

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ
Завідувач кафедри фізіології, біохімії
рослин та біоенергетики
_____ Світлана ПРИЛУЦЬКА
« ___ » _____ 2025 р.

БАКАЛАВРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «Пероксидне окиснення ліпідів у сої (*Glycine max*) за дії фулерену C₆₀»

Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія

Гарант освітньої програми

Кандидат біологічних наук,
доцент, завідувач кафедри
екобіотехнології та
біорізноманіття

(підпис)

Олена КВАСКО

Керівник бакалаврської кваліфікаційної роботи

Доктор біологічних наук,
професор, завідувач кафедри
фізіології рослин, біохімії та
біоенергетики

(підпис)

Світлана ПРИЛУЦЬКА

Виконала

(підпис)

Вероніка ВЕРЕМЄЄВА

КИЇВ – 2025

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри фізіології, біохімії
рослин та біоенергетики

_____ Світлана ПРИЛУЦЬКА

« ____ » _____ 2025 р.

ЗАВДАННЯ
на виконання бакалаврської кваліфікаційної роботи
студенту

Веремєєва Вероніка Олексіївна

Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія

Тема бакалаврської кваліфікаційної роботи «Пероксидне окиснення ліпідів у сої (*Glycine max*) за дії фулерену C₆₀»

затверджена наказом ректора НУБіП України від “22” жовтня 2024р. №1880

Термін подання завершеної роботи на кафедру 20 травня 2025 року

Вихідні дані до бакалаврської кваліфікаційної роботи: насіння *Glycine max*, вуглецеві наночастинки фулерен C₆₀, методики оцінки вмісту малонового діальдегіду та фенольних сполук.

Перелік питань, які потрібно розробити:

1. Провести аналіз літературних даних про застосування вуглецевих наночастинок у сільському господарстві.
2. Провести аналіз літературних даних щодо фітотоксичності вуглецевих наночастинок.
3. Оцінити морфометричні показники *Glycine max* після дії різних концентрацій фулерену C₆₀.
4. Оцінити вміст МДА у *Glycine max* як маркеру оксидативного стресу після дії різних концентрацій фулерену C₆₀.
5. Оцінити вміст фенольних сполук у *Glycine max* після дії різних концентрацій фулерену C₆₀.

Дата видачі завдання 1 вересня 2024 року

**Керівник бакалаврської
кваліфікаційної роботи**

_____ (підпис)

Світлана ПРИЛУЦЬКА

**Завдання прийняв до
виконання**

_____ (підпис)

Вероніка ВЕРЕМЄЄВА

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ	6
ВСТУП	8
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	10
1.1. Характеристика, структура та властивості вуглецевих наночастинок...	10
1.1.1. Фулерени	11
1.1.2. Графени.....	11
1.1.3. Нанотрубки.....	12
1.2. Застосування вуглецевих наноматеріалів у агробіотехнологіях.....	13
1.2.1. Потенціал карбонових наночастинок у сільському господарстві....	14
1.2.2. Вплив карбонових наноматеріалів на ріст і розвиток рослин	16
1.2.3. Регуляція біосинтезу вторинних метаболітів рослин	17
1.3. Біологічна активність фулерену C ₆₀ та його похідних.....	18
1.3.1. Антиоксидантні, протигрибкові, противірусні та антибактеріальні властивості	19
1.3.2. Механізм дії фулерену на живі організми.....	20
1.4. Пероксидне окиснення ліпідів як показник окисного стресу	21
1.4.1. Механізми пероксидного окиснення ліпідів у клітинах рослин.....	22
1.4.2. Біологічне значення малонового диальдегіду (МДА) як маркера окисного стресу	23
1.5. Особливості стресової відповіді сої (<i>Glycine max</i>)	23
1.5.1. Біохімічні і фізіологічні реакції сої на несприятливі умови	24
1.5.2. Участь фенольних сполук у стресовій відповіді сої	24
1.5.3. Можливості підвищення стресостійкості сої за допомогою карбонових наноматеріалів	25
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ	27
2.1. Реактиви та обладнання.....	27
2.2. Умови вирощування сої за лабораторних умов.....	28
2.3. Імітація водного дефіциту	29
2.4. Оцінка морфометричних показників сої.....	30
2.5. Визначення загального вмісту фенольних сполук у сої спектрофотометричним методом.....	32

2.6. Визначення загального вмісту МДА у сої спектрофотометричним методом.....	34
2.7. Статистична обробка отриманих результатів.....	37
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	38
3.1. Вплив фулерену C_{60} на морфометричні показники <i>Glycine max</i> за регулярного поливу та водного дефіциту	38
3.2. Вміст МДА у <i>Glycine max</i> після дії фулерену C_{60} за умов регулярного поливу та водного дефіциту	42
3.3. Вміст фенольних сполук у <i>Glycine max</i> після дії фулерену C_{60} за регулярного поливу та водного дефіциту	45
ВИСНОВКИ.....	50
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	52

РЕФЕРАТ

Бакалаврська робота на тему «Пероксидне окиснення ліпідів у сої (*Glycine max*) за дії фулерену C₆₀) виконана у навчально-науковій лабораторії «Біохімії та фітобіотехнології» кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики та представлена в обсязі 58 сторінок формату А4, містить 6 таблиць, 15 рисунків, 78 використаних джерел і складається з таких розділів:

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

Актуальність теми: вуглецеві наночастинки зокрема фулерени C₆₀ та їх водорозчинні похідні демонструють широкий спектр біологічної активності завдяки унікальній структурі, фізико-хімічним властивостям, нанорозмірності та гідрофобності молекули. Їхні противірусні, протигрибкові, антибактеріальні та антиоксидантні властивості відкривають перспективи їхнього використання у сільському господарстві. Сучасні дослідження в агробіотехнологіях спрямовані на вивчення впливу вуглецевих наночастинок на ріст, розвиток та синтез вторинних метаболітів у рослин. Вторинні метаболіти відіграють ключову роль у реакції рослин на стресові умови, їхній вміст може служити індикатором як ступеня стресу так і ефективності застосування наноматеріалів для його зменшення.

