галузей. Вуглець - один з тих рідкісних хімічних елементів, що можуть полімеризуватися на атомному рівні, утворюючи дуже довгі вуглецеві ланцюги [25].

У контексті рослинництва, стрес визначається як умови, спричинені абіотичними (такими як посуха, засолення, екстремальні температури, радіація чи важкі метали) або біотичними (хвороботворні мікроорганізми та шкідники) чинниками, які негативно впливають на ріст, розвиток і, як наслідок, на врожайність культур [40].

Посуха вважається одним з найбільш несприятливих абіотичних стресів, що впливають на ріст рослин та врожайність. Посуховий стрес призводить до утворення активних форм кисню (АФК), включаючи перекис водню (H_2O_2) та гідроксильний радикал ($\cdot OH$), що може спричинити перекисне окислення ліпідів мембран [43].

Рослини мають ферментативну антиоксидантну систему, що включає загальну супероксиддисмутазу (СОД), каталазу (КАТ) та пероксидазу (ПОД), для поглинання АФК з метою підтримки індивідуального росту та утворення насіння, що є тим механізмом, який дозволяє їм справлятися з різними абіотичними стресами [45].

З огляду на кліматичні зміни, абіотичний стрес є неминучою загрозою для сільськогосподарського виробництва, що прямо впливає на здатність фермерів задовольняти зростаючий світовий попит на продукти харчування [37].

Застосування наночастинок (НЧ) є важливим інструментом для протидії абіотичному стресу та вивчення фізіологічних, біохімічних і молекулярних реакцій рослин. Водночас, використання НЧ також пов'язане з певними екологічними та медичними наслідками [38].

Протягом останнього десятиліття особливий інтерес до досліджень наночастинок продемонстрували представники родини *Fabaceae* (бобові). Однією з ключових однорічних рослин є горох посівний *Pisum sativum*, ареал якого охоплює великий агроекологічний регіон - від Туркменістану до Північної Африки та Південної Європи, включаючи Анатолію. Рід *Pisum* традиційно включає два види: *P. fulvum* та культивованій *P. sativum* L. Останній, що складається із шести підвидів, є предметом дослідження [19].

Горох використовують в різному вигляді – дозрілі сухі зерна, зелені зерна в консервованому та мороженому вигляді, а також молоді паростки у вигляді мікрозелені. Мікрозелень гороху збирають на ранніх етапах розвитку для безпосереднього вживання в їжу. Саме на цій стадії вони містять найвищу концентрацію біологічно активних компонентів. Завдяки своїй високій харчовій цінності та широкому використанню у фармацевтичній і харчовій промисловості, ця культура стала предметом активного вивчення [10].

Відповідно, основна мета цієї наукової роботи полягає у вивченні можливостей модифікації фулереном C_{60} негативної дії посухи у мікрозелені гороху.

Дослідження передбачає аналіз ключових фізіолого-біохімічних параметрів рослин, зокрема морфометричних характеристик, рівня фотосинтетичних пігментів та стану антиоксидантної системи рослин. Отримані дані допоможуть сформуванню ефективних стратегій захисту сільськогосподарських культур від негативних наслідків абіотичного стресу в умовах сучасної глобальної екологічної нестабільності.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Сільськогосподарське застосування наноматеріалів на основі вуглецю

Основні виклики майбутнього, пов'язані з постійним зростанням населення світу, полягають у збільшенні та оптимізації сільськогосподарського виробництва на обмежених площах орних земель при збереженні сталого рівня та мінімальному негативному впливі на навколишнє середовище. У цьому контексті потенційний внесок сучасних нанотехнологій охоплює наступні напрямки:

- Підвищення врожайності сільськогосподарських культур завдяки застосуванню стимуляторів росту рослин та нових добрив, розроблених на основі наноматеріалів;
- Використання засобів захисту рослин на основі наноматеріалів, включаючи пестициди та гербіциди;
- Загальне скорочення застосування агрохімікатів завдяки використанню нанокапсульованих засобів захисту рослин та добрив із пролонгованою дією;
- Впровадження нанотехнологій для оптимізації сільськогосподарської практики шляхом реалізації концепції точного землеробства [15].

Приблизно 40% усіх інновацій нанотехнологій у сільськогосподарському секторі в перспективі будуть забезпечені наноматеріалами на основі вуглецю, які функціонують як активні компоненти та добавки [28].

1.1.1. Наночастинки вуглецю як стимулятори росту рослин та добрива

Низка досліджень вказує на позитивний вплив наноматеріалів на основі вуглецю на ріст рослин, що стимулює розробку добрив, які містять нановуглець. Більшість цих добрив ґрунтуються на додаванні нановуглецю до мінеральних та органічних добрив, де він у більшості випадків виступає як синергіст добрив.

Мета такого додавання - покращити доступність поживних речовин для рослин, зменшити втрати цих речовин та стимулювати ріст рослин [30].

Вуглецеві нановолокна (CNFs) є одним із таких прикладів, які можна налаштувати для перенесення необхідних поживних речовин (*тобто* Fe, Cu, Zn та Mo) та доставки їх рослинам тоді, коли вони потрібні. В результаті це не тільки покращує врожайність, але й підтримує харчову якість (вміст білків, вуглеводів та мінералів) рослинної продукції [25].

1.1.2. Наноінкапсуляція та інтелектуальні системи доставки

Розробка інтелектуальних систем доставки агрохімікатів - це перспективний метод цільової доставки, що має численні потенційні переваги. Інкапсульовані агрохімікати демонструють підвищену стабільність та захист від деградації, що відкриває перспективи для зменшення кількості застосовуваних агрохімікатів та підвищення ефективності їх використання [32].

Фунгіциди, інкапсульовані у багат шарові вуглецеві нанотрубки (MWCNT), функціоналізовані лимонною кислотою, мали вищу токсичність проти грибів *Alternaria alternata* порівняно з некапсульованим пестицидом у великій кількості [44, 53].

В традиційному сільському господарстві внесення добрив зазвичай здійснюється шляхом розкидання або позакореневого обприскування, що часто призводить до значних втрат поживних речовин через вимивання або випаровування. Добрива з повільним або контрольованим вивільненням використовуються для того, щоб постачання поживних речовин відповідало поточним потребам рослини, запобігаючи тимчасовому передозуванню, подовжуючи період дії та протидіючи втратам через вимивання. Добрива з повільним вивільненням можуть бути інкапсульовані плівками оксиду графену. Навіть для поживних речовин із високою рухливістю в ґрунті, як-от нітрат калію, інкапсуляція оксидом графену значно подовжує процес вивільнення, а великомасштабне виробництво таких інкапсулятів є можливим за відносно низької вартості [53].

Розумні системи доставки агрохімікатів та органічних молекул, включаючи транспортування молекул ДНК або олігонуклеотидів у рослинні клітини, є потенційними застосуваннями нанобіотехнологій. Це ґрунтується на здатності вуглецевих наноматеріалів проникати через клітинні стінки та мембрани рослинних клітин. Нещодавнє дослідження повідомило про можливість доставки одностінних вуглецевих нанотрубок (SWCNT) та наночастинок церію в ізольовані хлоропласти. Ці наночастинки, пасивно проникаючи через мембрану хлоропласту шляхом дифузії, здатні впливати на фотосинтетичну активність, постачаючи електрони у фотосинтетичний ланцюг електронного транспорту [7, 31, 53].

Окрім сільськогосподарського застосування, CNT також досліджуються як молекулярні транспортери у клітинах тварин для медичних цілей. Паралельно велика увага приділяється дослідженню та розробці методів спрямованої модифікації CNT для запобігання цитотоксичності [1, 18].

1.1.3. Протигрибкові та антибактеріальні засоби

Завдяки протигрибковим властивостям, вуглецеві наноматеріали є перспективними для розробки нових фунгіцидів. Серед різних вуглецевих наноматеріалів, включаючи нанотрубки, фулерени та оксид графену, протестованих проти двох фітопатогенних грибів (*Fusarium graminearum* та *F. poae*), SWCNT продемонстрували найсильнішу протигрибкову активність. Натомість, фулерени та активоване вугілля, що використовувалися в аналізі, були значною мірою неефективними [1, 9].

Важливою передумовою, що визначає протигрибкову активність, є щільний контакт наночастинок зі спорами грибків, що індукує плазмоліз, пов'язаний зі зниженням вмісту води та зупинкою росту [1].

В інших дослідженнях антимікробну активність оксиду графену (GO) пояснювали: індукцією пошкодження мікробних мембран; порушенням мембранного потенціалу та транспорту електронів; оксидативним стресом через збільшення виробництва активних форм кисню (ROS) [20].

Також було виявлено, що антибактеріальні властивості оксиду графену (GO) залежать від розміру листів GO: більші листи GO, що огортають бактеріальні клітини, можуть ефективно ізолювати бактерії від їхнього середовища та демонструвати сильнішу антибактеріальну активність порівняно з малими листами GO. Також базальна площа листів GO, здається, відіграє ключову роль у цьому механізмі, оскільки маскування базальної площини нековалентною адсорбцією білка бичачим сироватковим альбуміном призвело до втрати антибактеріальної активності. Відповідно, щільне склеювання шарів листів GO, щоб уникнути взаємодії бактерій з гострими краями окремих листів GO, але зберігаючи при цьому контакт бактерій з базальною площиною, зберігало антимікробну активність. Ці висновки підкреслюють важливість базальної площини як центрального структурного елемента, що опосередковує антибактеріальні властивості GO [29, 53].

Описані вище CNM з протигрибковими та антимікробними властивостями привернули значну увагу завдяки потенційному застосуванню як нових фунгіцидів та дезінфекційних засобів, придатних для сільськогосподарських цілей (наприклад, для захисту рослин).

1.1.4. Системи сенсорного контролю та точне землеробство

Наноматеріали на основі вуглецю з новими хімічними, фізичними та механічними властивостями використовуються для розробки високочутливих сенсорів та діагностичних пристроїв для численних сільськогосподарських та екологічних застосувань.

Наносенсори демонструють численні принципи роботи, але поширеним способом дії є перетворення фізико-хімічних властивостей у сигнали. Висока чутливість цих пристроїв визначається нанорозміром чутливих елементів, таких як вуглецеві нанотрубки. Тому часто достатньо кількох молекул, щоб вплинути на електричні властивості (хімічне перетворення в електричне) наночастинок. Крім того, велика площа поверхні наноматеріалів на основі вуглецю забезпечує значний простір для взаємодії з молекулами, що реєструються [23, 24].

Розробка нових технологій на основі наноматеріалів, які можна успішно використовувати для легкого, швидкого та високочутливого хімічного аналізу, описано сенсор на основі графену для виявлення забруднення кадмієм у воді, який ефективно працює при концентрації 0,25 мкг/л. Високочутливий сенсор для визначення нікелю не лише у зразках навколишнього середовища, але й у харчових продуктах, базується на модифікованих нанотрубках і має межу виявлення 4,9 нг/л. Сенсори для виявлення пестицидів, гербіцидів та їх метаболітів у зразках навколишнього середовища були розроблені на основі модифікованих багатовуглецевих нанотрубок або на графеновому оксиді. Крім того, наносенсори використовувалися для моніторингу вологості ґрунту [33,53].

Також описані системи моніторингу здоров'я сільськогосподарських культур на основі наносенсорів. У цьому контексті сенсори вуглецевих нанотрубок (CNT) успішно використовувалися для моніторингу *in vivo* утворення активних форм кисню (ROS) у тканинах рослин як індикаторів стресу [46].

1.2. Вплив фулеренів на рослини

З моменту відкриття наноматеріалів на основі вуглецю їхні видатні властивості інтенсивно вивчалися, і були розроблені різні методи синтезу. Основними компонентами для виробництва вуглецевих наноматеріалів є пари вуглецю. Фулерени вперше були отримані В. Кретшмером та Д. Р. Хаффманом у 1990 році шляхом випаровування графітових електродів в атмосфері гелію. Пізніше реактор був модифікований шляхом встановлення електричної дуги між двома графітовими електродами. Утворена сажа конденсується на холодній поверхні реактора, збирається та обробляється в киплячому толуолі, бензолі, ксилолі або інших органічних розчинниках. Після випаровування розчинників утворюється чорний конденсат, що містить близько 10–15% фулеренів C_{60} та C_{70} , а також невелику кількість вищих фулеренів. Залежно від параметрів синтезу, співвідношення між фулеренами C_{60} та C_{70} змінюється, але зазвичай C_{60} являє

собою домінуючу фракцію. Практичне використання фулеренів обмежене через високу вартість та низьку продуктивність методів, доступних наразі для їх синтезу [16].

Проте зважаючи на їх високу біосумісність та екологічність фулерени проявляють несподівані позитивні впливи на організм рослин, виступаючи як антиоксиданти, еліситори, стимулятори росту. Було показано, що фулерен, C_{60} та вуглецеві нанотрубки збільшують водоутримувальну здатність, біомасу рослин та їх врожайність, що є визначним досягненням нанотехнологій останніх років [23].

1.2.1. Поглинання фулеренів та фулеролів

Проростки рису (*O. sativa*), вирощені в гідропонній культурі, демонструють поглинання коренями фулерену та його транслокацію до пагонів та листя. Накопичення спостерігалось в судинних тканинах, навколишніх клітинах та міжклітинних просторах [29, 30].

Подібно до описаних вище гідроксифулеренів, поглинання фулеренів, доданих до вермикулітового субстрату для росту, було виявлено в корневих системах сої (*G. max*), томату (*S. lycopersicum*) та як у коренях, так і в пагонах кабачків (*C. pepo*). Фулерен накопичувався переважно в кореневій тканині, але менші кількості були виявлені також у листках та стеблах. Поглинання фулерену також було зареєстровано для редьки (*Raphanus sativus*), вирощеної протягом 2 тижнів у піщаному субстраті та гідропонній культурі, тоді як субстрат з мінеральної вати обмежував доступність для поглинання рослинами. Хоча основна здатність коренів рослин поглинати фулерени була неодноразово продемонстрована, на жаль, більш детальних досліджень щодо доступності рослинами та поглинання коренями в реальних ґрунтових умовах досі бракує [22, 38].

Було встановлено, що фулероли накопичуються в тканинах та клітинах кореня, стебла, черешка, листків, квітів та плодах гіркої дині (*Momordica charantia*) [25].

Що стосується рослин пшениці, фулерен серйозно блокує структуру пор коренів під час короткого впливу, а також призводить до стиснення та пошкодження структури внутрішньої стінки його ендотеліальних клітин внаслідок екструзії наночастинок [16, 39].

1.2.2. Вплив фулерену та його похідних на проростання насіння

Вплив фулеренів або їхніх похідних на проростання насіння є досить неоднозначним. Так, фулерени, що вносилися у водних суспензіях (10–500 мг/л) або шляхом внесення в ґрунт (1000 мг/кг), не впливали на проростання насіння пшениці (*Triticum aestivum*), рису (*Oryza sativa*), огірка (*Cucumis sativus*) та зеленої лугової (*Vigna radiata*). Автори пояснили відсутність впливу фулеренів на проростання насіння наслідком селективної проникності насінневої оболонки [53].

Похідне фулерену і малонової кислоти не впливало на проростання насіння *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*), найімовірніше, через захисну дію насінневої оболонки [5].

Разом з тим за іншими даними обробка фулеролом пом'якшила негативний вплив водного стресу на проростання насіння, ріст та фотосинтез у *B. napus*. Відповідна доза фулеролу збільшила схожість насіння, надземну біомасу, параметри фотосинтезу та накопичення АБК [50].

1.2.3. Ріст і розвиток рослин за впливу фулерену

Більшість досліджень, що зосереджені на впливі фулеренів на наземні та водні рослини, повідомляють про неоднозначний вплив фулерену C_{60} на ріст і розвиток рослин. Відомо про пригнічення фотосинтезу та поглинання Mg фітопланктоном, що зазнав впливу фулеренів C_{60} . Аналогічно, фулерени пригнічували ріст і накопичення хлорофілу в рясці (*Lemna gibba*) [11, 24].

У дослідженні наземних рослин з використанням фулеренових ґрунтових добавок для іммобілізації залишків пестицидів було зареєстровано зниження

накопичення біомаси при вищих концентраціях фулерену (500–5000 мг/кг ґрунту): до 40% зниження для сої (*Glycine max*), 44% для кукурудзи (*Zea mays*) та 10% для томата (*Solanum lycopersicum*), тоді як пригнічення росту коренів було виявлено у гарбуза (*Cucurbita pepo*) [42].

Відомий потенціал фулеренів щодо збільшення накопичення органічних забруднювачів у рослинах. Відповідно, у живцях тополі дельтоподібної (*Populus deltoides*), вирощених на гідропоніці, накопичення промислового розчинника трихлоретилену, доданого до середовища для росту, збільшилося на 80% у присутності фулерену C₆₀ (15 мг/л). Автори припустили, що комплекс фулерен-трихлоретилен, що утворився в поживному розчині, поглинався рослинами [11, 32].

Хоча фулерени C₆₀ були виявлені переважно в тканинах коренів та на їхній поверхні, автори постулювали кон'юговане поглинання C₆₀ разом із забруднювачем. Аналіз рослинних тканин не виявив жодних порушень мембран, що свідчить про те, що забруднювачі не потрапляли в рослину просто через пошкоджені тканини. Генотипічні відмінності в швидкості поглинання метаболітів DTT у присутності фулерену C₆₀ були зареєстровані у рослин, вирощених на суміші вермикуліту та ґрунту, з інгібуючим ефектом, зафіксованим для кукурудзи (*Z. mays*) та томата (*S. lycopersicum*), але стимуляцією у сої (*G. max*) та кабачків (*C. pepo*) [12, 16].

Цікаво, що в дослідженні, проведеному на суглинному польовому ґрунті, що містить природно старі залишки DDE, не було виявлено жодного впливу змін фулерену C₆₀ на поглинання забруднювачів гарбузом (*C. pepo*). Ці результати свідчать про те, що доступність фулеренів та/або органічних забруднювачів рослинами залежить не лише від властивостей субстрату, але й від відмінностей між видами рослин [32].

На противагу цьому, фулероли, як ОН-функціоналізовані фулерени, часто позитивно впливали на ріст рослин, такий як стимуляція поділу клітин у культурах зелених водоростей *Pseudokirchneriella subcapitata* та росту гіпокотилу у *Arabidopsis* (*A. thaliana*). Протруювання насіння фулеролом навіть

збільшило кількість плодів, розмір плодів та кінцевий урожай у гіркої дині (*Momordica charantia*), а також пов'язане з вищим вмістом біоактивних сполук у плодах, таких як кукурбітацин-В, лікопен, харантін та інулін [25].

Ці результати демонструють перспективи гідроксифулеренів для підвищення врожайності та якості продукції. Однак, подальші дослідження потенційного забруднення харчового ланцюга все ще необхідні, оскільки залишки фулеролу були виявлені в різних органах рослин, включаючи плоди. Точний механізм стимуляції росту рослин, індукований гідроксифулеренами, ще не з'ясований, але може бути принаймні частково пояснений антиоксидантними властивостями, пов'язаними зі здатністю гідроксифулеренів приймати до шести електронів та розподіляти їх між ароматичними кільцями, тим самим діючи як «радикальні губки» [7].

Однак, не всі функціоналізовані фулерени демонструють стимулюючий вплив на ріст рослин. Водорозчинний похідний фулерену-малонової кислоти (FMAD), доданий до середовища для росту, індукував дозозалежне пригнічення подовження коренів до 60% та деформацію кінчиків коренів у *Arabidopsis* (*A. thaliana*), що пов'язано з порушенням транспорту ауксину в кінчиках коренів, абераціями поділу клітин у меристематичній зоні кореня та зменшенням внутрішньоклітинних активних форм кисню (ROS) [11, 31].

Інгібуючий ріст ефект карбоксифулеренів був аналогічно зареєстрований у культурах клітин тютюну (*N. tabacum*), пов'язаний з деформаціями клітинних стінок та коіндукцією оксидативного стресу. Ці результати демонструють, що тип функціоналізації є важливим фактором, що визначає вплив наноматеріалів на рослини [49].

1.2.4. Вплив фулерену та його похідних на стійкість рослин до стресу

Вуглецеві наночастинки становлять потенційну загрозу для росту рослин та їхньої стійкості до стресу. Полігідроксифулерен-фулерол (одна з вуглецевих наночастинок) може збільшувати накопичення біомаси у деяких рослин, що зазнали посухи; однак, основні молекулярні та метаболічні механізми, які

регулюються фулеролом для покращення посухостійкості у *Brassica napus* (ріпаку), досі залишаються нез'ясованими. У цьому дослідженні екзогенний фулерол наносили на листя розсади *B. napus* в умовах посухи. Результати транскриптомного та метаболомного аналізів виявили значні зміни в молекулярних та метаболічних профілях *B. napus* [50].

Диференційно експресовані гени та диференційно накопичені метаболіти, індуковані посухою або обробкою фулеролом, були в основному збагачені шляхами Кіотської енциклопедії генів та геномів (KEGG), які пов'язані з:

метаболізмом вуглеводів (наприклад, «метаболізм вуглецю» та «метаболізм галактози»);

метаболізмом амінокислот (наприклад, «біосинтез амінокислот» та «метаболізм аргініну та проліну»);

метаболізмом вторинних метаболітів (наприклад, «біосинтез вторинних метаболітів»).

Щодо метаболізму вуглеводів, накопичення олігосахаридів (наприклад, сахарози) зменшувалося, тоді як моносахаридів (наприклад, манози та міо-інозитулу) збільшувалося під впливом посухи. Що стосується метаболізму амінокислот, то в умовах посухи накопичення амінокислот, таких як фенілаланін та триптофан, зменшувалося, тоді як глутамату та проліну - збільшувалося. Крім того, щодо метаболізму вторинних метаболітів, у *B. napus*, що зазнав висушування ґрунту, спостерігалось зниження вмісту фенолів та флавоноїдів, таких як гіперозид та транс-3-кумарова кислота [48, 52].

Однак накопичення вуглеводів майже не змінилося у *B. napus*, обробленому фулеролом та за впливу посухи. При дефіциті води накопичення амінокислот, таких як пролін, зменшувалося після обробки фулеролом. Натомість, накопичення фенолів та флавоноїдів, таких як лютеолін та транс-3-кумарова кислота, посилювалося. Тобто фулерол може полегшити інгібуючий вплив посухи на феноли та флавоноїди, таким чином підвищуючи посухостійкість у *B. napus* [50].

Результати досліджень також вказують на те, що застосування фулеролу може ефективно покращити стійкість рослин до стресових умов. Позакореневе обприскування фулеролом зменшило окислювальний стрес цукрових буряків, викликаний посухою. Було висловлено припущення, що фулерол може використовуватися рослинами як поглинач вільних радикалів або як внутрішньоклітинний зв'язувач води в стресових умовах, що дозволяє їм адаптуватися до стресу посухи [4, 8].

Крім того, позакореневе обприскування фулеролом покращило стійкість до посухи у розсади каноли, сприяючи здатності антиоксидантних систем знижувати рівень активних форм кисню (АФК). Аналогічно, обприскування екзогенним фулеролом або його використання для підготовки насіння до сольового стресу покращило антиоксидантний захист, зменшуючи вміст перекису водню у пшениці за сольового стресу [45].

1.3. Вплив посухи на фізіолого-біохімічний стан рослин

Рослини у природних та сільськогосподарських умовах протягом свого росту і розвитку стикаються з різноманітними екологічними стресами. Одним із найбільш значних екологічних стресів, що негативно позначаються на продуктивності рослин, є посуха. Близько 80–95% свіжої біомаси рослинного організму складається з води, яка відіграє вирішальну роль у різних фізіологічних процесах, зокрема в багатьох аспектах росту, розвитку та метаболізму рослин. Як наслідок, деякі дослідники вважають посуху ключовим екологічним стресом для різних видів рослин, особливо в посушливих регіонах. Більше того, її називають єдиною найважливішою загрозою для глобальної продовольчої безпеки в майбутньому, а також каталізатором значних голодоморів у минулому [3].

Вплив посухи на сільське господарство посилюється через скорочення водних ресурсів та зростання попиту на продукти харчування, спричинене тривожним збільшенням населення світу. Непередбачуваність явища посухи

залежить від таких різних факторів, як нерівномірний та ненадійний розподіл опадів, евапотранспірація (випаровування води) та здатність ризосфери (кореневої зони) утримувати воду. Крім того, у деяких випадках рослини не можуть поглинати воду з ґрунту, навіть якщо в кореневій зоні достатньо вологи. Це явище відоме як фізіологічна посуха або псевдопосуха [2].

В умовах посухового стресу погіршуються різні молекулярні, біохімічні, фізіологічні, морфологічні та екологічні характеристики й процеси в рослинах. Середовище з дефіцитом води негативно впливає на врожайність та якість рослин [14].

Ключовими факторами, що визначають реакцію рослин на посуху, є стадії росту, вік, вид рослин, а також інтенсивність і тривалість самої посухи [15]. Своєю чергою, механізм стійкості до посухи відрізняється залежно від виду рослин. Таким чином, рослини здатні зменшувати використання ресурсів і коригувати свій ріст, щоб впоратися з такими несприятливими умовами довкілля, як посуха [3]. Посилення цих реакцій на стрес від посухи забезпечується різноманітними молекулярними мережами, такими як ті, що беруть участь у передачі сигналів. Продихова регуляція рослин шляхом посилення транспорту іонів, активності факторів транскрипції та сигналізації абсцизової кислоти (АБК) також задіяна в молекулярних механізмах відповіді рослин на стрес від посухи [3].

Рослини використовують три основні групи механізмів для захисту від негативного впливу посухи на їхню продуктивність: втеча (escape), уникнення (avoidance) та толерантність (tolerance).

1. Механізм втечі (Drought Escape)

Цей механізм передбачає стратегії, які дозволяють рослинам уникнути найбільш посушливого періоду. До них належать:

- Швидкий розвиток та скорочення життєвого циклу.
- Саморозмноження та сезонний ріст, що відбувається до настання найсухішої частини року.

- Раннє цвітіння є, мабуть, найкращим адаптивним механізмом. Хоча ця стратегія може значно скоротити тривалість вегетаційного періоду, а отже, і кінцеву продуктивність рослин [8].

2. Механізми уникнення (*Drought Avoidance*)

Стратегія уникнення сфокусована на підтримці високого водного потенціалу в рослині, незважаючи на дефіцит води в ґрунті, завдяки:

- Зменшенню втрат води через продихову транспірацію.
- Збільшенню поглинання води за рахунок добре розвиненої кореневої системи.
- Використанню ксероморфних характеристик, таких як волосисте листя та товста кутикула, що допомагають зберегти високий водний потенціал у тканинах. Варто зазначити, що надмірний розвиток цих структур може знизити продуктивність рослини та зменшити середній розмір вегетативних і репродуктивних частин [43].

3. Механізми толерантності (*Drought Tolerance*)

Адаптивний механізм толерантності дозволяє рослинам витримувати низький водний потенціал у тканинах, що досягається за допомогою:

- На рівні фотосинтетичного апарату: Зменшення площі листя та обмеження розширення нового листя.
- Екзоморфні ознаки: Утворення трихом (волосків) на обох боках листя, що дає змогу рослині переносити дефіцит води. Ці структури знижують температуру листя, підвищуючи відбиття світла та створюючи додатковий шар опору втраті води, мінімізуючи швидкість транспірації. Однак надмірний розвиток цих структур має цінність для рослини з точки зору зниження продуктивності рослин та зменшення середнього розміру вегетативних та репродуктивних частин рослини.
- Зміни в кореневій системі (розмір, щільність, довжина, проліферація, швидкість росту) широко визнані як основний спосіб подолання дефіциту води у посухостійких рослин [47].-

- Інші поширені стратегії: Осмотична регуляція, механізм антиоксидантного захисту, накопичення розчинених речовин, закриття продихів (метаболічна/біохімічна динаміка) та збільшення співвідношення корневих пагонів [48].

1.4. Підходи до пом'якшення негативних наслідків стресу, спричиненого посухою на організм рослин

Підходи до пом'якшення негативних наслідків стресу, спричиненого посухою включають використання оптимальних методів управління, пов'язаних із термінами посіву, густотою рослин, генотипом, а також менеджментом ґрунту та поживних речовин, що може сприяти зменшенню втрат урожаю зерна у польових культурах, що піддаються стресу від посухи [27, 41].

Проте застосування трансгенних рослин з проявами стійкості до посухи, ймовірно, є найбільш популяризованим підходом для пом'якшення посухового стресу і тим, якому наразі приділяється найбільше уваги. Для розробки посухостійких рослин за допомогою традиційних методів селекції вживаються різні зусилля, зокрема селекція, молекулярні та геномні підходи, з акцентом на покращення ефективності вилучення води, ефективності її використання, продихової провідності та осмотичних регулювань [14].

Додаткові стратегії включають впровадження сучасних та більш ефективних методів зрошення, належних практик посадки, мульчування, контурування, осмопротектантів та інокуляцію рослин специфічними мікроорганізмами, що підвищують стійкість до посухи [15].

Стратегії відбору та розведення. Традиційні методи селекції, які використовувалися дотепер, базувалися на емпіричному відборі за врожайністю. Низька спадковість, з одного боку, та сильна взаємодія генотипу та середовища, з іншого, є основними чинниками, що визначають кількісну ознаку врожайності основних сільськогосподарських культур. Таким чином, традиційна селекція практикується для підвищення врожайності. Розуміння фізіологічних процесів

рослин є необхідною умовою для відбору локусів кількісних ознак, визначення послідовностей генів та інтрогресії локусів кількісних ознак. Через нерегулярну, ненадійну та непередбачувану реакцію на посуху, скринінг стійких сортів неможливий у відкритих умовах, проте він керований у захищених та/або контрольованих умовах [15].

І навпаки, експресія випадково відібраних нащадків для покращення стійкості до посухи у різноманітних середовищах є ефективним підходом, відомим як класична селекція. Сорти з низькими показниками транспірації та незмінною ЕВВ (Ефективністю використання води) у нестресових умовах не впливають на кінцевий урожай. Вчені працюють над генетичним аналізом архітектури кореня, відносного вмісту води та осмотичного потенціалу. Необхідно зосередити увагу на ознаках, що сприяють урожайності, які є високо спадковими та впливають на врожайність зерна саме в умовах посухи, але не в оптимальних умовах, виходячи з можливості їх вимірювання [21].

Тим не менш, вони демонструють широку спадковість для врожайності в сільськогосподарських системах з обмеженою кількістю води і часто не взаємодіють з врожайністю зерна. Коли рослини зазнають стресу від посухи, найважливішим фактором, який проявляється першим за таких обставин, є перешкоджання можливості виживання після посухи (ЕВВ), яка відрізняється для різних сортів та культиварів. За цих обставин рослини зменшують щільність продихів та розмір листя, тим самим мінімізуючи втрати води та підтримуючи внутрішній водний баланс. Отже, певні генотипи та культивари, які чутливі до посухи та не здатні адаптуватися до умов навколишнього середовища, призводять до низької ЕВВ. Тому за допомогою селекційного підходу ЕВВ можна покращити для отримання сталої продукції сільськогосподарських культур у біомасі на одиницю використаної води [41].

Посухостійкість індукується прямо чи опосередковано у видів сільськогосподарських культур через генетичну мінливість ознак і, таким чином, має потенціал до покращення шляхом селекції. Маркеровий відбір (MAS) та геномний відбір (GS) – це два основні підходи геномного відбору. Для першого

підходу початковим кроком є ідентифікація молекулярних маркерів, пов'язаних з ознакою, що цікавить, що є необхідною умовою для відбору в програмах селекції [15].

Однак GS залежить від прогресу моделей відбору, заснованих на генетичних маркерах, присутніх у всьому геномі, та відборі оціночних племінних цінностей геному (GEBV) у племінних популяціях шляхом фенотипування навчальної популяції. MAS є ключовою частиною багатьох програм селекції сільськогосподарських культур протягом кількох десятиліть, а GS є відносно новим, оскільки його лише нещодавно почали застосовувати до сільськогосподарських культур [10].

Підходи аграріїв та підготовка насіння. Рослини застосовують різні підходи та стратегії для пом'якшення негативних наслідків стресу від посухи. Аграрії також використовують різні стратегії для підвищення стійкості до стресу від посухи, серед яких застосування екзогенних регуляторів, хімікатів, синтетичних гормонів та сполук має велике значення для підвищення посухостійкості на різних стадіях росту рослин [17, 29].

Праймування насіння вважається найважливішим короткостроковим підходом до пом'якшення негативного впливу посухи на рослини. Метою цієї передпосівної методики є ініціювання процесу проростання в метаболічному апараті насіння та підготовка насіння до проростання корінців без їх появи під час цього процесу [39].

Процес проростання первинного насіння є ефективнішим, що призводить до вищих показників схожості та однорідності порівняно з непраймованим насінням. У таких культурах, як пшениця, кукурудза та нут, праймування насіння використовується для пом'якшення негативного впливу стресу від посухи. Краща схожість та кращий урожай спостерігалися щодо праймованого насіння в районах з нестачею води. Оптимальний урожай, краща врожайність, здатність протистояти посусі, раннє та синхронізоване проростання з подальшим появою сходів пов'язані з праймуванням насіння [39, 42].

Праймоване насіння покращило ефективність використання рослин для вирощування насіння на 44% у посівах пшениці, ніж непраймоване насіння, в умовах водного стресу. Високий урожай зерна з ранніми сходами та цвітінням призвів до праймованого насіння в середовищах з обмеженим вмістом води. Аналогічно, осмопраймування з та гідропраймування підвищили врожайність деяких культур в умовах дефіциту води [43].

Гідроксил-модифікований фулерен (фулерол) у концентрації 200 мг/л при зрошенні насіння томатів сприяв збільшенню кількості фотосинтетичних пігментів у листках томатів, посиленню інтенсивності росту рослин, розміру плодів та вмісту лікопіну в них, порівняно з контрольною групою. Фулерол покращував експресію генів аквапоринів плазматичної мембрани, що покращувало проникність води та розчинних речовин по всьому рослинному організму [16].

Крім того, при тривалому впливі наночастинок було відзначено посилення антиоксидантних властивостей, а саме: підвищення активності ферментів каталази та пероксидази, зниження активності супероксиддисмутази (СОД). Дослідники припускають, що це зниження обумовлене здатністю фулеролу брати на себе функцію видалення радикалів, яку зазвичай виконує СОД у клітинах томатів [4, 16].

Обробка насіння гіркої дині (*Momordica charantia*) фулеролом сприяла не лише збільшенню біомаси рослин та врожайності, але й підвищенню утворення біологічно активних речовин, цінних для фармації: кукурбітацину-В та лікопіну, харантину та інсуліну (протидіабетичні фітопрепарати) [25].

Було показано, що під дією наночастинок водорозчинних фулеренів на проростки кукурудзи за кобальтового стресу пероксид водню видалявся з тканин через неферментні/ферментні системи, пов'язані з циклом аскорбат-глутатіон. Цей процес відбувався завдяки збереженню конверсії аскорбату, співвідношення глутатіону/дисульфиду глутатіону, а також окисно-відновного стану глутатіону [11].

Застосування фулеренів також зменшило гальмівний вплив кобальту на засвоєння азоту та підвищило активність ключових ферментів азотного метаболізму у хлоропластах кукурудзи, зокрема нітратредуктази, глутаматдегідрогенази, нітритредуктази, глутамінсинтетази.

Нанопраймування насіння пшениці фулеренолом у різних концентраціях перед вирощуванням в умовах соляного стресу дало позитивні результати щодо алометричних показників та фізіологічних процесів. Відмічали відновлення чистого коефіцієнту асиміляції порівняно з контролем. Покращувався метаболізм активних форм кисню (АФК) і знижувалися показники окисного стресу. Обробка насіння фулеренолом сприяла внутрішньотканинній регуляції надмірних концентрацій Na^+ за рахунок кращого поглинання іонів K , Ca та P , що оптимізувало їх співвідношення [39, 43].

В цілому, автори відзначали збільшення врожайності зерна у праймованої пшениці порівняно з рослинами, які зазнавали лише стресового впливу. Крім того, зібране насіння демонструвало кращу схожість та морфометричні показники (довжина і біомаса пагонів та коренів) [39].

Позакореневе внесення фулеренулу може змінювати внутрішньоклітинний метаболізм води в рослинах цукрового буряка в умовах посухового стресу. Автори припускають, що наночастинки фулеренулу здатні приєднувати значну кількість молекул води в шарах навколо ядра, виступаючи таким чином своєрідним осмолітом. Вода вивільняється лише тоді, коли осмотичний потенціал клітин знижується настільки, що сила дифузії стає більшою, ніж сила водневих зв'язків між молекулами води та фулеренолом [8].

Посуховий стрес зазвичай спричиняє збільшення вмісту проліну (низькомолекулярного осмоліту) в листках. Однак у оброблених фулеренолом рослинах цукрового буряка вміст проліну не змінився (на відміну від необроблених контрольних рослин), що може підтверджувати гіпотезу про функцію осмоліту, яку взяв на себе фулерол. Разом з тим, фулеренол послаблює окислювальні ефекти посухового стресу [14].

Обробка ріпаку фулеролом в умовах посухового стресу сприяє зростанню вмісту абсцизової кислоти (АБК) за рахунок зниження експресії її катаболічного гену, а його позакореневе внесення стимулює проростання насіння, збільшення сухої маси та інтенсивності фотосинтезу проростків ріпаку [7].