Зміни в рівні вторинних метаболітів під дією вуглецевих наночастинок вказують на стимуляцію захисних реакцій рослин і їхню здатність підлаштовуватися до нових умов. Отже, вивчення процесів взаємодії наночастинок із рослинними тканинами відкриває шлях до розробки дієвих методик підвищення стійкості культур до стресів та оптимізації

їх продуктивності. Водночас пошук інноваційних наноструктур із застосуванням в агротехнологіях мають на меті зменшити обсяги агрохімічних засобів та поліпшити якість сировини, що є актуальним завданням сучасної науки.

Враховуючи вищезазначені факти дослідження впливу фулерену C₆₀ на пероксидне окиснення ліпідів у сої (*Glycine max*) набуває особливого значення й висвітлює нові можливості для подальших досліджень. Воно дає змогу не лише оцінити роль фулеренів як природних антиоксидантів у рослинництві, а й закласти основу для інноваційних агротехнологічних рішень, спрямованих на покращення адаптивних властивостей рослин за несприятливих умов.

Об'єкт дослідження: використання вуглецевих наноматеріалів при вирощуванні зернових культур для регуляції внутрішньоклітинних механізмів стресостійкості.

Предмет дослідження: фізіологічні, біохімічні, морфометричні, спектрофотометричні. Статистичні.

Мета роботи: дослідити вплив фулерену C₆₀ за концентрації 1 мкг/мл, 2 мкг/мл, 5 мкг/мл, 10 мкг/мл для регуляції стресостійкості сої сорту Аріса; дослідити їх вплив на вміст фенольних сполук та малонового деальдегіду.

ВСТУП

Під час вирощування польових культур, зокрема сої (*Glycine max*), рослини постійно зазнають дії абіотичних і біотичних чинників – посухи, високої концентрації солі, теплових хвиль, дефіциту мікроелементів та патогенів – які знижують темпи росту, фотосинтез і, зрештою, урожайність [46, 55]. Одним із нових інструментів, що пропонують для пом'якшення цих стресів, є вуглецеві нанотрубки (ВНТ). Їхня sp^2 -гібридизована решітка надає високої електропровідності, великої питомої поверхні й здатність до тонкого хімічного «налаштування» поверхні, завдяки чому ВНМ розглядають як перспективні нанодобрива, сорбенти й носії регуляторних речовин у рослинництві [2-4].

Зіткнення ВНМ з рослиною майже завжди супроводжується швидким утворенням реактивних форм кисню (АФК), що запускає окисно-редукційний сигнал і ланцюг захисних реакцій [30]. На цьому тлі спостерігають зростання активності ферментів антиоксидантної системи – супероксиддисмутази, каталази, та аскорбатпероксидази – а також підвищене накопичення воринних метаболітів (фенольних кислот, ізофлавононів), які відіграють ключову роль у детоксикації АФК [7, 59]. Зокрема, одностінні ВНТ у низьких концентраціях підвищували схожість і посухостійкість проростків сої, водночас зменшуючи вміст малонового діальдегіду (МДА) – маркеру пероксидного окиснення ліпідів [60]. Фулеренол $C_{60}(OH)_{24}$, завдяки здатності акцептувати до шести електронів, демонструє потужний антиоксидантний ефект і перспективу як фоліарний протектор рослин [18].

Поряд із фулеролами значну увагу приділяють оксиду графену (ГО), який уведений у ґрунт у дозі $100 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$, підвищував водоутримувальну здатність субстрату та пом'якшував посуховий стрес у сої через кращий баланс транспірації та фотосинтезу [64]. Аналогічно, графенові й нанотрубкові композити демонструють хелатувальні властивості щодо іонів Fe^{2+} і Zn^{2+} , пролонгуючи їх доступність у ризосфері та стимулюючи розвиток кореневої системи [1, 7]. За опромінення світлом фулерени можуть утворювати синглетний

кисень і проявляти протигрибкову або антибактеріальну дію, що відкриває можливості для дружніх нанопестицидів [17].

Однак переваги ВНМ тісно пов'язані з потенційними ризиками. Підвищені дози спричиняють надлишкове генерування АФК, ліпідну пероксидацію та інгібування росту сої [41, 57]. Нерозчинні або слабо функціоналізовані ВНТ й фулерену здатні агломерувати, затримуватись у тканинах і створювати довготривалу екологічну загрозу [21]. Крім того, точність традиційного ТБК-тесту на МДА у рослинних зразках обмежена інтерференцією з пігментами та цукрами, що потребує вдосконалення HPLC- або LC-MS-методів для коректної оцінки оксидативного стану [66, 43].