Фулерол також пригнічує накопичення активних форм оксигену (АФК), сприяє підвищенню концентрацій неантиоксидантних речовин та активності антиоксидантних ферментів у листі за умов водного дефіциту.

Застосування фулеролу в концентраціях 25-200 мг/л сприяє проростанню насіння пшениці сортів CW131 і VM1 в умовах посухового стресу. Найвища ефективність щодо висоти рослин та росту коренів відмічається при концентрації 50 mg L⁻¹. У рослин, вирощених з обробленого фулеролом насіння в умовах водного дефіциту, спостерігалися нижчі рівні АФК і МДА, а також вища активність антиоксидантних ферментів [4].

За умов посухи листки молодих рослин ріпаку зазвичай накопичують первинні метаболіти (моносахариди: маноза, міоїнозит; амінокислоти: глутамін, пролін), які забезпечують осмотичну адаптацію [14].

Проте у рослин *V. parvis*, додатково оброблених фулеролом, не відмічали відмінностей у накопиченні вуглеводів, накопичення амінокислот зменшувалося, але зростало утворення фенольних речовин та флавоноїдів, зокрема лютеоліну і транс-3-кумарової кислоти [50].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1. Реактиви та обладнання

Дослідження проводилися з використанням водних колоїдних розчинів фулерену C₆₀, які були синтезовані та охарактеризовані у хімічній лабораторії Інституту біотехнологій Технічного університету Ільменау (Німеччина). Ці стабільні наноструктуровані частинки вуглецю, з вихідною концентрацією 0,15 мг/мл, були люб'язно надані професором Уве Ріттером для наукової роботи.

Для експериментів ми підготували чотири робочі концентрації C₆₀: від 0,1 мкг/мл до 1 мкг/мл.

Перелік використаних матеріалів включав стандартні лабораторні реагенти, зокрема перекис водню (0,03%), етиловий спирт (96%), розчин молібдату амонію (4%), карбонат кальцію та фосфатний буфер (1М, рН 7,8), Nitric Oxide Assay Kit (Colorimetric).

Ключовим інструментом для вимірювань був спектрофотометр UVmini-1240 виробництва SHIMADZU (Японія), що охоплює УФ-видимий діапазон та ІЧ-діапазон.

Також в роботі використовувалося допоміжне обладнання: рН-метр ADWA AD 1030, центрифуга CM-3M, лабораторні ваги TBE та водяна баня ВБ-10 (все виробництва MICROmed/Техноваги).

2.2. Об'єкт дослідження

Для проведення експериментальних робіт був обраний сорт гороху посівного (*Pisum sativum*) з назвою Esso. Використовувалося сертифіковане насіння першої генерації (СН1). Посівний матеріал врожаю 2024 року придбаний у компанії "ОСЕВА".

Сорт гороху Esso є інтенсивним, безлисточковим сортом ярого гороху, зареєстрованим у 2017 році, який використовується як на корм, так і для

продовольчих цілей. Він характеризується високою урожайністю, стійкістю до полягання та осипання, а також відмінними показниками вмісту білка в зерні.

Цей сорт відзначається високою стійкістю до посухи, демонструючи показники від 8,3 до 8,5 балів із максимальних 9, що однозначно класифікує його як посухостійкий. Додаткові агрономічні переваги сорту включають:

Стійкість до вилягання: 7,0–7,6 балів.

Стійкість до осипання: 7,9–8,5 балів [40].

Організація експерименту. Для точної імітації розвитку рослин в природних умовах, було використано універсальну ґрунтосуміш. Це дозволило краще імітувати умови посухи, оскільки ґрунт здатний довше утримувати вологу. Крім того, в досліді було додатково проаналізовано, як фулерен C_{60} впливає на мікрозелень саме в умовах дефіциту води. Порівняння результатів здійснювалося з двома контролями: контроль із нормальним поливом та контроль із повністю відсутнім поливом.

Для проведення експерименту була проведена ретельна попередня обробка насіння.

1. Промивання: спершу насіння промили під проточною водою для видалення поверхневих забруднень.
2. Відбраковування (селекція): було відібрано та вилучено насіння, що мало видимі пошкодження оболонки, ознаки ураження шкідниками або інші дефекти.
3. Визначення життєздатності з використанням сольового розчину:
 - 2 літри води нагрівали до 39 °C.
 - додавали 40 г кухонної солі (NaCl) і ретельно розмішували до повного розчинення.
 - в приготований розчин всипали відібране насіння. Протягом 10 хвилин відбувалося розділення: придатний для вирощування горох опускався на дно, а непридатний залишався плавати на поверхні.

4. Стимуляція проростання: для прискорення вегетації насіння замочували у розчині борної кислоти (0,02%) протягом 25 хвилин. Після цього насіння тричі промивали під проточною водою.

5. Стерилізація: насіння знезаражували, витримуючи його в 3 % розчині перекису водню (H_2O_2) протягом 15 хвилин. Залишки перекису видаляли триразовим промиванням проточною водою.

Було підготовлено десять ємностей (5 варіантів для достатнього поливу, 5 варіантів для імітації посухи (табл. 2.1., табл. 2.2).

Таблиця. 2.1.

Режим поливу дослідних груп за нормального водного балансу

Контейнер	Рідина	Концентрація C_{60}	Об'єм рідини
Групи із забезпеченням достатнього поливу			
1	дистильована вода	контроль (0 мкг/мл)	50 мл
2	Розчин C_{60}	1 мкг/мл	50 мл
3	Розчин C_{60}	0,5 мкг/мл	50 мл
4	Розчин C_{60}	0,2 мкг/мл	50 мл
5	Розчин C_{60}	0,1 мкг/мл	50 мл

6. Замочування: у кожен ємність поміщали по 20 насінин. Час замочування становив 4 години 30 хвилин.

7. Висадка: після завершення замочування насіння виймали та переносили у відповідні лотки, наповнені ґрунтосумішшю. Горох рівномірно висівали і розміщували на підвіконні для проростання (рис.2.1).

8. Вимірювання: вимірювання та збір даних проводили через 16 днів після посіву.

Під час культивування гороху в експерименті № 2 для створення умов посухи було застосовано методологію, відому як в'янення за Тумановим [Кириченко В. В]. Цей підхід передбачає, що рослини спочатку вирощують до певної фази, після чого повністю припиняють зрошення і відновлюють подачу води лише тоді, коли спостерігаються ознаки в'янення рослин (табл.2.2).



Рисунок 2.1. Посадка насіння у ґрунтосуміш

У нашому дослідженні припинення поливу відбулося на другий день після початку експерименту, коли насіннєвий матеріал уже проріс. Зрошення було відновлено за одну добу до запланованого збору даних і проведення вимірювань.

Таблиця. 2.2.

Режим поливу дослідних груп за імітації посухи

Контейнер	Рідина	Концентрація C_{60}	Полив
Групи із імітацією посухи			
1	Дистильована вода	контроль (0 мкг/мл)	в'янення за Тумановим
2	Розчин C_{60}	1 мкг/мл	в'янення за Тумановим
3	Розчин C_{60}	0,5 мкг/мл	в'янення за Тумановим
4	Розчин C_{60}	0,2 мкг/мл	в'янення за Тумановим
5	Розчин C_{60}	0,1 мкг/мл	в'янення за Тумановим

Ті дослідні зразки, які не були об'єктом вивчення впливу посухи, поливалися відповідно до їхніх потреб, тобто для них підтримувався постійно зволожений стан ґрунту.

2.3. Вирощування мікрозелені гороху в умовах лабораторії

Для успішного вирощування мікрозелені не потрібні сприятливі погодні умови чи посів на відкритому ґрунті. Цій рослинній формі достатньо контейнера з відповідним наповнювачем або субстратом. Як середовища для пророщування можна використовувати широкий спектр матеріалів, включаючи вату, марлю, гідрогель, спеціалізовані лляні чи кокосові килимки, папір, або ж традиційну ґрунтосуміш (рис.2.2).

Мікрогрін вважається невибагливим до середовища культивування. Оскільки основна мета полягає у швидкому пророщуванні до фази мікрозелені, а не в повноцінному культивуванні до збору врожаю, велика кількість зовнішніх поживних речовин не потрібна.



Рисунок 2.2. Мікрозелень гороху вирощена на ґрунтосуміші

Для початкового росту паросткам цілком вистачає власних запасів насіння, а також доступу до води та світла. У рамках нашого експерименту було задіяно універсальну ґрунтосуміш від бренду «Флоріада». Згідно з документацією, склад цієї ґрунтосуміші включає дернову землю, торф верховий, торф низинний, річковий пісок, а також збагачений мінеральними добривами (азот N, фосфор P,

калій К) та необхідними мікроелементами (залізо Fe, цинк Zn, бор В, мідь Сu, молібден Мо, марганець Mn). Показник кислотності (рН) ґрунту підтримується в оптимальному діапазоні 5,5–7,5.

Для забезпечення оптимального проростання насіння найкращими є температурні умови в діапазоні від 17 до 23 °С [26]. Важливо підтримувати ці значення в межах зони толерантності, щоб не допустити переходу до зони песимуму, оскільки це неминуче негативно позначиться на рості та загальному розвитку рослинного організму.

У нашому експерименті середня зафіксована температура культивування гороху становила 18 °С. Горох класифікується як рослина довгого дня, тобто при значному збільшенні тривалості фотоперіоду (до 18–24 годин) його розвиток помітно прискорюється. Цвітіння і подальше плодоношення зазвичай ініціюються, коли світловий день досягає приблизно 13 годин.

Оскільки в нашому дослідженні головна мета полягала в отриманні та вивченні лише вегетативних органів гороху (кореня, стебла та листя), слід врахувати, що розвиток цих структур може успішно відбуватися і в умовах короткого дня [41].

Отже, на початкових стадіях росту тривалість світлового періоду не є критично важливим фактором. У нашому експерименті рослини піддавалися освітленню протягом 14 годин на добу.

2.4. Оцінка морфометричних показників гороху

Морфометричне дослідження показників рослин гороху проводилося на 16-ту добу від моменту висадки рослин у ґрунт.

Для всебічної статистичної оцінки росту були обрані наступні ключові біометричні параметри:

- висота пагона;
- діаметр головного стебла;
- загальна кількість листків;

- довжина кореневої системи;
- загальна сира маса рослини;
- маса всієї листкової поверхні.

На основі цих первинних даних згодом розраховувалися додаткові інтегральні індекси:

- співвідношення маси листків до загальної маси рослини (що відображає фотосинтетичне зусилля),
- відношення висоти пагона до маси рослини (як індикатор відносного приросту основного пагона),
- співвідношення висоти пагона до його діаметра.

Обсяг вибірки зразків рослин гороху для цих вимірювань становив у досліді з використанням системи достатнього поливу 5 рослин з кожної дослідної групи (рис. 2.3) та досліді з імітацією посухи 6 рослин з кожної дослідної групи (рис. 2.4).



Рисунок 2.3. Контрольна група досліді, в якому застосовували достатній полив



Рисунок 2.4. Контрольна група дослід, в якому застосовували імітацію посухи за методом Туманова

2.5. Оцінка вмісту пігментів у мікрозелені за використання спектрофотометричного методу

Для кількісного визначення фотосинтетичних пігментів у горосі з кожної дослідної проби відбирали точну масу листя 100 ± 5 мкг. Збір цього рослинного матеріалу охоплював усі рослини, присутні у відповідній пробі (рис.2.5. А).

Натомість, для оцінки активності каталази було використано більшу масу рослинного матеріалу, що становила 250 ± 5 мкг. Важливо зазначити, що для аналізу каталази відбирали не лише листя, але й стебла, оскільки каталітична активність цього ферменту проявляється у всій рослині, тоді як пігменти переважно сконцентровані в тканині листків (рис. 2.5. Б).



Рисунок 2.5. Наважки рослинного матеріалу мікрозелені гороху: А - визначення вмісту пігментів, Б – дослідження активності каталази.

Визначення вмісту фотосинтетичних пігментів здійснювалося спектрофотометричним методом у спиртових екстрактах, отриманих з листя. Процедура екстракції розпочиналася з розтирання відібраного листя у ступці з додаванням CaCO_3 (карбонату кальцію) до утворення гомогенної маси. До отриманої маси додали 2-3 мл 96 % етанолу, після чого отриману суміш фільтрували у хімічну пробірку. Об'єм кожної пробірки підводили додаванням етанолу до 10 мл. Ця послідовність дій була ідентичною для кожної дослідної проби (рис.2.6).

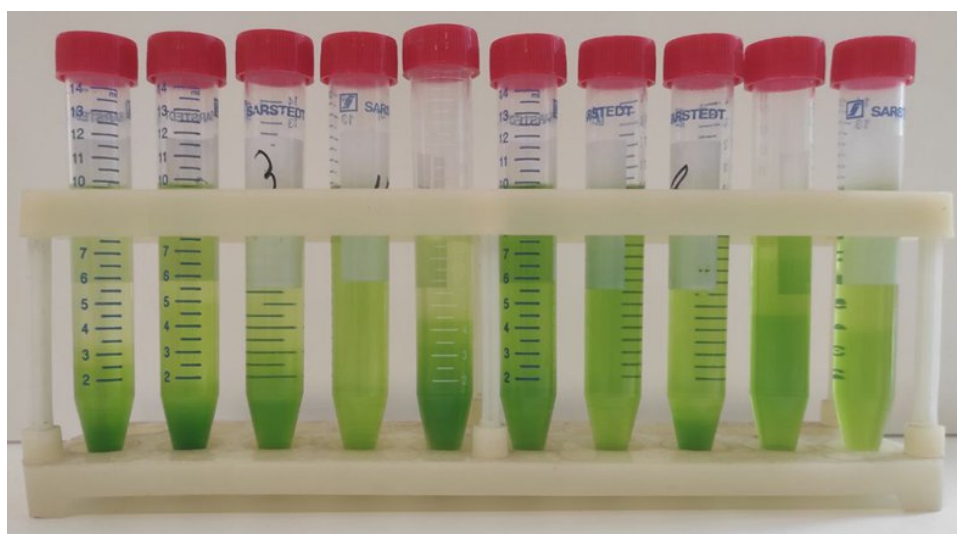


Рисунок 2.6. Фотосинтетичні пігменти, виділені з мікрозелені гороху

Наступним кроком було перенесення кожного зразка екстракту в кварцову кювету для вимірювання оптичної густини (рис.2.7).



Рисунок 2.7. Кварцова кювета з екстрактом фотосинтетичних пігментів мікрозелені гороху

Поглинання вимірювали при трьох специфічних довжинах хвиль, що відповідають максимумам поглинання основних груп пігментів: каротиноїди - 441 нм, хлорофіл *b* - 649 нм та хлорофілу *a* - 665 нм.

2.6. Визначення активності каталази у рослинах гороху спектрофотометричним методом

Каталаза (КФ 1.11.1.6) належить до надзвичайно поширених ферментів, що притаманний майже всім аеробним живим організмам, зокрема бактеріям, рослинам та тваринам. Її ключова функція полягає у каталізі реакції розкладання токсичного пероксиду водню на воду та кисень.

Для спектрофотометричного визначення активності каталази рослинний матеріал гомогенізували у порцелянових ступках. Процес розтирання проводили на охолоджувальних елементах, додаючи 1 М фосфатний буфер. Усі реактиви та

лабораторний посуд повинні бути охолоджені для збереження стабільності ферментативної активності каталази. Далі гомогенізований біоматеріал переносили у хімічні пробірки, доводячи кінцевий об'єм до 5 мл. Після повторення цієї процедури для всіх зразків, пробірки піддавали центрифугуванню протягом 10 хвилин при 3000 об/хв.

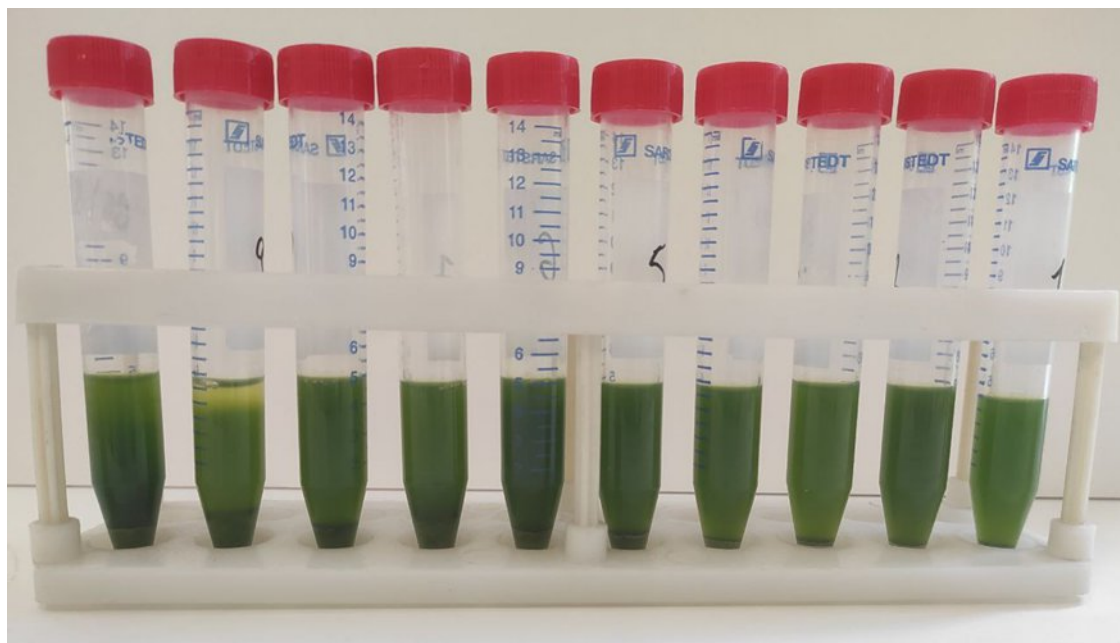


Рисунок 2.8. Гомогенат мікрозелені гороху, приготовлений на фосфатному буфері, після центрифугування

Для наступного етапу дослідження, після центрифугування вихідного матеріалу, з отриманих зразків супернатанту відбирали аліквоту об'ємом 100 мкл. Цей об'єм переносили у відповідні пробірки, куди попередньо було додано 1 мл 0,03% розчину пероксиду водню. Далі здійснювали інкубацію реакційної суміші у термостатованих умовах на водяній бані при температурі 37 °C протягом 10 хвилин. Після завершення визначеного інтервалу, для припинення ферментативного процесу, у кожен пробірку вводили 1 мл розчину молібдату амонію.

З метою точного розрахунку показників активності ферменту, паралельно готували дві категорії контрольних проб: холостий контроль (blank), у якому розчин пероксиду водню замінювали на еквівалентний об'єм дистильованої води, та контроль реакції, де замість зразка супернатанту використовували

дистильовану воду. Фінальним кроком була спектрофотометрія: усі підготовлені проби переносили у кварцові кювети для визначення екстинкції, яке виконували при $\lambda=410$ нм (рис.2.9).

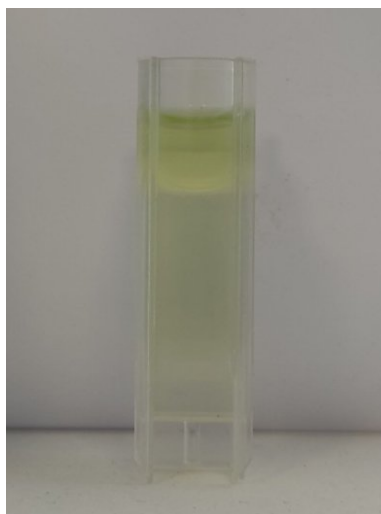


Рисунок 2.9. Зразок підготовлений для спектрофотометрії з визначенням каталазної активності в паростках гороху.

Ця методика характеризується високою чутливістю та відтворюваністю, що забезпечило надійність отриманих експериментальних даних, необхідних для коректного розрахунку та інтерпретації фізіологічних показників.

2.7. Визначення концентрації NO у рослинному матеріалі

Визначення концентрації NO у рослинному матеріалі проводили з використанням готового набору реактивів Nitric Oxide Assay Kit (Colorimetric). Набір для визначення оксиду азоту (колориметричний) передбачає використання нітратредуктази та реагенту Грісса. Він може бути використаний для кількісного визначення як загального рівня нітратів/нітритів, так і рівня нітратів та нітритів окремо. Зчитування на будь-якому колориметричному (540 нм) СФ.

Принцип аналізу оксиду азоту

- на першому етапі нітрат перетворюється на нітрит за допомогою нітратредуктази

- на другому етапі за допомогою реагенту Грісса нітрит перетворюється на темно-фіолетове азосполучення (540 нм).

Кількість азохромофору точно відображає кількість оксиду азоту в зразках.

Аналіз вимірює загальний рівень нітратів + нітритів. Для окремого вимірювання рівня нітратів і нітритів зразки також можна аналізувати без нітратредуктази, щоб виміряти рівень нітритів, а рівень нітратів розраховується шляхом віднімання рівня нітритів від загального рівня нітратів + нітритів.

Короткий опис протоколу аналізу оксиду азоту.

- додати зразки та стандарти в пробірки;
- додати нітратредуктазу та кофактор ферменту та інкубувати протягом 1 години при кімнатній температурі для перетворення нітратів у нітрити.
- додати підсилювач та інкубувати протягом 10 хвилин при кімнатній температурі
- додати реагент Грісса R1 та реагент Грісса R2
- проаналізувати за допомогою СФ за довжини хвилі 540 нм.

2.8. Статистична обробка отриманих результатів

З метою забезпечення достовірності та об'єктивності експериментальних даних, отриманих під час морфометричної оцінки гороху, визначення вмісту пігментів (зокрема, хлорофілу *a*, хлорофілу *b* та каротиноїдів) і вимірювання активності каталази, була проведена комплексна статистична обробка.

Обробка даних виконувалася за допомогою дисперсійного аналізу (ANOVA) та програмного забезпечення Microsoft Excel 2021.

У рамках статистичного аналізу були виконані наступні операції:

- Розрахунок стандартної похибки та стандартного відхилення для оцінки варіабельності даних.
- Проведення однофакторного та багатфакторного дисперсійного аналізу для встановлення значущості впливу різних факторів на досліджувані показники.

Цей підхід дозволив не лише оцінити середні значення, але й достовірно підтвердити статистичну значущість отриманих відмінностей між експериментальними групами.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Аналіз показників росту та морфометричних характеристик мікрозелені гороху за дії посухи

Тривалий дефіцит вологи у природному середовищі, відомий як посуха, викликає зневоднення ґрунту, що критично впливає на рослинний покрив і знижує врожайність агрокультур. Рослини реагують на стрес посухи низкою морфологічних та анатомічних змін, що є результатом складних клітинних, фізіологічних та біохімічних механізмів. Основна мета цих захисних адаптацій - скорочення втрат води через транспірацію та оптимізація водоспоживання [14].

Дослідження морфометричних показників мікрозелені гороху показало, що посуха суттєво зменшувала всі досліджувані параметри рослин – висоту та діаметр головного пагона, кількість листків, загальну масу рослини та масу усіх листків, довжину кореня.

Так аналіз результатів дослідження показав, що під дією посухи суттєво зменшилась висота головного пагона гороху на 63,2 %, а також довжина коренів 37,1 % порівняно з рослинами які мали достатній полив (рис.3.1, рис.3.2).

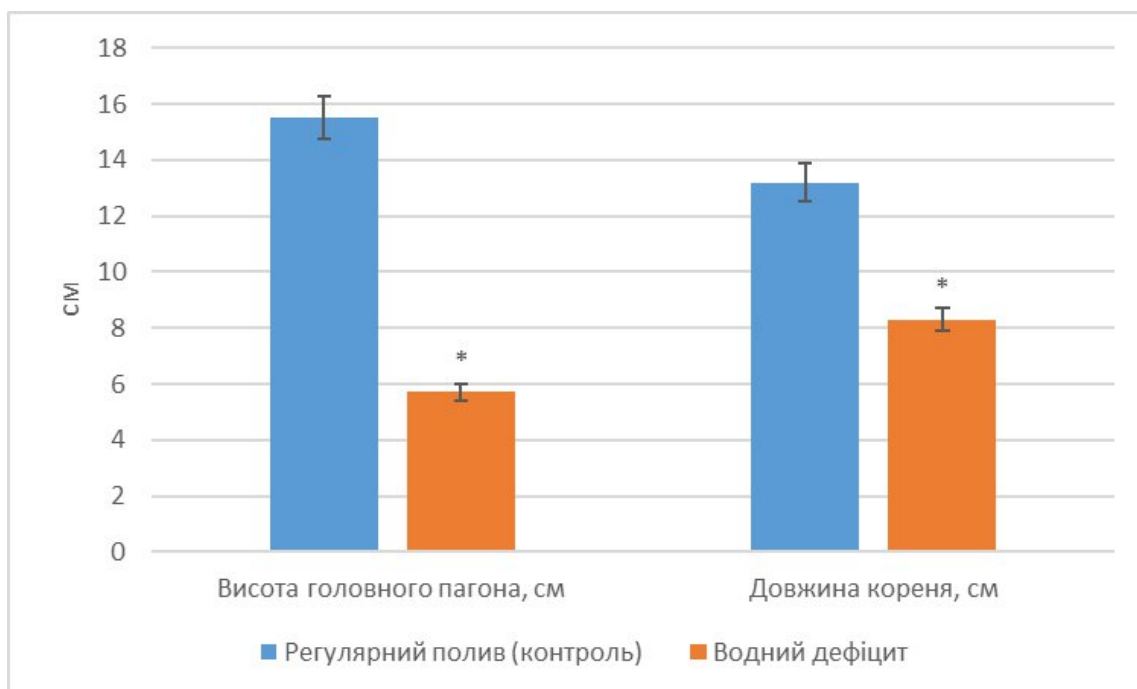


Рисунок 3.1. Висота головного пагона гороху та довжина коренів гороху за достатнього поливу та дії посухи, см

* - $p < 0,05$ порівняно з контролем

Варто зазначити, що пригнічення росту кореня менш виражене, порівняно з пагоном, тобто коренева система в умовах посухового стресу відіграє більш пріоритетну роль, оскільки ріст кореня в таких умовах є необхідним механізмом адаптації рослини, який дозволяє досягти більш вологих шарів ґрунту [47].



Рисунок 3.2. Морфометричні параметри рослин гороху за достатнього поливу та дії посухи

Аналогічний напрямок змін відмічали і щодо інших показників, а саме: зменшення діаметра головного пагона 26,7%, кількості листків на 28,6%, загальної маси рослин гороху на 48,5% порівняно з рослинами, які вирощувались за достатнього зволоження (рис.3.2).

Імовірною причиною зменшення діаметра стебла є порушення функціонування механізмів, що забезпечують його ріст – зміна тургору в клітинах пригнічує їх радіальне розширення, а лігніфікація стебла є пристосуванням для зменшення втрат вологи [21].

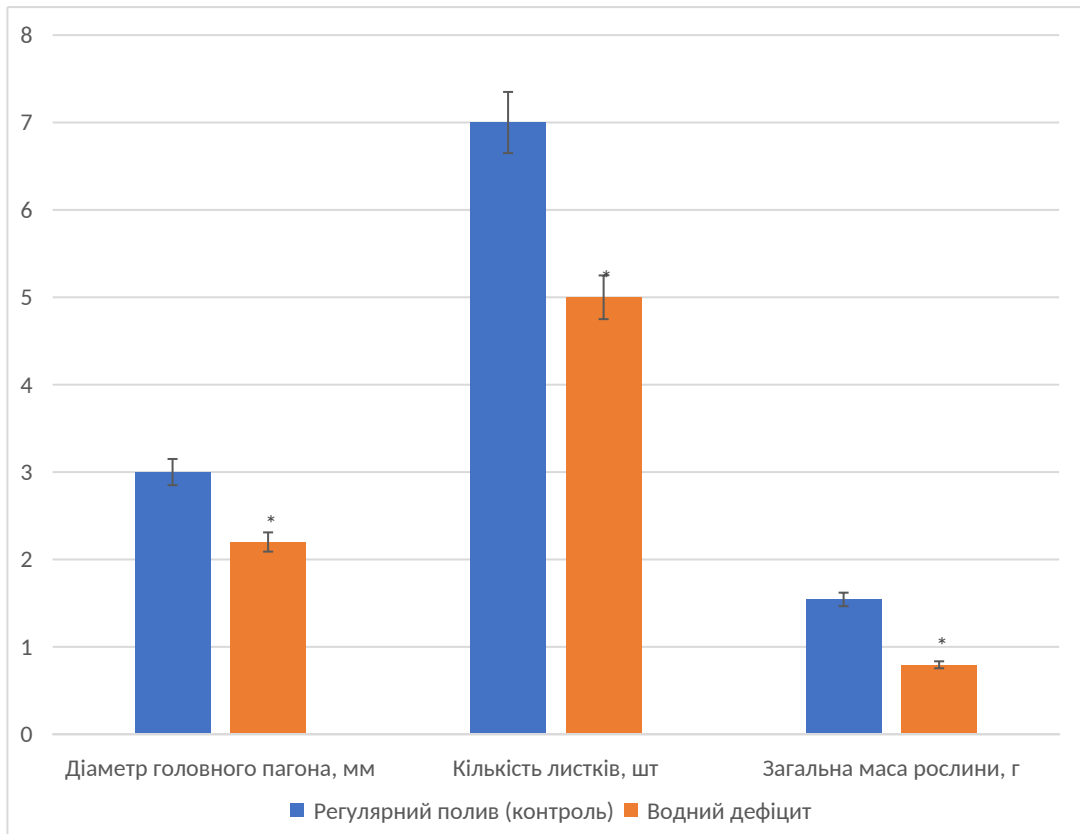


Рисунок 3.3. Діаметр головного пагона, кількість листків, загальна маса рослин гороху за достатнього поливу та дії посухи

* - $p < 0,05$ порівняно з контролем

Аналогічно і зменшення кількості листків вочевидь обумовлено старінням та опадання старіших листків, щоб уникнути надлишкової транспірації. В той же час зменшення загальної маси рослин є результатом пригнічення розвитку всіх її частин.

Це припущення підтверджує зменшення маси загальної кількості листків на рослинах мікрозелені гороху, яке становило 76 %, тобто було найсуттєвішим, порівняно з іншими проаналізованими показниками (рис.3.4).

Втрата маси листя свідчить, що мікрозелень гороху не зважаючи на зазвичай високу інтенсивність росту, за дефіциту вологи змінює «свої пріоритети», намагаючись вижити, а не наростити біомасу.

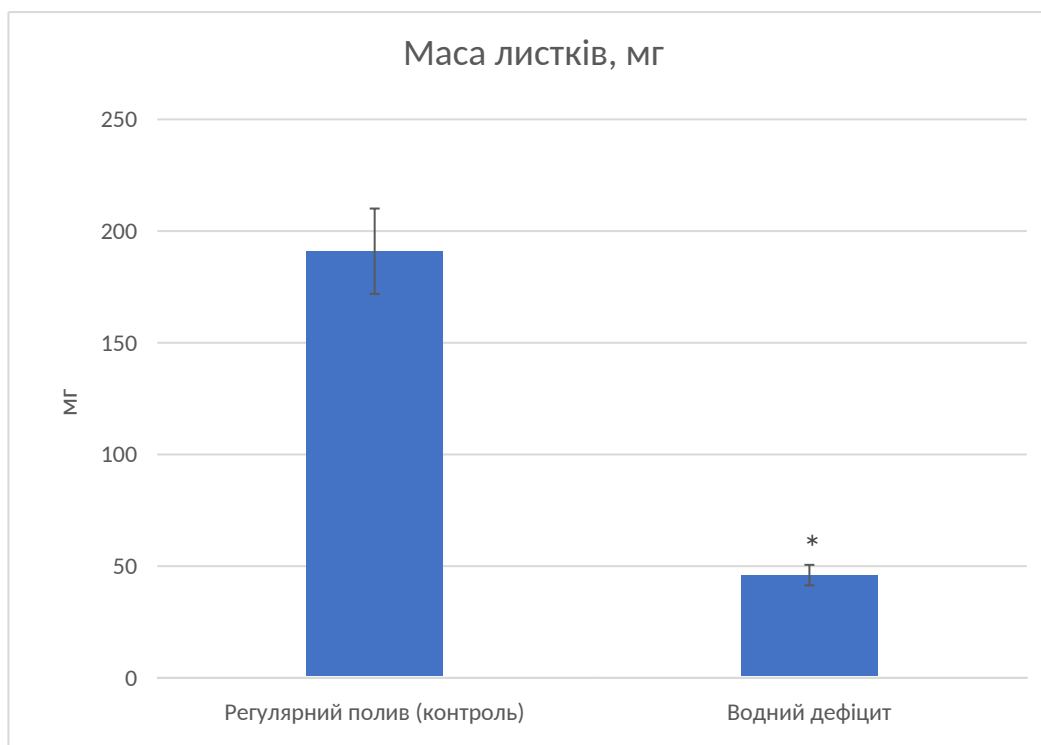


Рисунок 3.4. Маса листків за достатнього поливу та дії посухи

* - $p < 0,05$ порівняно з контролем

Таким чином рослини продемонстрували адаптивну реакцію на водний стрес, яка полягала у максимальному обмеженні росту надземної частини та мінімальному - кореневої системи. Це забезпечило підтримку поглинальної здатності коренів та ефективності використання води рослиною в цілому.

3.2. Морфометричні характеристики мікрозелені гороху за обробки наночастинками фулерену C_{60} та дії посухи

Початковий етап дослідження був присвячений оцінці впливу C_{60} фулерену на біометричні характеристики гороху, пророщеного на різних субстратах в умовах адекватного зволоження. Аналіз, проведений на зразках із ґрунтосуміші, виявив значне концентраційно-залежне інгібування росту при вищих дозах наночастинок. Зокрема, внесення 0,5 мкг/мл та 1 мкг/мл фулерену C_{60} призвело до зниження маси рослин на 24% і 32% відповідно та маси листя на 23 % і 24 % порівняно з рослинами контрольної групи (рис. 3.5).

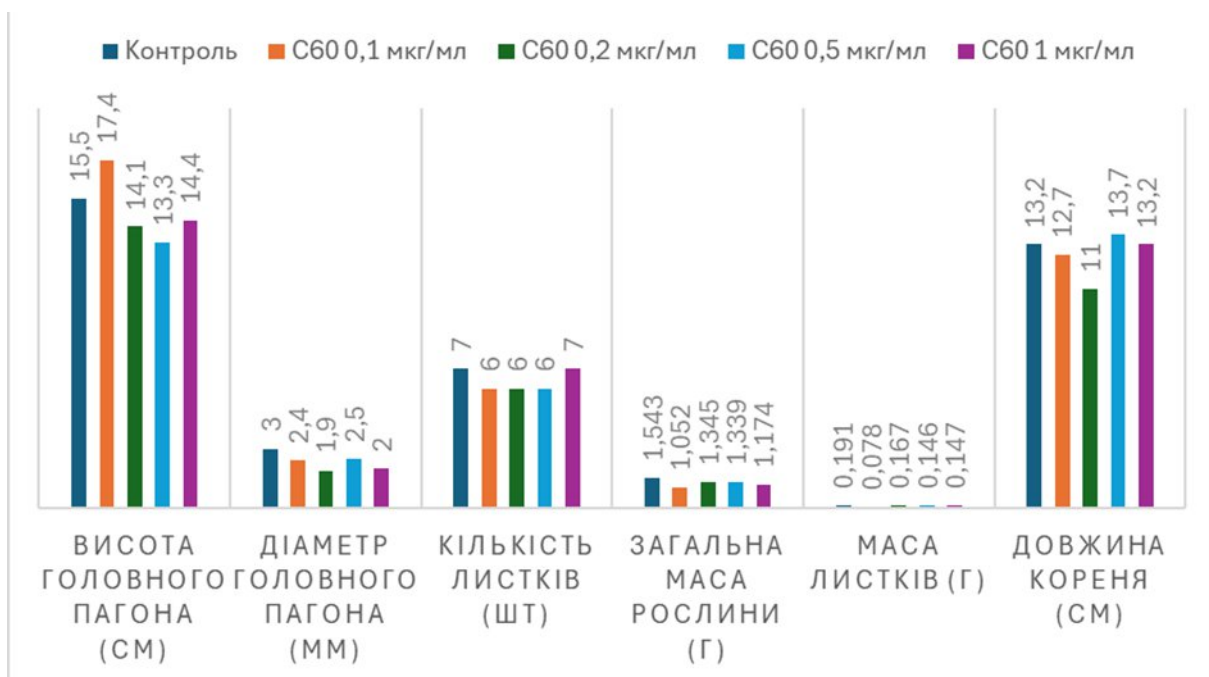


Рисунок 3.5. Морфометричні показники гороху за дії різних концентрацій фулерену

* - $p < 0,05$ порівняно з контролем

Таке різке пригнічення свідчить про перевищення токсичного порогу C_{60} фулерену, що, ймовірно, пов'язано з індукцією оксидативного стресу або фізичним порушенням процесів поглинання на рівні кореневої системи. При цьому, нижчі рівні C_{60} фулерену (0,1 мкг/мл та 0,2 мкг/мл) не чинили статистично значущого впливу на морфометричні параметри мікрозелені, що вказує на їхню субпорогову концентрацію і достатньо гарну біосумісність.

Наступним етапом дослідження було вивчення морфометричних показників мікрозелені гороху за дії різних концентрацій фулерену на фоні моделювання посухи методом в'янення Туманова.