Отже, ВНМ відкривають перспективи «точної» агротехнології – від доставлення мікроелементів і регуляторів росту до індукції антиоксидантних метаболітів у культурних рослин. Проте необхідно збалансувати стимуляційний ефект з довгостроковою безпекою агроecosystem. Особливо актуальним є дослідження фулерену C_{60} як найкраще охарактеризованої карбонової наноструктури з вираженими антиоксидантними властивостями та потенціалом регулювати пероксидне окиснення ліпідів. Саме ці аспекти – дія фулерену C_{60} на пероксидне окиснення ліпідів і фенольний обмін сої – стануть предметом дослідження даної бакалаврської роботи, спрямованої на поглиблення знань про молекулярні механізми стресостійкості та пошук нових підходів до підвищення урожайності культури.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Характеристика, структура та властивості вуглецевих наночастинок

Вуглецеві наночастинки (ВНЧ) охоплюють тривимірно різні алотропні форми карбону розміром ≤ 100 нм, об'єднані спільною рисою – sp^2 -гібридизованою решіткою, що формує делокалізовану π -систему і задає високу електропровідність і хімічну стабільність [2, 3]. За розмірністю ВНЧ поділяють на 0-D (фулерени), 1-D (вуглецеві нанотрубки, ВНТ) та 2-D (графен) структури, ієрархічне поєднання їх у композитах дає змогу варіювати міцність, теплопровідність і електричні характеристики полімерів та керамік [1, 4, 5].

Наноматеріали цієї групи синтезують випаровуванням графіту у дуговому розряді (фулерени, ВНТ), лазерною абляцією, а також методом хімічного осадження з газової фази (CVD) для контрольованого росту ВНТ і графенових плівок [6]. Велика питома поверхня (до $2600 \text{ м}^2 \cdot \text{г}^{-1}$ у графену) та відсутність «висячих» зв'язків забезпечують високі сорбційні й каталізаторні властивості, тоді як добір функціональних груп на поверхні відкриває шлях до регулювання змочуваності, зарядового стану та біосумісності [4, 19].

Поєднання унікальної механічної міцності (модуль Юнга графену й ВНТ $\approx 1 \text{ ТПа}$) із здібністю переносити заряд і поглинати радикали зумовлює інтерес до ВНЧ у біомедицині, енергетиці й аграрних технологіях. Наприклад, фулерени потенційно слугують радіо- та нейропротекторами [21], графен оксид (ГО) підвищує посухостійкість сої завдяки утриманню вологи [64], а функціоналізовані ВНТ стимулюють проростання насіння та антиоксидантний статус рослин [7, 8, 60]. Разом із тим, нерозчинність вихідних наноформ і можливі токсикологічні ризики вимагають подальших досліджень і стандартизації екологічних протоколів [18, 41].

1.1.1. Фулерени

Фулерени – замкнені клейстерні поліедри, утворені із 12 п'ятикутників та n шестикутників, де C_{60} (діаметр $\approx 0,71$ нм) є найстійкішим і найпоширенішим представником [22]. Завдяки сферичній π -оболонці молекула акцептує до шести електронів, що визначає виражені антиоксидантні та фотонні властивості; Нобелівська премія 1996 р. засвідчила фундаментальну важливість відкриття [22]. Синтез C_{60} здійснюють дуговим випаровуванням графіту або лазерною абляцією, після чого застосовують колонкову хроматографію для виділення цільної фракції [2, 18].

Хімічна модифікація дає широкий спектр водорозчинних похідних – фулеренолів, поліаддуктів Малона, амінометил- та карбоксил-замісників [14, 18]. Гідроксилювання робить частинки біосумісними і зберігає радикал-поглинаючу здатність, що підтверджено *in vitro* та на тваринних моделях оксидативного стресу [14, 19]. Фулерени проявляють фотоіндукований синглет-кисневий генеруючий ефект, тому досліджуються як фотосенсибілізатори у фотодинамічній терапії [17].

У рослинних системах наноформуляції C_{60} здатні підвищувати активність антиоксидантних ферментів (SOD, CAT) і знижувати вміст малонового діальдегіду, що свідчить про протекторну дію від пероксидного окиснення ліпідів [18]. Водночас нерозчинний C_{60} може агломерувати й накопичуватись у біоті; тому оцінка цитотоксичності та екотоксикології залишається актуальною [15, 21]. Для мінімізації ризиків використовують ковалентно функціоналізовані фулерени або включають їх у полімерні матриці, що запобігає вивільненню в довкілля [20].

1.1.2. Графени

Графен – одноатомний шар атомів С у гексагональній ґратці товщиною 0,34 нм, який поєднує рекордну рухливість носіїв заряду (до 2×10^5 $\text{cm}^2 \times \text{V}^{-1} \times \text{s}^{-1}$) і

модуль Юнга ~ 1 ТПа [2, 3]. Чистий графен одержують механічним «скотч-ексfolіаційним» методом, CVD-осадженням на Cu чи Ni фольгах або термічним розкладанням SiC; найбільш масштабований шлях – CVD, що забезпечує плівки площами до десятків см² [6].

Для підвищення дисперсності застосовують оксид графену (ГО), що містить гідроксил, епоксид та карбоксил-групи. Його отримують модифікованим методом Гаммерса, окиснюючі графіт KMnO₄/NaNO₃ у суміші H₂SO₄/H₃PO₄ [61]. «Зелені» варіації процесу залучають рослинну біомасу як джерело карбону, мінімізуючи токсичні відходи [63]. Редукований оксид графену (rGO) повертає високу електропровідність, зберігаючи дефектну структуру з можливістю хімічного «налаштування» [64].

У матеріалознавстві графенові нанонаповнювачі підвищують міцність і термостійкість полімерів за рахунок досконалої міжфазної взаємодії [1]. В агрономії ГО працює як «губка» для води та мікроелементів, покращуючи водоутримання та фотосинтетичну активність сої за посухи [64]. Біоцидна дія графен-окиснених площинок проти бактерій і грибів становить інтерес для захисту рослин, хоча механізми (механічне ушкодження клітин, екранування світла чи генерація ROS) ще обговорюються [2, 41]. Утилізація GO-відходів потребує контролю, аби уникнути його акумуляції у ґрунтах [41].

1.1.3. Нанотрубки

Вуглецеві нанотрубки – циліндричні згортки графену, одностінні (SWCNT) мають діаметр 0,8-2 нм, багатостінні (MWCNT) складаються з кількох коаксіальних трубок [3]. Хіральність (n, m) визначає електронний спектр: (n – m)/3 = ціле – металеві, інші – напівпровідники, що критично для наноелектроніки [2]. Серед методів синтезу CVD на Fe/Co каталізаторах вирізняється масштабністю й точним контролем довжини та чистоти ВНТ [71].

Надвисокий модуль Юнга (~ 1 ТПа) і межа міцності (> 100 ГПа) роблять ВНТ оптимальними армуючими добавками в композитах; 1 мас% ВНТ підвищує міцність епоксидів на 30-40% [1]. Хімічне окиснення кінців дає карбоксильовані ВНТ, які краще диспергують у воді й полімерних матрицях, а також слугують активними центрами для іммобілізації білків чи ферментів [6].

У рослинництві функціоналізовані ВНТ здатні проникати крізь клітинні стінки, транспортувати водорозчинні добрива й активувати внтиоксидантні ферменти, що стимулює проростання сої та підвищує її стійкість до посухи й солі [7, 8, 60]. Проте неокиснені трубки можуть агломерувати, затримуватися а тканинах і ініціювати утворення реактивних форм кисню [15, 41]. Зменшити токсичність дозволяє ковалентна функціоналізація або інкапсулювання в біополімери, що пришвидшує деградацію й виведення нанотрубок [18].

1.2. Застосування вуглецевих наноматеріалів у агробіотехнологіях

Агробіотехнології дедалі активніше інтегрують наноматеріали прагнучи підвищити ефективність традиційного землеробства і мінімізувати екологічні втрати. Серед усіх класів наноматеріалів вуглецеві – фулерени, оксид графену (ГО) та вуглецеві нанотрубки (ВНТ) – вирізняються хімічною інертністю ядра, багатофункційною поверхнею та здатністю до тонкого «налаштування» властивостей шляхом функціоналізації [9]. Їх застосовують як нанодобрива, сорбенти, носії пестицидів і сигналізуювальні агенти, що дає змогу точніше дозувати біологічно активні речовини, зменшувати втрати добрив через вилуговування й водночас покращувати стійкість культур до абіотичних стресів [10].

Одним із провідних напрямів є створення «розумних» систем доставлення поживних елементів. Графенові та фулеренові наноккомпозити, завдяки великій питомій поверхні й наявності карбоксильних/гідроксильних груп, здатні хелатувати іони Fe^{2+} , Zn^{2+} , B^{3+} і вивільняти їх у ризосфері впродовж тривалого періоду, що підвищує коефіцієнт засвоєння мікроелементів рослинами [1, 8].

Вуглецеві нанотрубки, зважаючи на електропровідність і капілярні канали вздовж осі, виступають провідниками води й катіонів, полегшуючи масоперенесення у ґрунт-кореновому континуумі та коригуючи водний баланс культур [7]. Дослідження на сої та *Vigna radiata* показали, що включення CNT-добавок (25-100 мг*кг⁻¹) стимулює біомасу й фотосинтетичну активність на 10-20% порівняно з контролем [7, 60].

Вуглецеві наноматеріали також розглядають як ґрунтові амендменти для керування вологоутримання. Наприклад, оксид графену, інтегрований у гідрогелеві матриці, підвищує польову вологоємність легких ґрунтів і знижує водний стрес сої, що відбивається на збільшенні площі листової поверхні та вмісту хлорофілу [64]. У сфері захисту рослин фулерени та ГО виявляють антибактеріальну й протигрибкову активність, пригнічуючи патогени без великої побічної токсичності для культури [8]. Крім того, завдяки фотосенсибілізуючим властивостям С₆₀ розробляють нанопрепарати для сонячно-керованого контролю мікробіоти листової поверхні [17].

Попри переваги, комерційне впровадження ВНМ стримується низкою ризик-чинників. Нерозчинні або слабо функціоналізовані нанотрубки й фудерени схильні до агрегації, що може знижувати біодоступність і спричиняти цитотоксичність у високих дозах [18]. Довготривала стабільність карбонових структур у ґрунтах не до кінця вивчена, існує імовірність кумуляції у харчових ланцюгах та перехресного впливу на мікробіом [10]. Тому стандартні протоколи оцінювання безпеки наразі переглядаються, а ключовими стратегіями залишаються ковалентна або полімерна функціоналізація наночастинок і суворе регламентування дозування [41]. У разі дотримання цих вимог вуглецеві наноматеріали мають потенціал стати основою «розумних» добрив і захисних засобів нового покоління, що поєднують підвищену ефективність із зниженою екологічною вартістю [9, 64].

1.2.1. Потенціал карбонових наночастинок у сільському господарстві

Вуглецеві наноматеріали (ВНМ) пропонують нову парадигму «точного» управління агросистемами, оскільки поєднують високу реакційну здатність поверхні з можливістю цілеспрямованого транспорту поживних речовин та активних сполук. Огляд літератури свідчить, що фулерени, оксид графену та вуглецеві нанотрубки розглядаються як багатофункційні нанодобрива, сорбенти і платформи для пестицидів, здатні зменшувати втрати діючих речовин і підвищувати коефіцієнт використання макро- та мікроелементів рослинами [9, 10, 11]. Так, графенові нанокompозити демонструють високу ємність до зв'язування іонів Zn^{2+} , Cu^{2+} і Fe^{2+} , забезпечуючи їх пролонгове вивільнення та запобігаючи вимиванню з ґрунту [1].