Вплив різних концентрацій наночастинок фулерену C_{60} (5 мкг/мл, 10 мкг/мл, 20 мкг/мл та 50 мкг/мл) на морфометричні показники мікрозелені гороха за дії посухи оцінювали відносно контрольної групи, в якій моделювали посуху без наночастинок (табл. 3.6).

Результатами проведених досліджень було встановлено, що фулерен C_{60} у концентраціях 5 мкг/мл, 10 мкг/мл, 20 мкг/мл проявляв стимулюючий вплив на всі досліджувані показники рослин, порівняно з контролем (посуха).

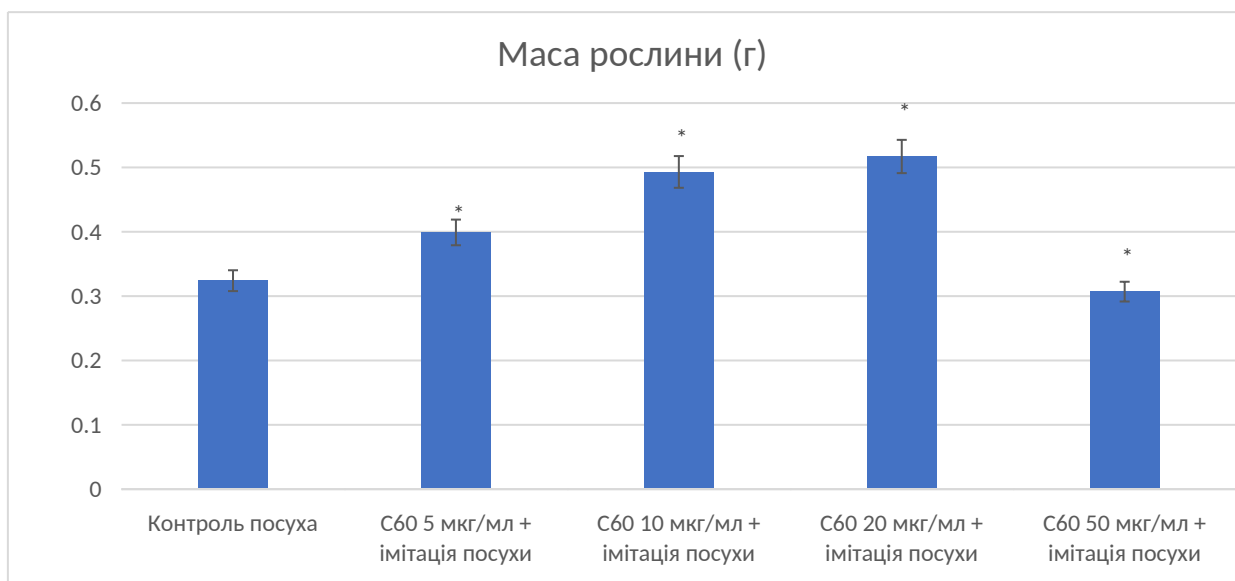
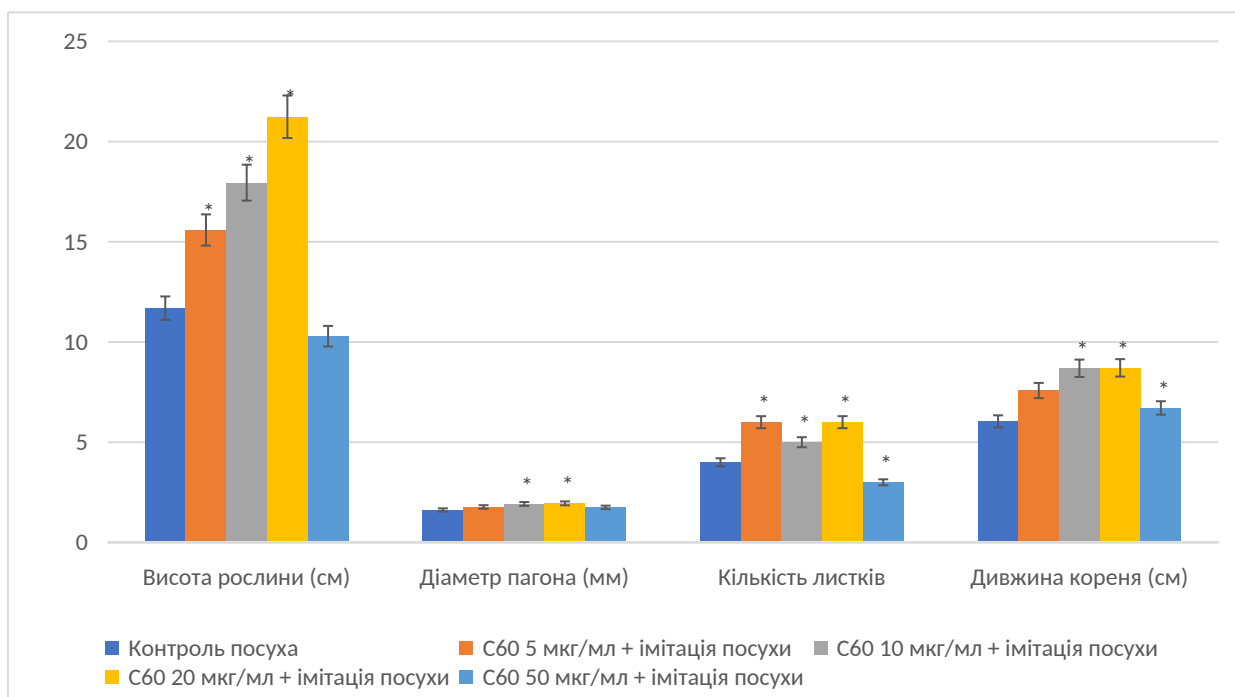


Рисунок 3.6. Морфометричні показники гороху за дії різних концентрацій фулерену та моделювання посухи

* - $p < 0,05$ порівняно з контролем

Найбільш істотне зростання відзначено у вказаному діапазоні концентрацій для наступних показників рослин: висота та маса рослини,

довжина кореня та кількість листків. Зокрема висота рослин зростала на 33,4 %, 53,6 % і 81,7 % за концентрацій фулерену 5 мкг/мл, 10 мкг/мл, 20 мкг/мл відповідно, порівняно з контролем (посуха). Кількість листків за цих концентрацій також зростала на 50 %, 25 % і 50 %, маса рослин - на 23,1%, 52,1 % і 59,6 %, довжина кореня – на 25,5 % 43,9 % 44,2% відповідно порівняно з рослинами, які вирощували в умовах посухи.

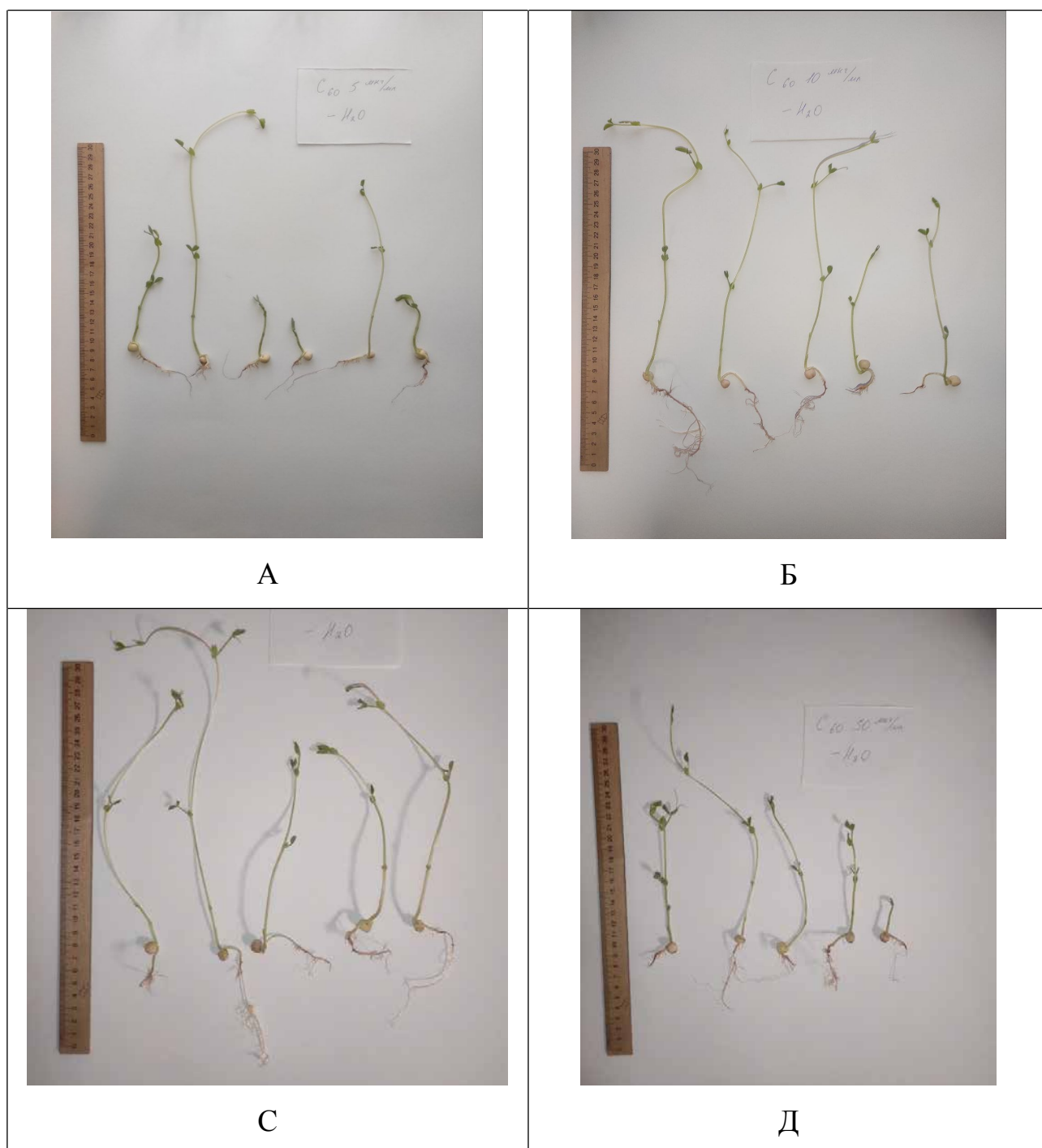


Рисунок 3.7. Морфометричні показники гороху за дії різних концентрацій фулерену та моделювання посухи: А – концентрація фулерену 5 мкг/мл; Б –

концентрація фулерену 10 мкг/мл; С – концентрація фулерену 20 мкг/мл; Д – концентрація фулерену 50 мкг/мл;

Оптимальною для стимуляції росту була концентрація C_{60} 20 мкг /мл, оскільки саме за такої концентрації відмічали найбільше зростання досліджуваних параметрів.

Разом з тим вища концентрація наночастинок фулерену 50 мкг/мл, навпаки, спричинила інгібування росту. Таким чином фулерен є ефективним еліситором для мікрозелені гороху в низьких/помірних концентраціях (5-20 мкг/мл), але вищі концентрації є малоефективними і навіть токсичними.

3.3. Концентрація NO у рослинах гороху за впливу фулерену C_{60} та моделювання посухи

Посуха порушує клітинний окисно-відновний гомеостаз рослин, що призводить до оксидативного стресу та пошкодження клітин. Рослини адаптуються до стресу посухи, змінюючи морфологічні, біохімічні, фізіологічні та молекулярні механізми. Однією з ключових сигнальних молекул у каскаді цієї адаптаційної реакції є оксид азоту NO - водо- та ліпідорозчинний вільний радикал, а також газоподібна, окисно-відновна сигнальна молекула, що швидко генерується у відповідь на гормональні й екологічні стимули. NO регулює та підтримує рівень активних форм кисню (АФК), індукуючи транскрипційні зміни різних мішеней, залучених у захист рослин, клітинну загибель, транслокацію, передачу сигналів та метаболізм АФК. Хоча дослідження підтверджують роль NO в адаптації до посухи, молекулярні механізми його участі в модуляції сигналізації при абіотичних стресах залишаються недостатньо вивченими [27].

Існує необхідність у подальшому вивченні походження та продукування NO під час дії посухи, механізмів його сприйняття та трансдукції, а також фізіологічних і молекулярних процесів для підвищення стійкості до посухи.

Як показали отримані результати, посуха призводить до суттєвого зростання концентрації NO у тканинах гороху на 99 % порівняно з контрольною групою (достатній полив).

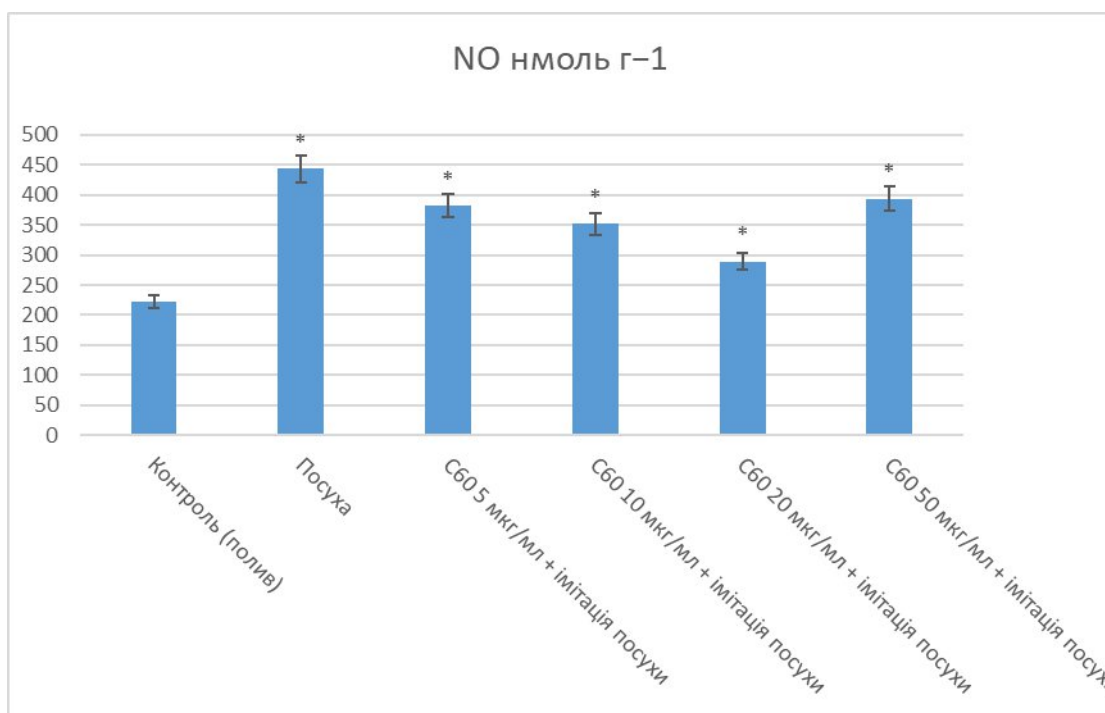


Рисунок 3.8. Концентрація NO у тканинах гороху за дії різних концентрацій фулерену та моделювання посухи

* - $p < 0,05$ порівняно з контролем

NO є ключовою сигнальною молекулою стресу, тому таке підвищення показника є закономірною реакцією рослин на дію абіотичного стрес-фактора – посухи. Модулюючий ефект фулерену обумовлює дозозалежне зниження цього показника у групах рослин, які обробляли розчином фулерену в концентраціях 5 мкг/мл, 10 мкг/мл, 20 мкг/мл на 29,60 %, 32,38 % та 34,79 % відповідно. Найбільш виражений ефект відзначено при концентрації 20 мкг/мл, де рівень NO є мінімальним серед усіх досліджених варіантів і максимально наближається до контрольного значення.

Цей результат свідчить, що фулерен може зменшувати оксидативний стрес, що дозволяє рослині менш активно індукувати синтез NO. При цьому найвища із досліджуваних концентрацій фулерену не впливала суттєво на

зниження концентрації оксиду. Тобто високі концентрації фулерену самі по собі стають стрес-чинником. Ці дані чітко ілюструють, що відповідь рослин на наночастинки за умов водного стресу є нелінійною і залежить від концентрації. Це дозволяє припустити, що здатність наноструктур регулювати ключовий сигнальний шлях NO є основою для розуміння механізмів їхнього позитивного впливу на стійкість рослин.

3.4. Активність каталази у паростка гороху

Каталаза є життєво важливим елементом клітинного захисту від окиснювального пошкодження, спричиненого активними формами кисню (АФК). Каталаза визнана одним із найбільш ефективних ферментів, оскільки одна її молекула здатна перетворити мільйон молекул H_2O_2 за секунду [6, 13].

Структурно каталаза є тетрамером, що складається з чотирьох поліпептидних ланцюгів, кожен з яких містить понад 500 амінокислотних залишків. До складу ферменту входять чотири залізовмісні гемові групи, які є необхідними для взаємодії з пероксидом водню [34]. Оптимальне значення рН для каталази може варіюватися залежно від біологічного виду (від 4 до 11), хоча для каталази людини воно становить близько 7,0 і має широкий діапазон максимальної активності (6,8–7,5). Оптимальна температура також впливає на роботу ферменту [35].

У тваринних клітинах H_2O_2 утворюється в процесі окиснювальних реакцій і негайно нейтралізується каталазою, оскільки висока реакційна здатність пероксиду може викликати пошкодження клітинних мембран та органел, а також спричинити мутагенні ефекти [36].

Натомість, у рослинних клітинах пероксид водню виконує функцію сигнальної молекули, вказуючи на настання несприятливих умов. Доведено, що такі чинники, як сольовий або температурний екстрим, присутність важких металів та радіаційне опромінення, індукують оксидативний стрес і, як наслідок, утворення АФК, включно з пероксидом водню. Наприклад, стрес від важких

металів призводить до утворення супероксид-аніону, що в подальшому генерує гідроксильні радикали та H_2O_2 . Накопичення H_2O_2 слугує сигналом для активації захисних систем, запускаючи експресію генів, що забезпечують стійкість рослини [36].

Додатковими стресовими факторами для рослин є надмірне освітлення, дефіцит води, забруднення середовища та патогени. У природних умовах рослини часто стикаються з комбінацією цих стресів. Залежно від генотипу, рослини можуть набувати стійкості (акліматизації) до стресів протягом свого життєвого циклу, включаючи системну набуту стійкість до патогенів або загартовування до холоду. Спостерігається явище кросрезистентності, коли вплив одного стресу надає часткову стійкість до іншого, що свідчить про наявність як спільних, так і антагоністичних механізмів відповіді. Центральною ланкою більшості стресових реакцій є накопичення АФК та викликані ними зміни в окисно-відновному гомеостазі клітини [43, 54].

Каталаза вирізняється несподіваною термостабільністю для гомотетрамерної структури, стабілізованої лише нековалентними зв'язками. Ця стабільність пояснюється переплетенням субодиниць, де С- і N-кінці кожної субодиниці перекриваються, що нагадує обмін доменами та сприяє утворенню олігомеру вищого порядку [6, 34]. Кристалографія та спрямований мутагенез підтвердили існування каналів, які сприяють ефективному транспортуванню субстрату H_2O_2 до активного центру. Ці канали використовують дипольні моменти води та водневі зв'язки для направлення пероксиду безпосередньо до гемової порожнини, де відбувається каталіз [6, 13].

У рослинних тканинах каталаза є одним із найбільш активних ферментів. Вона локалізована у пероксисомах - мікротільцях, що беруть участь у фотосинтезі. Одним із завдань каталази є забезпечення киснем тих частин рослини, які отримують його обмежено. Фермент також бере участь у модуляції взаємодії рослини з патогенними мікроорганізмами. Під впливом стресових чинників (токсичні гази, солі, патогени) рослини активують утворення АФК, які,

хоча і можуть спричинити пошкодження тканин, водночас є необхідними для збалансованої стресової відповіді [36].

Зростання концентрації АФК стимулює активність антиоксидантних ферментів, зокрема каталази, яка, на відміну від багатьох інших антиоксидантів, діє без потреби постійного поновлення додаткового субстрату. Активність каталази корелює з газопроникністю рослин: вища активність свідчить про більш ефективне використання газів, а низький рівень може бути ознакою низької адаптивності до стресу [6].

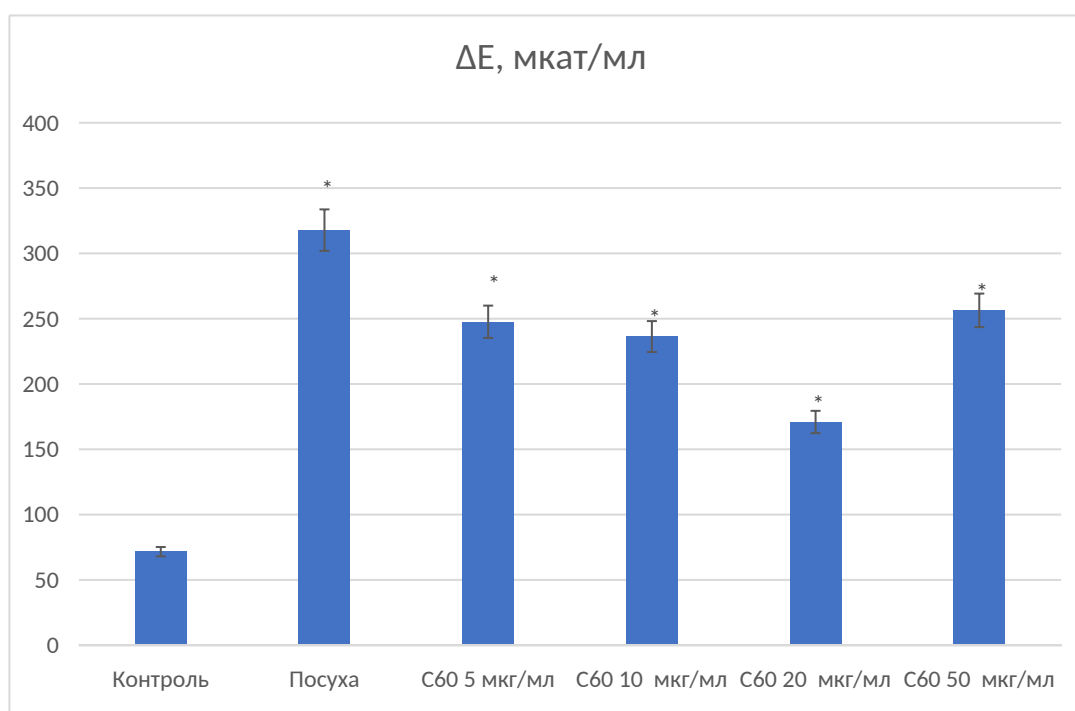


Рисунок 3.9. Активність каталази у тканинах гороху за дії різних концентрацій фулерену та моделювання посухи

* - $p < 0,05$ порівняно з контролем

Показник активності каталази у групі контролю становив 71,6 мкат/мл. Посуха спричинила зростання активності ферменту у 4,4 рази відносно контролю. Таке зростання активності ферменту є закономірним і обумовлене відповіддю організму рослини на вплив окиснювального стресу. Разом з тим фулерен чинив протистресову дію в усіх досліджуваних концентраціях, що проявлялось зменшенням активності ферменту за рівня наночастинок 5 мкг/мл

на 22,1 %, 10 мкг/мл на 25,6 % , 20 мкг/мл на 46,2 %, 50 мкг/мл на 19,3 % порівняно з рослинами, які зазнавали лише дії посухи.

Вочевидь такий ефект є наслідком антиоксидантної дії фулерену. Завдяки своїм електронним властивостям, фулерени вважаються радикальними губками, здатними ефективно гасити активні форми кисню.

3.5. Вміст фотосинтетичних пігментів у рослинах гороху за дії посухи та модифікації наночастинками фулерену

Фотосинтез є ключовим фізіологічним процесом, який винятково чутливий до абіотичного стресу, зокрема до посухи. Реакція фотосинтетичного апарату листків охоплює як світлову так і темнову стадії.

На рівні темної стадії посуховий стрес спричиняє комплексні модифікації, включаючи обмеження продигової провідності та зміни у функціональному стані епідермальних і мезофільних продигов. Ці зміни, у поєднанні зі зсувами в метаболізмі, призводять до зниження чистої швидкості фотосинтезу листа [3].

Крім того, дефіцит вологи негативно впливає на концентрацію фотосинтетичних пігментів (хлорофілів та каротиноїдів), що прямо корелює зі зниженням загальної продуктивності фотосинтезу та зменшенням виробленої енергії [14].

Як показали результати досліджень, вплив посухи на рослини гороху обумовили тенденцію до зменшення вмісту в листках основних фотосинтетичних пігментів – каротиноїдів та хлорофілів *a* і *b* (рис.3.10).

Фулерен у різних концентраціях викликав різні напрямки змін вмісту фотосинтетичних пігментів. Як і щодо інших досліджуваних показників найбільш оптимальною концентрацією фулерену була 20 мкг/мл, оскільки саме ця концентрація викликала збільшення концентрації досліджуваних пігментів: хлорофілу *b* на 15,4 %; вміст хлорофілу *a* і каротиноїдів також мав тенденцію до збільшення (11,6 % і 8,4 % відповідно) порівняно з контролем (рис.3.11).

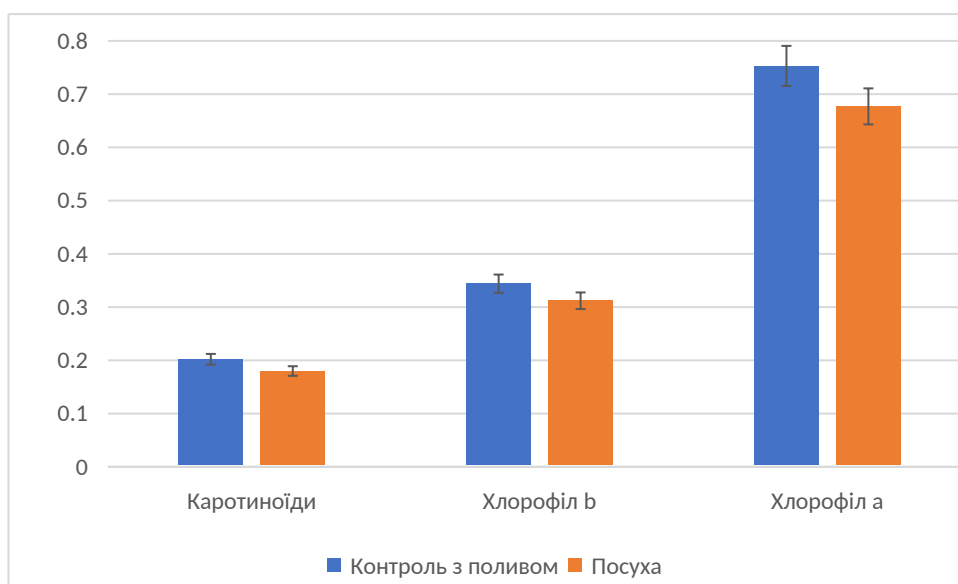


Рисунок 3.10. Вміст фотосинтетичних пігментів у тканинах гороху за достатнього поливу та моделювання посухи

* - $p < 0,05$ порівняно з контролем

Разом з тим нижчі і вищі дози наночастинок, навпаки зменшували вміст вказаних пігментів. За концентрації фулерену 5 мкг/мл це зменшення було особливо суттєвим: вміст каротиноїдів зменшився на 24,8 %, хлорофілу *b* – на 19,3 %, хлорофілу *a* – на 25,8 % відповідно (рис.3.11).

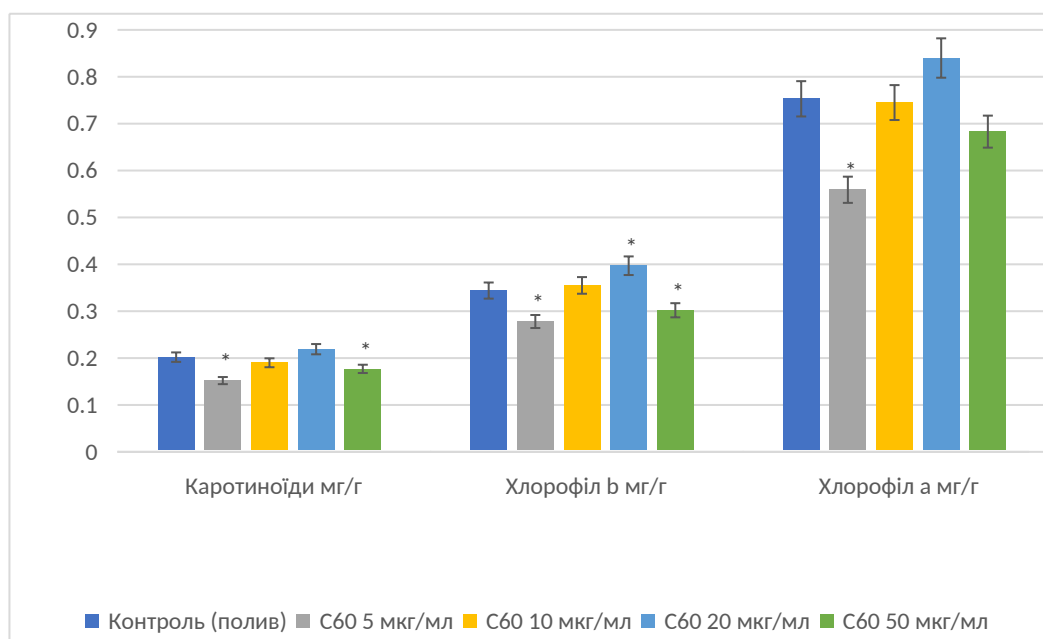


Рисунок 3.11. Вміст фотосинтетичних пігментів у тканинах гороху за дії фулерену C_{60}

* - $p < 0,05$ порівняно з контролем

Результати дослідження модулюючого впливу фулерену C_{60} на вміст фотосинтетичних пігментів у рослинах гороху показав, що середні концентрації фулерену (10 мкг/мл і 20 мкг/мл) суттєво зменшують негативний вплив посухи на ці показники. Найбільш оптимальну позитивну дію фулерен проявляв у дозі 20 мкг/мл, при цьому відмічали зростання вмісту каротиноїдів на 43,9 %, хлорофілу *a* на 41,6 % і хлорофілу *b* на 32,4 %, порівняно з групою контролю (посуха) (рис.3.12).

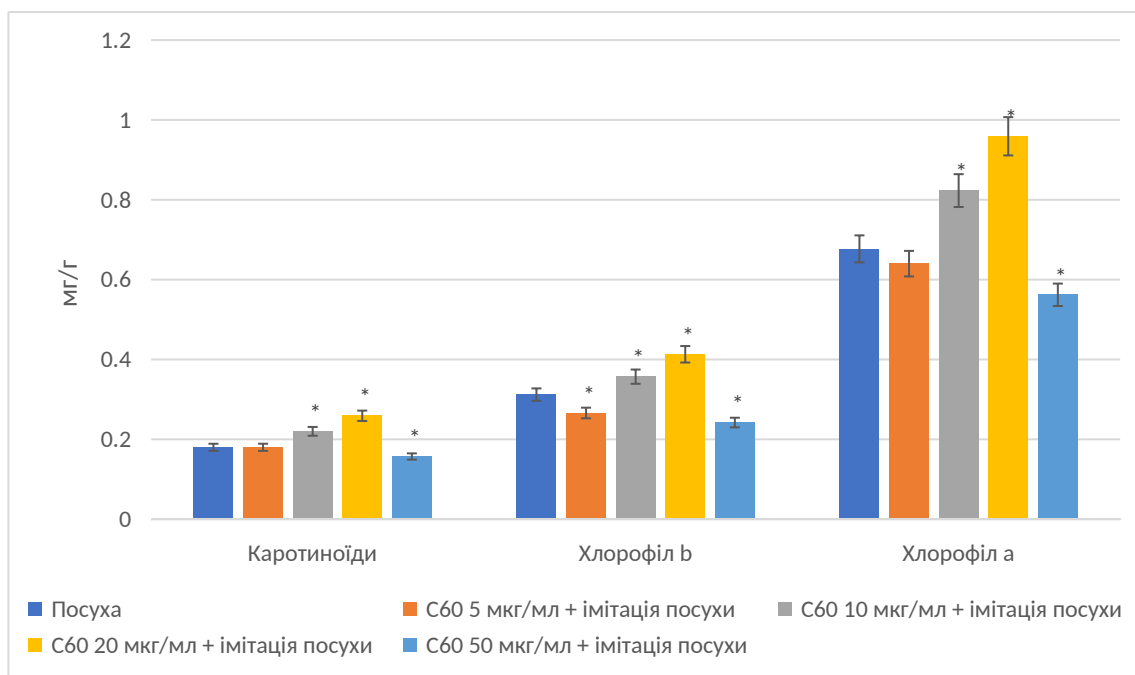


Рисунок 3.12. Вміст фотосинтетичних пігментів у тканинах гороху за дії фулерену C_{60} та моделювання посухи

* - $p < 0,05$ порівняно з контролем

Разом з тим концентрації 5 мкг/мл і 50 мкг/мл, навпаки зменшували вміст каротиноїдів та хлорофілів *a* і *b* у листках гороху. В умовах абіотичного стресу, зокрема водного дефіциту (посухи), рослинний організм ініціює стратегічну переорієнтацію метаболічних ресурсів, пріоритезуючи механізми виживання над ростовими та продуктивними процесами. Цей перехід фізіологічної стратегії включає два ключові адаптивні напрямки. По-перше, відбувається інгібування синтезу фотосинтетичних пігментів - хлорофілу *a* та *b*, а також каротиноїдів. Ресурси, які зазвичай використовуються для побудови та підтримання

функціонування фотосинтетичного апарату, перенаправляються на синтез критично важливих захисних молекул. До них належать осмотичні речовини (осмопротектори), що необхідні для збереження тургору та гомеостазу клітин, а також антиоксидантні ферменти, наприклад, каталаза, які потрібні для ефективної детоксикації активних форм кисню (АФК), що накопичуються в умовах стресу [15].

Разом з тим регульоване зниження концентрації фотосинтетичних пігментів функціонує як важливий механізм фотопротекції. Зменшуючи загальну кількість світлозбиральних молекул, рослина знижує рівень поглинання світла. Це є критичним для запобігання фотодинамічному пошкодженню в умовах, коли обмежена доступність вуглекислого газу через закриття продихів та дефіцит води. Таким чином, зниження пігментації мінімізує ризик утворення надмірних, високотоксичних кількостей реактивних форм кисню (АФК), захищаючи клітинні структури від окислювальної деструкції [3, 48].

ВИСНОВКИ

Досліджено вплив дефіциту вологи (посухи) на фізіолого-біохімічні показники мікрозелені гороху, зокрема за модуляції вказаного абіотичного стресу наночастинками фулерену C₆₀.

1. Показано, що дія посухи суттєво зменшує морфометричні показники гороху (*Pisum sativum*), зокрема висоту головного пагона на 63,2 %, загальної маси рослин - на 48,5 %, довжини коренів - на 37,1 %, загальної маси листків на 76,0 % порівняно з контрольною групою (достатнє зволоження).

2. Дія посухи супроводжувалась розвитком окисного стресу. Відмічено зростання концентрації в тканинах гороху оксиду азоту NO на 99 % та активності ферменту каталази у 4,4 раза відносно контролю (регулярний полив).

3. Фулерен C₆₀ у концентраціях 0,1 мкг/мл та 0,2 мкг/мл не чинив статистично значущого впливу на морфометричні параметри мікрозелені гороху за достатнього поливу, що вказує на його субпорогову концентрацію і гарну біосумісність.

4. Вищі концентрації наночастинок (0,5 мкг/мл, 1 мкг/мл) чинили фітотоксичну дію, що проявлялась зниження маси рослин на 24 % і 32 % відповідно та маси листя на 23 % і 24 % порівняно з рослинами контрольної групи (регулярний полив).

5. Показано, що застосування наночастинок фулерену на фоні дії посухи позитивно модулює вплив стресу за концентрацій 5 мкг/мл, 10 мкг/мл, 20 мкг/мл: висота рослин зростала на 33,4 %, 53,6 % і 81,7 %; кількість листків - на 50 %, 25 % і 50 %, маса рослин - на 23,1%, 52,1 % і 59,6 %, довжина кореня – на 25,5 % 43,9 % 44,2% відповідно порівняно з рослинами, які вирощували в умовах водного дефіциту.

6. Обробка гороху наночастиками також проявляла і антиоксидантний ефект: за концентрацій 5 мкг/мл, 10 мкг/мл, 20 мкг/мл вміст NO у тканинах гороху знижувався на 29,60 %, 32,38 % та 34,79 %, а активність каталази - на 22,1 %, 25,6 %, 46,2 % відповідно порівняно з рослинами, які зазнавали лише дії посухи.

7. Середні досліджувані концентрації фулерену C₆₀ (10 мкг/мл і 20 мкг/мл) зменшують негативний вплив посухи на вміст фотосинтетичних пігментів. Найбільш оптимальні зміни відмічали за концентрації наночастинок 20 мкг/мл, а саме: зростання вмісту каротиноїдів на 43,9 %, хлорофілу *a* на 41,6 % і хлорофілу *b* на 32,4 %, порівняно з групою контролю (посуха).