Окремий інтерес становлять наноматеріали на основі ВНТ, які завдяки кумулятивному ефекту високої площі поверхні та електропровідності можуть слугувати провідними каналами для обміну іонів і води між ризосферою і коренем. Експерименти з *Vigna radiata* показали, що карбонові наночастинки, внесені в концентрації $50 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$, збільшували біомасу на 15%, підсилювали фотосинтез і накопичення білка у листках [7]. Подібні результати отримані на сої, де обробка насінням одностінними ВНТ посилила посухостійкість у фазі проростання та підвищила схожість на 12% порівняно з контролем [60]. Крім того, оксид графену, змішаний із полівініловим спиртом, працює як ґрунтовий гідрогель, утримуючи вологу та пом'якшуючи ефект посухи у сої на легких ґрунтах [64].

Разом із перспективами існують і виклики. Низька розчинність «чистих» фулеренів та ВНТ зумовлює їх агломерацію, що може знижувати біодоступність і підвищувати ризик фітотоксичності. Огляди підкреслюють потребу стандартизувати методи функціоналізації, що підвищують гідрофільність і зменшують токсичний вплив на біоту [8, 9]. Додатково слід враховувати довготривалу стабільність ВНМ у ґрунті та можливий перенос харчовими ланцюгами, що робить актуальними дослідження їх екологічної безпеки та регуляторних аспектів упровадження [10].

1.2.2. Вплив карбонових наноматеріалів на ріст і розвиток рослин

На початкових етапах онтогенезу ВНМ здатні модулювати проростання насіння. Одностінні ВНТ, нанесені на насіння сої у концентраціях 10-40 мг*л⁻¹, підвищували водопоглинання і швидкість проростання, що пов'язують із покращенням капілярного транспорту води через мікропори оболонки [60]. Подібно, обробка насіння біоенергетичних культур сумішшю фулеренолів та ВНТ стимулювала довжину проростків і активність α -амілази, що прискорює мобілізацію запасних вуглеводів [62]. Водночас роботи зі створення стрес-моделей свідчать, що надмірні дози наночастинок (≥ 200 мг*л⁻¹) можуть інгібувати проростання через механічне блокування пор та підвищення осмотичного потенціалу розчину [57].

У фазі вегетативного росту карбонові наноматеріали впливають на архітектоніку кореневої системи. За дефіциту вологи введення 100 мг*л⁻¹ графен оксиду збільшувало площу кореневої поверхні сої на 25% і знижувало втрати води листками, що супроводжувалося зростанням вмісту хлорофілу *a* та *b* [64]. Комплексні дослідження підтверджують, що в умовах водного стресу ВНТ активують експресію генів аквапоринів і гормонального сигналу АВА, оптимізуючи баланс транспірації та фотосинтезу [50, 51]. Аналіз протеому сої показав, що за обробки SWCNT відбувається накопичення білків, пов'язаних з електронним транспортом у хлоропластах і циклом Кальвіна, що корелює з підвищенням чистої продуктивності фотосинтезу [45].

Фізіолого-біохімічні дослідження демонструють, що карбонові наночастинок модулюють антиоксидантний статус рослин. На тлі посухи або засолення обробка сої ВНТ підвищувала активність супероксиддисмутази та каталази на 30-40%, знижуючи вміст малонового діальдегіду та електролітної втрати клітин [46, 56]. Додавання фулеролів до живильного середовища індукувало синтез проліну та фенольних антиоксидантів, що зміцнює клітинні мембрани під дією стресів [18, 19]. Таким чином, через регуляцію водного режиму, фотосинтезу та

антиоксидантної системи ВНМ позитивно впливають на ріст і розвиток рослин, проте ефект залежить від типу наноматеріалу, дози та умов середовища.

1.2.3. Регуляція біосинтезу вторинних метаболітів рослин

Вторинні метаболіти – феноли, ізофлавоноїди, терпеноїди – відіграють ключову роль у захисті рослин від окисдтивного стресу. Карбонові наночастинки здатні змінювати їхній біосинтез, діючи як слабкі eustress-фактори. Обробка листя сої суспензією фулеренолу ($50 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$) приводила до 1,4-разового збільшення сумарних фенолів і лінійно знижувала коефіцієнт пероксидного окиснення ліпідів, що пов'язують із активізацією фенілаланін-амоніакліази [18, 61]. Фолярне внесення бору в комплексі з графен оксидом підвищувало вміст ізофлавоноїдів геністеїну та діїдзеїну в насінні на 20% - ймовірно, через посилення сигналу ROS-/Ca²⁺-залежних кіназ [58].

Молекулярні дослідження свідчать, що CNM можуть змінювати транскрипцію генів шляху фенілпропаноїдів. У посолених умовах додавання SWCNT збільшувало експресію PAL, CHH і CHL що корелювало з накопиченням антиоксидантних флавоноїдів [56]. Подібний ефект виявлено для оксиду графену, який запуском помірної ROS-хвилі індукує сигнальний каскад MAP-кіназ і фенольний метаболізм у сої [64]. Водночас надлишок CNM ($\geq 250 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$) здатен пригнічувати фенілпропаноїдний шлях через генерацію надмірних ROS і виснаження глутамінового пулу [41].