Отримані результати підтверджують ефективність використання наночастинок фулерену C₆₀ в якості біостимулятора та елісатора для мікрозелені гороху за дії водного дефіциту, тому можуть бути використані для оптимізації агробіотехнологічних підходів щодо підвищення стресової толерантності рослин за несприятливих умов вирощування.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Прилуцька С. В., Ткаченко Т. А., Ткаченко В. В. Використання вуглецевих наноматеріалів для регуляції стресостійкості у сільськогосподарських рослин. Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології. 2023. Т. 21, № 6. С. 923-944.
2. Кириченко В. В., Посилаєва О. О., Кобизєва Л. Н., Гопцій Т. І. Селекція сої на стійкість до спеки та посухи. Навчальний посібник. Харків. 2016. 96 с.
3. Anjum S.A., Xie X.Y., Wang L.C., Saleem M.F., Man C., Lei W. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. Afr. J. Agric. Res. 2021;6:2026–2032.
4. Avellan, A., Lowry, G. V., & Gilbertson, L. M. Opportunities and challenges for nanotechnology in the agri-tech revolution. Nat. Nanotechnol. **14**, 517–522 (2019).
5. Avanası, R., Jackson, W. A., Sherwin, B., Mudge, J. F., & Anderson, T. A. (2014). C₆₀ fullerene soil sorption, biodegradation, and plant uptake. Environmental science & technology. 48(5): 2792–2797. <https://doi.org/10.1021/es405306w>
6. Baker, A.; Lin, C.C.; Lett, C.; Karpinska, B.; Wright, M.H.; Foyer, C.H. Catalase: A critical node in the regulation of cell fate. Free Radic. Biol. Med. 2023, 199, 56–66.
7. Beuerle F, Lebovitz R, Hirsch A. Antioxidant Properties of Water-Soluble Fullerene Derivatives. In: Cataldo F, Da Ros T, editors. Medicinal chemistry and pharmacological potential of fullerenes and carbon nanotubes. Dordrecht: Springer; 2008, 183, 48–61.
8. Borisev, M.; Borisev, I.; Zupunski, M.; Arsenov, D.; Pajevic, S.; Curcic, Z.; Vasin, J.; Djordjevic, A. Drought impact is alleviated in sugar beets (*Beta vulgaris* L.) by foliar application of fullerenol nanoparticles. PLoS ONE 2020, 11, e0166248.
9. Chen, X., Chu, S., Chi, Y., Wang, J., Wang, R., You, Y., Hayat, K., Khalid, M., Zhang, D., Zhou, P., & Jiang, J. (2023). Unraveling the role of multi-walled carbon nanotubes in a corn-soil system: Plant growth, oxidative stress and heavy

metal(loid)s behavior. *Plant physiology and biochemistry: PPB*, 200, 107802. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.107802>

10. Daryanto S., Wang L., Jacinthe P.A. Global synthesis of drought effects on cereal, legume, tuber and root crops production: A review. *Agric. Water Manag.* 2020;179:18–33. doi: 10.1016/j.agwat.2016.04.022.

11. Verma S.K., Das A.K., Gantait S., Kumar V., Gurel E. Applications of carbon nanomaterials in the plant system: A perspective. *Sci. Total. Environ.* 2019;667:485–499. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.02.409.

12. De La Torre-Roche, R., Hawthorne, J., Deng, Y., Xing, B., Cai, W., Newman, L. A., Wang, C., Ma, X., & White, J. C. (2022). Fullerene-enhanced accumulation of p,p'-DDE in agricultural crop species. *Environmental science & technology*. 46(17): 9315–9323. <https://doi.org/10.1021/es301982w>

13. Díaz, A.; Loewen, P.C.; Fita, I.; Carpena, X. Thirty years of heme catalases structural biology. *Arch. Biochem. Biophys.* 2022, 525, 102–110.

14. Farooq, M., Hussain, M., Wahid, A., & Siddique, K. H. M. (2022). Drought stress in plants: An overview. In R. Aroca (Ed.), *Plant responses to drought stress* (pp. 1–33). Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.

15. Fatima A., Farid M., Safdar K., Fayyaz A., Ali S.M., Adnan S., Nawaz M., Munir H., Raza N., Zubair M. *Plant Ecophysiology and Adaptation under Climate Change: Mechanisms and Perspectives*. Springer; Berlin/Heidelberg, Germany: 2020. *Loss of Agro-Biodiversity and Productivity Due to Climate Change in Continent Asia: A Review*; pp. 51–71.

16. Gao J, Wang Y, Folta KM, Krishna V, Bai W, Indeglia P, Georgieva A, Nakamura H, Koopman B, Moudgil B. Polyhydroxy fullerenes (fullerols or fullerlenols): beneficial effects on growth and lifespan in diverse biological models. *PLoS One*. 2011;6:e19976.

17. Ghasemi-Kooch, M., Dehestani, M. Interaction of photosynthetic pigments with single-walled carbon nanotube (15, 15): a molecular dynamics study. *Adsorption* 24, 43–51 (2018). <https://doi.org/10.1007/s10450-017-9920-3>

18. Ghasempour, M., Iranbakhsh, A., Ebadi, M. et al. (2019). Multi-walled carbon nanotubes improved growth, anatomy, physiology, secondary metabolism, and callus performance in *Catharanthus roseus*: an in vitro study. *3 Biotech* 9, 404. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1934-y>
19. Giraldo J.P., Landry M.P., Faltermeier S.M., McNicholas T.P., Iverson N.M., Boghossian A.A., Reuel N.F., Hilmer, A.J., Sen, F., Brew J.A., Strano M.S. (2014) Plant nanobionics approach to augment photosynthesis and biochemical sensing. *Nat. Mater.* 13: 400–408. doi: 10.1038/nmat3890
20. González-García, Y., López-Vargas, E. R., Pérez-Álvarez, M., Cadenas-Pliego, G., Benavides-Mendoza, A., Valdés-Reyna, J., Pérez-Labrada, F., & Juárez-Maldonado, A. (2022). Seed Priming with Carbon Nanomaterials Improves the Bioactive Compounds of Tomato Plants under Saline Stress. *Plants (Basel, Switzerland)*, 11(15). <https://doi.org/10.3390/plants11151984>
21. Gray S.B., Brady S.M. Plant developmental responses to climate Chang. *Dev. Biol.* 2016;419:64–77. doi: 10.1016/j.ydbio.2016.07.023.
22. Guo, K. R., Adeel, M., Hu, F., Xiao, Z. Z., Wang, K. X., Hao, Y., Rui, Y. K., & Chang, X. L. (2021). Absorption of Carbon-13 Labelled Fullerene (C₆₀) on Rice Seedlings and Effect of Phytohormones on Growth. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 21(6), 3197–3202. <https://doi.org/10.1166/jnn.2021.19307>
23. Harris, P. J. F. (2020). Fullerene Polymers: A Brief Review. *C*, 6(4), 71. <https://doi.org/10.3390/c6040071>
24. Jović, D., Jačević, V., Kuča, K., Borišev, I., Mrdjanovic, J., Petrovic, D., Seke, M., & Djordjevic, A. (2020). The Puzzling Potential of Carbon Nanomaterials: General Properties, Application, and Toxicity. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*. 10 (8): 1508. <https://doi.org/10.3390/nano10081508>
25. Kole C, Kole P, Randunu KM, Choudhary P, Podila R, Ke PC, Rao AM, Marcus RK. Nanobiotechnology can boost crop production and quality: first evidence from increased plant biomass, fruit yield and phytomedicine content in bitter melon (*Momordica charantia*). *BMC Biotechnol.* 2013;13:1.

26. Kovalov M. M. The influence of climate support parameters on microgreen cultivation under the conditions of a film greenhouse. Taurian scientific herald. 2022. No. 126. P. 153–162. URL: <https://doi.org/10.32851/2226-0099.2022.126.21>.
27. Lau, S.-E., Hamdan, M. F., Pua, T.-L., Saidi, N. B., & Tan, B. C. (2021). Plant Nitric Oxide Signaling under Drought Stress. *Plants*, 10(2), 360. <https://doi.org/10.3390/plants10020360>
28. Li, P., Xia, Y., Song, K., & Liu, D. (2024). The Impact of Nanomaterials on Photosynthesis and Antioxidant Mechanisms in Gramineae Plants: Research Progress and Future Prospects. *Plants*, 13(7), 984. <https://doi.org/10.3390/plants13070984>
29. Lin S., Reppert J., Hu Q., Hudson J.S., Reid M.L., Ratnikova T.A., Rao A.M., Luo H., Ke P.C. Uptake, translocation, and transmission of carbon nanomaterials in rice plants. *Small*. 2009;5:1128–32.
30. Lin S., Reppert J., Hu Q., Hudson J. (2009) Uptake, translocation, and transmission of carbon nanomaterials in rice plants. *Small*. 5:1128–32. doi.org/10.1002/sml.200801556
31. Lan, Y., Sun, R., Ouyang, J., Ding, W., Kim, M. J., Wu, J., Li, Y., & Shi, T. (2021). AtMAD: *Arabidopsis thaliana* multi-omics association database. *Nucleic acids research*, 49(D1), D1445–D1451. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1042>
32. Ma X, Wang C. Fullerene nanoparticles affect the fate and uptake of trichloroethylene in phytoremediation systems. *Environ Eng Sci*. 2010;27:989–92.
33. Mathew, S.; Tiwari, D.K.; Tripathi, D. Interaction of carbon nanotubes with plant system: A review. *Carbon Lett*. 2020, 31, 167–176.
34. Mhamdi, A.; Noctor, G.; Baker, A. Plant catalases: Peroxisomal redox guardians. *Arch. Biochem. Biophys*. 2012, 525, 181–194.
35. Mhamdi, A.; Queval, G.; Chaouch, S.; Vanderauwera, S.; Van Breusegem, F.; Noctor, G. Catalase function in plants: A focus on *Arabidopsis mutants* as stress-mimic models. *J. Exp. Bot*. 2020, 61, 4197–4220.

36. Oshima, Y.; Kamigaki, A.; Nakamori, C.; Mano, S.; Hayashi, M.; Nishimura, M.; Esaka, M. Plant catalase is imported into peroxisomes by Pex5p but is distinct from typical PTS1 import. *Plant Cell Physiol.* 2018, 49, 671–677.
37. Parry M.A.J., Flexas J., Medrano H. Prospects for crop production under drought: Research priorities and future directions. *Ann. Appl. Biol.* 2015;147:211–226. doi: 10.1111/j.1744-7348.2005.00032.x.
38. Prylutska S. V., Franskevych D. V., Yemets A. I. Cellular biological and molecular genetic effects of carbon nanomaterials in plants. *Cytology and genetics.* 2022. Vol. 56, no. 4. P. 351–360. URL: <https://doi.org/10.3103/s009545272204007>.
39. Prylutska, S., Tkachenko, T., & Petrovsky, M. (2025) Physiological and biochemical parameters of winter wheat *Triticum aestivum* L. plants after seed treatment with fullerene C(60). *Ukr.Biochem.J.*, 97 (2), 90-104. <https://doi.org/10.15407/ubj97.02.090>
40. Prylutska, S.V., Tkachenko, T.A., Tkachenko, V.V. (2024). The Role of Aquaporins and Carbon Nanomaterials in Abiotic Stress in Plants. *Cytol. Genet.* 58, 428-439. <https://doi.org/10.3103/S0095452724050104>
41. Rubenach, A. J., Hecht, V., Vander Schoor, J. K., Liew, L. C., Aubert, G., Burstin, J., & Weller, J. L. (2020). EARLY FLOWERING3 Redundancy Fine-Tunes Photoperiod Sensitivity. *Plant physiology*, 173(4), 2253–2264. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01738>
42. Singla R., Kumari A., Yadav S.K. *Nanomaterials and Plant Potential.* Springer Science and Business Media LLC; Berlin, Germany: 2019. Impact of Nanomaterials on Plant Physiology and Functions; pp. 349–377.
43. Seleiman, M. F., Al-Suhaibani, N., Ali, N., Akmal, M., Alotaibi, M., Refay, Y., Dindaroglu, T., Abdul-Wajid, H. H., & Battaglia, M. L. (2021). Drought Stress Impacts on Plants and Different Approaches to Alleviate Its Adverse Effects. *Plants (Basel, Switzerland)*, 10(2), 259. <https://doi.org/10.3390/plants10020259>
44. Serag M.F., Kaji N., Habuchi S. et al. (2023). Nanobiotechnology meets plant cell biology: carbon nanotubes as organelle targeting nanocarriers. *RSC Adv*, 3:4856–4862. doi: 10.1039/c2ra22766e

45. Shafiq, F.; Iqbal, M.; Ali, M.; Ashraf, M.A. Seed pre-treatment with polyhydroxy fullerene nanoparticles confer salt tolerance in wheat through upregulation of H₂O₂ neutralizing enzymes and phosphorus uptake. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 2021, 19, 734–742.

46. Shafiq, F.; Iqbal, M.; Ashraf, M.A.; Ali, M. Foliar applied fullerol differentially improves salt tolerance in wheat through ion compartmentalization, osmotic adjustments and regulation of enzymatic antioxidants. *Physiol. Mol. Biol. Plants Int. J. Funct. Plant Biol.* 2020, 26, 475–487.

47. Sun, Y., Robert, C.A. & Thakur, M.P. (2024) Drought intensity and duration effects on morphological root traits vary across trait type and plant functional groups: a meta-analysis. *BMC Ecol Evo.* 24, 92. <https://doi.org/10.1186/s12862-024-02275-6>

48. Tekle A.T., Alemu M.A. Drought tolerance mechanisms in field crops. *World J. Biol. Med. Sci.* 2020;3:15–39.

49. Liu, Q., Zhang, X., Zhao, Y., Lin, J., Shu, C., Wang, C., & Fang, X. (2023). Fullerene-induced increase of glycosyl residue on living plant cell wall. *Environmental science & technology*, 47(13), 7490–7498. <https://doi.org/10.1021/es4010224>

50. Xiong, J. L., Li, J., Wang, H. C., Zhang, C. L., & Naeem, M. S. (2018). Fullerol improves seed germination, biomass accumulation, photosynthesis and antioxidant system in *Brassica napus* L. under water stress. *Plant physiology and biochemistry : PPB*, 129, 130–140. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.05.026>

51. Xiong, J.L.; Li, J.; Wang, H.C.; Zhang, C.L.; Naeem, M.S. Fullerol improves seed germination, biomass accumulation, photosynthesis and antioxidant system in *Brassica napus* l. Under water stress. *Plant Physiol. Biochem. PPB* 2018, 129, 130–140.

52. Zaytseva, O., Neumann, G. Carbon nanomaterials: production, impact on plant development, agricultural and environmental applications. *Chem. Biol. Technol. Agric.* 3, 17 (2020). <https://doi.org/10.1186/s40538-016-0070-8>

53. Zhang, Z.; Xu, Y.; Xie, Z.; Li, X.; He, Z.H.; Peng, X.X. Association-dissociation of glycolate oxidase with catalase in rice: A potential switch to modulate intracellular H₂O₂ levels. *Mol. Plant* 2021, 9, 737–748.

Received: 18.04.2024 Revised: 26.07.2024 Accepted: 15.08.2024



UDC 581.1:632.11:635.4:635.656

DOI: 10.31548/biologiya/3.2024.41

Effect of fullerene C₆₀ on morphometric parameters of microgreen peas (*Pisum sativum*) under water deficit conditions

Tetiana Tkachenko*

PhD in Biological Sciences, Associate Professor
National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine
03041, 13 Heroiv Oborony Str., Kyiv, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0002-7590-8879>

Stanislav Furmanets

Junior Research Fellow
National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine
03041, 13 Heroiv Oborony Str., Kyiv, Ukraine
<https://orcid.org/0009-0008-6411-4548>

Mykola Galuzynskyi

Postgraduate Student
National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine
03041, 13 Heroiv Oborony Str., Kyiv, Ukraine
<https://orcid.org/0009-0000-1028-878X>

Uwe Ritter

Doctor of Science, Professor
Technical University of Ilmenau
98693, 23 Weimarer Str., Ilmenau, Germany
<https://orcid.org/0000-0002-9315-4863>

Svitlana Prylutska

Doctor of Biological Sciences, Professor
National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine
03041, 13 Heroiv Oborony Str., Kyiv, Ukraine
<https://orcid.org/0000-0001-5280-8341>

Abstract. The relevance of this study was to investigate the impact of abiotic stress, specifically fullerene C₆₀ and drought, on the morphometric characteristics of pea microgreens. Drought negatively affects the growth and development of agricultural plants, leading to reduced yields. Carbon nanoparticles, particularly fullerene C₆₀, due to their unique physical, chemical, and biological properties, may serve as modulators of resistance to stressful conditions such as drought, enhancing the physiological and biochemical processes at both the cellular and whole plant levels. This research aimed to investigate the effect of fullerene C₆₀ on the morphometric parameters of microgreen peas (*Pisum sativum*) of the ECO variety under water deficit conditions. Structured water-soluble carbon nanoparticles of fullerene C₆₀ were employed. C₆₀ molecules were transferred from an organic solution into the aqueous phase, followed by ultrasonic treatment. The morphometric indicators evaluated in the microgreen peas included shoot height, shoot diameter, number of leaves, leaf weight, plant weight, and root length.

Suggested Citation:

Tkachenko, T., Furmanets, S., Galuzynskyi, M., Ritter, U., & Prylutska, S. (2024). Effect of fullerene C₆₀ on morphometric parameters of microgreen peas (*Pisum sativum*) under water deficit conditions. *Biological Systems: Theory and Innovation*, 15(3), 41-52. doi: 10.31548/biologiya/3.2024.41.