Підвищення вмісту вторинних метаболітів має прикладне значення: фенольні антиоксиданти з насіння сої цінуються як нутрицевтики, тому контрольована обробка рослин наноматеріалами може стати стратегією «нанопраймінгу» для збагачення продукції біологічно активними речовинами [11, 59]. Утім, практичне впровадження потребує стандартизації дозування та оцінки довготермінових наслідків для екосистем [9].

1.3. Біологічна активність фулерену C₆₀ та його похідних

Фулерени є унікальним класом карбонових наночастинок, чия замкнена π -система надає їм електронно-акцепторних властивостей і визначає високу реакційну здатність у біологічних середовищах [22]. Ранні дослідження показали, що C₆₀ може виступати «губкою» для вільних радикалів і водночас бути фотосенсибілізатором, здатним генерувати синглетний кисень під опроміненням [17]. Згодом синтез широкого спектра водорозчинних похідних – фулеренолів, карбоксилатів, амінометильних та глікозильованих аддуктів – відкрив шлях до вивчення фармакологічних, антимікробних та рослин-стимулювальних ефектів C₆₀ [18, 23, 24].

Із біомедичної точки зору фулерен C₆₀ розглядають як багатофункційний антиоксидант, протектор нервової тканини та можливий носій лікарських молекул: сферична оболонка захищає інкапсульований агент від деградації, тоді як зовнішні гідроксильні або карбоксильні групи забезпечують розчинність і таргетність [20, 21]. У рослинництві водорозчинні фулереноли зарекомендували себе як стимулятори росту, що підвищують активність антиоксидантних ферментів і зменшують оксидативні пошкодження клітинних мембран за дії абіотичних стресів [18, 19]. Такий широкий спектр біологічних ефектів пояснюється можливістю C₆₀ взаємодіяти як із радикальними формами кисню, так і з компонентами мембран та білками-ферментами

Попри значний потенціал, застосування фулеренів пов'язане з низкою обмежень. Нативний C₆₀ практично нерозчинний у воді, схильний до агрегації та може накопичуватися у тканинах, що обумовлює необхідність хімічної модифікації для підвищення біосумісності [24]. Крім того, фотосенсибілізуючі й радикал-акцепторні властивості роблять можливими як антиоксидантні, так і прооксидантні ефекти залежно від дози та умов опромінення [15]. Отже, подальші дослідження мають бути спрямовані на оптимізацію структури похідних C₆₀ та регулювання їхнього дозування для безпечного використання в біомедицині й агротехнологіях.

1.3.1. Антиоксидантні, протигрибкові, противірусні та антибактеріальні властивості

Однією з найяскравіших біоактивних характеристик фулерену C_{60} є його здатність ефективно гасити реактивні форми кисню. Експерименти *in vitro* засвідчили, що кожна молекула C_{60} може приєднати до шести електронів, перетворюючись на поліаніон, й таким чином інактивувати супероксид-радикал та інгібувати утворення пероксидів ліпідів [14]. Водорозчинні фулереноли у моделях ліпосом знижували рівень малонового діальдегіду на 40-60% порівняно з контролем, підтверджуючи потужний антиоксидантний потенціал [19]. Подібну активність продемонстрували й дегідрогеновані похідні C_{60} , хоча максимальний ефект спостерігається саме у сильно гідроксированих формах, імовірно через кращу розчинність та доступність до радикальних центрів [16].

Фотохімічний аспект активності рояляється у здатності C_{60} під ультрафіолетовим і видимим світлом переходити в триплетний стан і виробляти токсичний синглетний кисень, що реалізовано в антимікробних системах. Нові C_{60} -похідні з кватернізованими піридилними групами пригнічували ріст *E. coli* та *S. aureus* за інтенсивності світла $3 \text{ мВт} \cdot \text{см}^{-2}$ уже при $1 \mu\text{М}$, демонструючи 4-5-логічне зниження життєздатності клітин [17]. Схожий механізм лежить в основі протигрибкової дії: опромінення суспензій *Botrytis cinerea* у присутності фулеролу приводило до руйнування мембран спор і втрати фунгістатичної активності грибка [24].

Противірусний потенціал фулеренів пов'язують із їхньою здатністю блокувати активні центри ферментів або порушувати структуру вірусної оболонки. Фулерени з пентафенільними замісниками ефективно інгубують HIV-протеазу, стабілізуючись у каталізаторній кишени ферменту й порушуючи процес дозрівання вірусних білків [22]. Гідрофільні C_{60} -сульфонати проявили 90% інгібування реплікації вірусу грипу А в клітинній культурі MDCK при концентрації $5 \mu\text{М}$, що свідчить про широкий спектр противірусної активності [25]. Крім того, катіонні фулеренові нанокмпозити посилюють ефект

традиційних антибіотиків, інактивуючи бактеріальні біоплівки за рахунок фотогенерації ROS [20].

1.3.2. Механізм дії фулерену на живі організми

Антиоксидантний механізм C_{60} ґрунтується на делокалізованій π -електронній системі, здатній стабілізувати багатоелектронні аніон-радикали. Нейтралізація супероксиду та гідроксил-радикалу відбувається шляхом акцепції електрона з одночасним перетворенням фулереної оболонки у менш реакційну форму [14]. Підтвердженням служить електрохемілюмінесцентний аналіз, де квазіреверсивні пік-сигнали шести послідовних редукцій C_{60} відповідають енергетично вигідним стадіям окисно-відновного процесу [14]. Гідроксил- та карбоксил- групи на поверхні полегшують сольватацію аніон-радикалів, пришвидшуючи реакцію «пастки» ROS [16].

В умовах опромінення відбувається протилежний процес – фотогенерація синглетного кисню. Після поглинання кванта світла C_{60} переходить у збуджений синглетний, а далі у триплетний стан із тривалим часом життя (≈ 40 μ s у воді), що сприяє енерго- або електрон-трансферу на молекулярний кисень [17]. У клітинах це викликає окисні пошкодження ліпідів, білків і ДНК, що лежить в основі фотодинамічного антибактеріального та протиракового ефектів C_{60} -похідних [15]. Баланс між анти- та прооксидантною дією визначається співвідношенням інтенсивності світла, концентрації наночастинок і рівнем ендогенного кисню.

Крім прямої взаємодії з ROS, фулерени здатні модулювати сигнальні шляхи. В рослинах фулерол індукує сигнальний каскад Ca^{2+} /ROS-залежних кіназ, що приводить до зростання активності супероксиддисмутази [18]. У тваринних моделях доведено, що C_{60} проникає крізь гематоенцефалічний бар'єр, зв'язується з мітохондріальними мембранами та стабілізує їх, зменшуючи вивільнення цитохрому c і попереджуючи апоптоз нейронів при ішемічному ураженні [21].

Загалом біоактивність фулеренів визначається подвійністю їхніх електронних властивостей: у темряві вони є потужними «поглиначами» радикалів, тоді як на оболонки дозволяє зміщувати цей баланс. Гідрофільні групи підсилюють антиоксидантний вектор і біосумісність у той час як кватернізовані та піродазольні аддукти роблять фулерени ефективними протимікробними фотохімічними агентами [23, 24]. Розуміння цих механізмів є ключем до раціонального дизайну безпечних і ефективних препаратів на основі фулеренів для медицини, захисту рослин та навколишнього середовища.

1.4. Пероксидне окиснення ліпідів як показник окисного стресу

Ліпідні мембрани рослин насичені поліненасиченими жирними кислотами (ПНЖК), що робить їх головною «мішенню» реактивних форм кисню (ROS). Атака ROS ініціює пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) – ланцюговий автокаталітичний процес, унаслідок якого накопичуються гідропероксиди, малоновий діальдегід (МДА) та інші вторинні токсичні продукти [35, 36]. Інтенсивність ПОЛ прийнято вважати інтегральним індикатором окисного стресу, оскільки вона відображає баланс між утворенням ROS і здатністю клітини їх нейтралізувати [30, 32]. У стресованих рослин ПОЛ корелює з ушкодженням фотосинтетичного апарату, порушенням цілісності мембран і пригніченням росту, тому визначення маркерів ПОЛ входить до стандартного набору фізіолого-біохімічних тестів на стійкість культур [38].

Класичні методи аналітики базуються на спектрофотометричному визначенні ТБК-активних речовин (ТБК-АР), де основним хромоформом є МДА. Хоча метод простий і чутливий, він може давати завищені результати через перехресні реакції вуглеводів, фенолів і пігментів, що потребує ретельного контролю протоколу приготування проб і додаткових зротографічних верифікацій [41, 66]. Сучасні підходи включають HPLC-комбіноване визначення МДА та 4-гідроксिनоненалю (4-ГНН) або мас-спектрометричний моніторинг ізотопно-мічених продуктів ПОЛ, що підвищує специфічність аналізу [43, 44].

Усе це підкреслює важливість ПОЛ-індикаторів як інструмента діагностики окисного стресу та оцінки ефективності захисних заходів.

1.4.1. Механізми пероксидного окиснення ліпідів у клітинах рослин

ПОЛ ініціюється реакціями перенесення електрона від ПНЖК до ROS. Основними «збудниками» слугують гідроксил-радикал ($\bullet\text{OH}$), синглетний кисень та феррил-радикали. Що утворюють у реакції Фентона за участі $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ [31]. У рослин вільне Fe^{2+} накопичується у хлоропластах і пероксисомах під дією теплового чи солевого стресу, посилюючи утворення $\bullet\text{OH}$ і запускаючи ПОЛ [32]. Першим етапом є абстракція атома водню від аллілової метиленової групи ПНЖК, утворення алкіл-радикалу ($\text{L}\bullet$) і його швидка реакція з O_2 з формуванням ліпідного пероксил-радикалу ($\text{LOO}\bullet$) [35].

Стадія розгалуження полягає в тому, що $\text{LOO}\bullet$ абстрагує водень від сусідніх ПНЖК, генеруючи нові $\text{L}\bullet$ і гідроперокси (LOOH), що підтримує ланцюгову реакцію [36]. У рослин до хімічного ПОЛ додається ферментативний шлях за участі ліпоксигеназ (LOX), які специфічно пероксидазують ПНЖК у 9- та 13-гідроперокси; активність LOX зростає під дією абіотичних стресів і сприяє сигнальній функції оксіліпідів [33]. Ліпідні гідроперокси нестабільні: у присутності Fe^{2+} вони розщеплюються з утворенням МДА та 4-ГНН, які здатні ковалентно модифікувати білки та нуклеїнові кислоти [34].

У рослинних клітинах найвищі швидкості ПОЛ фіксують у хлоропластових тилакоїдах через високу концентрацію ПНЖК і інтенсивний електронний транспорт, що генерує ROS при світлових стресах [39]. Пероксисоми та мітохондрії також є джерелами H_2O_2 і супероксиду, особливо за високих темпів фотореспірації [38]. Термінальна стадія ПОЛ – обрив ланцюга – відбувається при зіткненні двох радикалів або їх відновленні в присутності антиоксидантів (аскорбат, токоферол, флавіноїди), що перешкоджає подальшому поширенню ушкоджень [42].