*Corresponding author

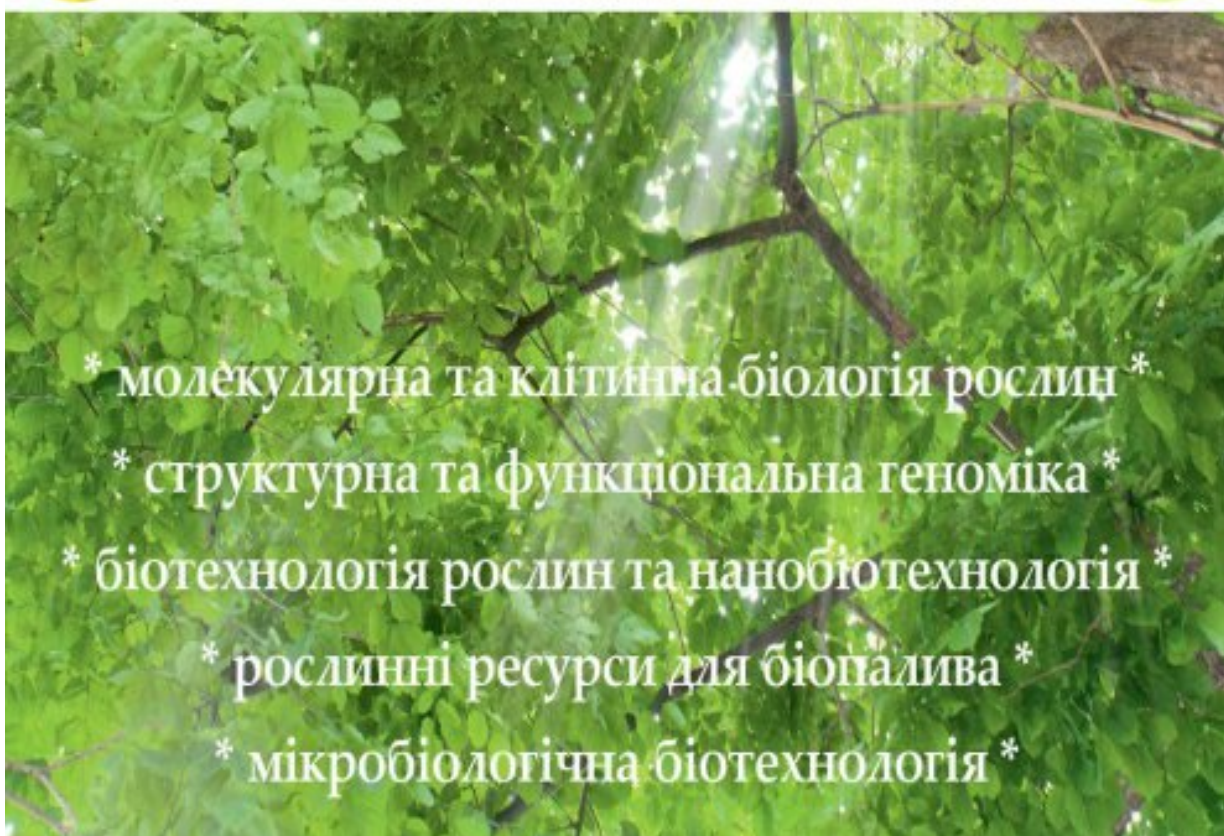


IV конференція молодих учених «БІОЛОГІЯ РОСЛИН ТА БІОТЕХНОЛОГІЯ»



до VII-го Міжнародного Дня Рослин в Україні

16-18 травня 2024 року, м. Київ



Бузіашвілі А.Ю., Кустовський Є.О., Шипша О. М., Ємець А.І. АНАЛІЗ ВПЛИВУ РІЗНИХ КОМБІНАЦІЙ ФІТОГОРМОНІВ НА МОРФОГЕНЕТИЧНИЙ ПОТЕНЦІАЛ ЕКСПЛАНТІВ ЦУКРОВОГО БУРЯКУ	27
Гуржий А.Є., Ткаченко Т.А. ВИКОРИСТАННЯ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> ЯК МОДЕЛЬНОЇ РОСЛИНИ ДЛЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	28
Гусейнова К.Е., Петрух А.О., Давидюк Д.А., Волошина І.М. ВПЛИВ CuNP _s НА РІСТ ТА РОЗВИТОК ЗЕРНОВИХ КУЛЬТУР	29
Гуцько К.І., Петріна Р.О. КУЛЬТИВУВАННЯ АМАРАНТУ В УМОВАХ <i>IN VITRO</i>	30
Федорченко В.С., Резніченко Л.С., Лютко О.Б., Вітрак К.В., Грузіна Т.Г., Дибкова С.М. АНТИМІКРОБНІ ВЛАСТИВОСТІ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА, СИНТЕЗОВАНИХ З ВИКОРИСТАННЯМ ЕКСТРАКТУ <i>MATRICARIA CHAMOMILLA</i> L.	31
Фурманець С.О., Галузінський М.О., Прилуцька С.В. ФІЗІОЛОГІЧНИЙ СТАН МІКРОЗЕЛЕНІ ГОРОХУ ПІСЛЯ ДІЇ C60 ФУЛЕРЕНУ	32
Nazratov A.T., Jurayeva H.K., Mustafina F.U., Abdinazarov S.H. BIOTECHNOLOGY AS MODERN APPROACH IN BIODIVERSITY CONSERVATION AND ENRICHMENT OF THE COLLECTION OF TASHKENT BOTANICAL GARDEN	33
Jamalova D.N., Mustafina F.U. PROPAGATION OF <i>FERULA SUMBUL</i> BY BIOTECHNOLOGICAL METHOD	34
Jurayeva H.K., Nazratov A.T., Mustafina F.U., Abdinazarov S.H. MICROPROPAGATION OF VALUABLE SPECIES OF TASHKENT BOTANICAL GARDEN COLLECTION	35
Коробкова К.С. ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДІВ БІОТЕХНОЛОГІЇ У ДОСЛІДЖЕННЯХ ЗБУДНИКІВ ФІТОПЛАЗМОЗІВ	36
Кушенко К.С., Кляченко О.Л., Кустовська А.В. ДОСЛІДЖЕННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ГВОЗДИКИ САДОВОЇ (<i>DIANTHUS CARYOPHYLLUS</i> L.)	37
Некрутенко А.І., Гринчук К.В. <i>AGROBACTERIUM</i> -ОПОСЕРЕДКОВАНА ТРАНСФОРМАЦІЯ МОДЕЛЬНОЇ РОСЛИНИ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> МЕТОДОМ «FLORAL DIP»	39
Обезюк І. М., Михалків Л. М., Коць С. Я. ФОРМУВАННЯ ТА ФУНКЦІОНУВАННЯ СИМБІОТИЧНИХ СИСТЕМ СОЇ ЗА ВИКОРИСТАННЯ НАНОКАРБОКСИЛАТІВ ГЕРМАНІЮ І ЦИНКУ НА ФОНІ ЗАСОЛЕННЯ	40
Пикало С.В., Юрченко Т.В., Харченко М.В. ОЦІНКА <i>IN VITRO</i> СОРТІВ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ НА ПОСУХОСТІЙКІСТЬ	41
Арслан (Плоховська) С.Г., Гарсія-Вілларак А., Фуенте-Гонсалес Е., Лукас Х.А., Гутьєррес-Маньєро Ф.Х., Рамос-Соляно В., Рамос-Соляно Б., Ємець А.І. ВИКОРИСТАННЯ RGPV ДЛЯ БІОСИНТЕЗУ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА, ЇХ ХАРАКТЕРИСТИКА ТА АНТИБАКТЕРАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ	41
Потупа В. Ю., Косинська Т.В., Шкотова Л.В., Волошина І.М. НАНОПРАЙМУВАННЯ ZnONP _s ЗЕРНОВИХ КУЛЬТУР	42
Теслюк Н. І., Газіна І.М. ПЕРВИННІ ЕТАПИ КЛОНАЛЬНОГО МІКРОРОЗМНОЖЕННЯ <i>VACCINIUM ULIGINOSUM</i> L. В КУЛЬТУРІ <i>IN VITRO</i>	44
Чорнобров О.Ю., Чорнобров О.Ю. ОПТИМІЗАЦІЯ ПРОТОКОЛУ СТЕРИЛІЗАЦІЇ ТКАНИН РОСЛИН <i>TILIA PLATYPHYLLOS</i> SCOP. <i>IN VITRO</i>	45
<u>РОСЛИННІ РЕСУРСИ ДЛЯ БІОПАЛИВА</u>	
Бірук Я.Ю. БІОПАЛИВО ЯК ВАЖЛИВА АЛЬТЕРНАТИВА ВИКОПНИМ ДЖЕРЕЛАМ ЕНЕРГІЇ	46

ФІЗІОЛОГІЧНИЙ СТАН МІКРОЗЕЛЕНІ ГОРОХУ ПІСЛЯ ДІЇ C₆₀ ФУЛЕРЕНУ

Фурманець С.О., Галузінський М.О., Прилущка С.В.

Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ, Україна

e-mail: staszflormanets@gmail.com

Наразі значний інтерес у дослідників викликає вивчення впливу наночастинок різної природи на сільськогосподарські культури, зокрема на мікрозелень, яка є важливою складовою екосистем та вирощується як культура для харчування. Вуглецеві наноструктури завдяки унікальним фізико-хімічним і біологічним властивостям, а також структурі широко використовуються у різних галузях промисловості у тому числі сільському господарстві. Представником вуглецевих наноматеріалів є фулерен C₆₀. Завдяки гідрофобним властивостям, молекули C₆₀ можуть взаємодіяти з біологічними мембранами та концентруватися в неполярних ділянках клітинної мембрани, виявляти антиоксидантні властивості тощо.

Метою роботи було оцінити морфометричні показники, вміст фотосинтетичних пігментів та активність каталази у мікрозелені гороху після обробки насіння водним колоїдним розчином фулерену C₆₀ за різних концентрацій.

У роботі було використано горох сорту "Есо", виробника «АБІНА», урожаю 2022 року. Стерилізували насіння гороху розчином 0,1% борної кислоти упродовж 25 хв за кімнатної температури. Перед пророщенням насіння гороху попередньо замочували у водному розчині фулерену C₆₀ за відповідних концентрацій (проба 1 – 0,1 мкг/мл, проба 2 – 0,2 мкг/мл, проба 3 – 0,5 мкг/мл, проба 4 – 1 мкг/мл). Кожна проба містила 30 г насіння гороху. Водні розчини фулерену C₆₀ було синтезовано та охарактеризовано у хімічній лабораторії Технічного університету Ільменау (Німеччина). Біометричні показники мікрозелені гороху оцінювали за загальноприйнятими методиками. Вміст фотосинтетичних пігментів визначали у спиртових екстрактах проростків гороху спектрофотометричним методом при оптичному поглинанні 665, 649 та 441 нм. Активність каталази (КФ 1.11.1.6) оцінювали спектрофотометричним методом при поглинанні 410 нм. Оцінку досліджуваних морфометричних, фізіологічних і біохімічних показників проводили на 14 день після обробки насіння гороху розчином фулерену C₆₀. Статистичну обробку отриманих результатів було проведено за допомогою дисперсійного аналізу «ANOVA» та програми Excel 2016.

Результати досліджень. Після обробки насіння гороху розчином фулерену C₆₀ у досліджуваному діапазоні концентрацій 0,1–0,5 мкг/мл значення морфометричних показників (висота рослини, діаметр головного пагона, кількість листків, загальна маса рослини, маса усіх листків, довжина кореня) відповідали контрольним значенням. Тоді як після дії 1 мкг/мл фулерену C₆₀ виявлено незначне зменшення кількості листків (3 шт), висоти рослини на 13% (8,9 ± 0,1 см) і довжини кореня на 16% (13,01 ± 0,1 см), а також маси усіх листків на 32% (0,03 ± 0,001 г) порівняно з контролем. Нами не було відмічено значного впливу фулерену C₆₀ у досліджуваному діапазоні концентрацій на фотосинтетичну активність у проростках гороху. На 14 день після обробки 0,5 мкг/мл фулереном C₆₀ підвищувався вміст фотосинтетичних пігментів у проростках гороху хлорофілів а і b на 29% та каротиноїдів на 24 % порівняно з контролем. Крім того, після дії 0,1 і 0,2 мкг/мл фулерену C₆₀ було показано активацію каталази у проростках гороху на 24 % порівняно з контролем. Отримані нами результати можуть свідчити про реакцію рослин на стрес, або активний ріст.

Висновок. Отже нами було показано, що фулерен C₆₀ суттєво не впливає на фізіолого-біохімічний стан мікрозелені гороху та не виявляє фітотоксичних ефектів. Отримані результати свідчать про перспективність використання фулерену C₆₀ у сучасних агробіотехнологіях для підвищення врожайності, покращення стійкості рослини до факторів навколишнього середовища та інтенсифікації росту сільськогосподарських рослин.

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**Державний біотехнологічний університет**

Технологічний
університет Лулео,
Швеція

Університет
аграрних наук,
Швеція

Природничий
дослідницький
центр, Литва

Рейн-Ваальський
університет
прикладних наук,
Німеччина

Рейн-Ваальський
університет
прикладних наук,
Німеччина

КО «Харківський
зоопарк»

Миколаївський
національний
аграрний
університет

Харківський
національний
університет ім.
В.М. Каразіна

Інститут
сільського
господарства
карпатського
регіону НААНУ

**АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ,
ЕКОЛОГІЇ ТА ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ****МАТЕРІАЛИ МІЖНАРОДНОЇ НАУКОВОЇ КОНФЕРЕНЦІЇ**

14-15 травня 2025 р.

Харків
ДБТУ
2025

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Маджд С. М. // Challenges in science of nowadays: I Міжнар. наук.-практич. конф. Washington, USA. 2019. 101–104.
2. Лапань О.В., Міхеєв О.В. та ін. // Ядерна фізика та енергетика. 2020. 22(2): 172–177. <https://doi.org/10.15407/jnpae2020.02.172>
3. Isaenko V.M. et al. // Фізико-математичне моделювання та інформаційні технології 2020. 3(30): 41–49. <https://doi.org/10.15407/fmmit2020.30.041>
4. Ісаєнко В.М. та ін. // Екологічна безпека та технології захисту довкілля. 2021. 1: 12–16.
5. Міхеєв О.М. та ін. // Доповіді Національної академії наук України. 2022. 3: 92–98. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2022.03.092>
6. Маджд С.М. // Проект відновлення Каховської гідроелектростанції задля сталого розвитку суспільства. «Екологія, ресурси, енергія»: Міжнарод. наук.-практич. Конф. 2023. 29.
7. Маджд С.М. // Біологія та екологія. 2024. 1: 78-83. <https://doi.org/10.33989/2024.10.1.306017>
8. Маджд С.М. // «Євроінтеграція екологічної політики України»: VI Всеукраїнської наук.-практич. конф. 2024. 282–284.

МОДИФІКАЦІЯ ФУЛЕРЕНОМ C₆₀ НЕГАТИВНОЇ ДІЇ ПОСУХИ НА МІКРОЗЕЛЕНЬ ГОРОХУС. О. Фурманець¹, С. В. Прилуцька²

Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ, Україна,

¹студент, stasfurmanets@gmail.com²завідувач кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики, prylutska_svitlana@nubip.edu.ua

Сучасні кліматичні зміни, зокрема підвищення температури та нерівномірний розподіл опадів, призводять до зростання частоти посух, що істотно загрожує продуктивності сільськогосподарських культур [1]. Нанотехнології відкривають нові перспективи для підвищення стійкості рослин до стресових факторів [2]. Особливу увагу привертають структуровані і водорозчинні вуглецеві наноматеріали (фулери, нанотрубки тощо), які можуть сприяти зниженню втрат вологи та покращенню водного обміну, а також стимулювати ріст і біопродуктивність рослин у несприятливих умовах [3]. Фулерен C₆₀ завдяки своїм унікальним антиоксидантним властивостям, здатний підтримувати фізіологічну рівновагу клітин і сприяти активації захисних реакцій під час дії абіотичних стресів [4].

Метою роботи було знизити негативну дію посухи на морфометричні та біохімічні показники рослин гороху за використання структурованих вуглецевих наночастинок фулерену C₆₀.

У роботі було використано насіння гороху сорту Есо, яке попередньо стерилізували та замочували упродовж 24 год у колоїдному водному розчині фулерену C₆₀ за відповідних концентрацій — 5 мкг/мл, 10 мкг/мл, 25 мкг/мл, 50 мкг/мл. Як контроль використовували дистильовану воду. Водні розчини фулерену C₆₀ було синтезовано та охарактеризовано у хімічній лабораторії Технічного університету Ільменау (Німеччина). Оцінку морфометричних, фізіологічних і біохімічних показників проводили на 14 день після обробки насіння гороху розчином фулерену C₆₀. За умов нормального поливу та водного дефіциту. Біометричні показники мікрозелені гороху оцінювали за загальноприйнятими методиками. Вміст фотосинтетичних пігментів визначали у спиртових екстрактах проростків гороху спектрофотометричним методом при оптичному поглинанні 665, 649 та 441 нм. Активність

каталази (КФ 1.11.1.6) оцінювали спектрофотометричним методом при поглинанні 410 нм. Статистичну обробку отриманих результатів було проведено за допомогою *Microsoft Excel 2016* та *GraphPad Prism 7*.

Результати досліджень. За умов регулярного поливу фулерен C_{60} не спричиняв фітотоксичної дії: морфометричні показники рослин (висота пагона, діаметр пагона, кількість листя, довжина кореня, маса рослини) за концентрацій 5–50 мкг/мл C_{60} відповідали контрольним значенням. Оптимальною концентрацією C_{60} є 25 мкг/мл, за якої спостерігали найвищі значення вмісту хлорофілу *a* (на 11,6% вище порівняно з контролем), хлорофілу *b* (на 15,4%) та каротиноїдів (на 8,4%). Таким чином, попередня обробка насіння гороху фулереном C_{60} не пригнічувала ріст, а навпаки — стимулювала накопичення поживної маси в мікрозелені гороху. У дослідях з імітацією посухи ріст рослин пригнічувався, їх середня висота становила $11,69 \pm 7,88$ см, сира маса — $0,324 \pm 0,041$ г. Обробка фулереном C_{60} суттєво знижувала дію стресу: при концентрації C_{60} 25 мкг/мл рослини досягали більшої висоти ($21,24 \pm 7,91$ см) та сирової маси ($0,517 \pm 0,054$ г) порівняно з контролем із водним стресом. Одночасно вміст хлорофілів *a*, *b* та каротиноїдів у цих рослин був вищим, ніж у контрольних за умов посухи. Активність каталази залишалася практично незмінною в усіх варіантах експерименту (не залежала ні від дії C_{60} , ні від умов стресу).

Висновок. Отримані результати свідчать, що попередня обробка насіння гороху водним колоїдним розчином фулерену C_{60} у досліджуваному діапазоні концентрацій (5 мкг/мл, 10 мкг/мл, 25 мкг/мл, 50 мкг/мл) не спричиняє фітотоксичної дії за умов оптимального водозабезпечення, а навпаки — стимулює ріст мікрозелені та посилює біосинтез фотосинтетичних пігментів. У випадку водного дефіциту після застосування фулерену C_{60} підвищувалася стійкість мікрозелені гороху до дії стресу. Відсутність змін у каталазній активності за умов регулярного поливу, посухи й обробки фулереном свідчить, що дія молекул C_{60} , ймовірно, пов'язана не з інтенсифікацією антиоксидантної системи, а з підвищенням стабільності клітинних структур і зниженням потреби у запуску стрес-індукованих захисних механізмів [5]. Таким чином, фулерен C_{60} демонструє перспективність використання у агробіотехнологіях для регуляції механізмів стресостійкості у сільськогосподарських рослин.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Abbass K., Qasim M. Z., et al. // *Environmental Science and Pollution Research*. 2022. 29: 42539–42559.
2. Husen A., Siddiqi K. // *Journal of Nanobiotechnology*. 2014. 12(1): 16.
3. Khalid M. F., Iqbal Khan R., et al. // *Nanomaterials*. 2022. 12(21): 3915.
4. Tkachenko T., Furmanets S. et al. // *Biological Systems: Theory and Innovation*. 2024. 15(3): 41–52.
5. Grebowski J., Kazmierska-Grebowska P. et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. 23(1): 119.