1.4.2. Біологічне значення малонового деальдегіду (МДА) як маркера окисного стресу

МДА формується переважно з ω -6-ПНЖК (лінолева, арахідонова кислоти) на етапі розщеплення ліпідних гідропероксидів і є одним із найстабільніших вторинних продуктів ПОЛ [36]. Завдяки невеликій молекулярній масі і високій реакційності з тільними та аміногрупами білків МДА поширюється клітиною та викликає перехрні зшивання макромолекул, поглиблюючи стрес-ушкодження [34]. Його накопичення швидко зростає під дією високої температури, солі або дефіциту Fe та корелює з інтенсивністю електролітного витоку з плазмалеми [31].

Метод ТБК-АР (реакція з тіобарбітуровою кислотою) широко використовується для кількісної оцінки МДА в рослинних тканинах завдяки високій молярній екстинкції комплексу МДА-ТБК при 532нм [41]. Проте аналіз піддіється інтерференціях від вуглеводів і пігментів, що вимагає двоохвильової корекції (600 нм) або застосування HPLC-розділення [66]. Альтернативні флуориметричні та LC-MS-методи дозволяють одночасно визначити МДА і 4-ГНН, підвищуючи специфічність маркерного аналізу [43, 44].

Окрім діагностичної ролі, МДА виконує сигнальні функції. У низьких концентраціях альдегіду індукує експресію генів антиоксидантної системи (АРХ, GPX, GST) та фенілпропаноїдного шляху, підсилюючи синтез флавоноїдів [36]. Високі рівні МДА, навпаки, викликають репресію фотосинтетичних генів і запуск програми апоптозоподібної смерті клітин, що робить його «подвійним» сигналом стрес-виклику [37]. Таким чином, МДА є не лише зручним біомаркером, а й активним модулятором клітинної відповіді.

1.5. Особливості стресової відповіді сої (*Glycine max*)

Соя належить до культур із високою пластичністю метаболізму, але її врожайність різко падає під дією тепла, посухи, солі та дефіциту мікроелементів. Стресс-сигнал уже в перші години активує в листках та коренях каскад реакцій

Ca²⁺/ROS-залежних кіназ, що веде до перебудови протеому, гормонального балансу й антиоксидантної системи [45, 46]. Паралельно змінюється архітектура кореневої системи (подовження латеральних коренів, індукція аквапоринів) і синтез осмолітів (пролін, розчинні цукри), завдяки чому рослина підтримує водний статус під тривалою посухою [50, 55]. Накопичення фенольних антиоксидантів та ізофлавонів додатково зміцнює мембрани й пригнічує пероксидне окиснення ліпідів, що розглядається як ключовий маркер толерантності сортів [59].

1.5.1. Біохімічні і фізіологічні реакції сої на несприятливі умови

Соя реагує на абіотичні стреси активацією багатокomпонентної захисної програми. Протеомний аналіз листків показав, що за дії посухи різко зростає вміст білків енергетичного метаболізму (АТФ-синтаза, ферменти гліколізу) й одночасно вндуккуються теплошоківі HSP-шаперони, які запобігають агрегації зруйнованих білків [45]. Ці зміни супроводжуються посиленням фотодихання та пролінового циклу, що допомагає регулювати осмотичний потенціал клітини.

При водному дефіциті та високій температурі спостерігається перебудова вуглеводно-азотного обміну: активність нітратредуктази й рубіскози знижується, тоді як збільшується нагромадження розчинних цукрів, проліну і поліамінів, що стабілізують мембрани та білки [46, 51, 55]. Коріння стресованих рослин демонструє інтенсифікацію експресії аквапоринів, що сприяє підтриманню транспорту води; водночас наростає довжина латеральних коренів і густота корневих волосків, розширюючи зону поглинання [50].

1.5.2. Участь фенольних сполук у стресовій відповіді сої

Фенольні метаболіти є ключовою ланкою антиоксидантної системи сої. У фазі проростання короткочасний температурний або осмотичний стрес різко підвищує рівень фенолових кислот у зародковому корінці; після відновлення

умов концентрація залишається підвищеною, що вказує на «пам'ять» стресу [57]. За фоліарного стресу (висока температура, посуха) вміст ізофлавонів геністеїну й даїдзеїну в насінні збільшується до 120% від контролю, що корелює зі зростанням антиоксидантної здатності й товарної цінності врожаю [58]. Порівняння європейських сортів показало, що базовий пул фенольних сполук значно варіює генетично; сорти з вищою початковою концентрацією проявляють кращу толерантність до посухи й холодового шоку [59]. Молекулярні дослідження доводять, що під дією комбінованого біотичного (бур'ян *Cyperus rotundus*) й абіотичного (посуха) стресу активність фенілаланін-амоніакліази в корінні підвищується в 1,6 рази, а загальний рівень фенольних кислот – у два рази, що зменшує накопичення МДА й підсилює стійкість [61].

Антиоксидантна та хелатуюча здатність фенолів сприяє дезактивації метал-залежних реакцій Фентона і зменшенні ПОЛ. Крім безпосереднього радикал-поглинання, фенольні ізофлавоони є фітоалексинами, що інгібують розвиток патогенів, а також сигнальними молекулами, які активують системний захист рослини. Тому підвищення фенольного профілю є однією з важливих стратегій селекції та агротехнологічного «праймінгу» сої.

1.5.3. Можливості підвищення стресостійкості сої за допомогою карбонових наноматеріалів

Карбонові наноматеріали (КНМ) демонструють перспективу як «нанопраймінг»-агенти для насіння та як ґрунтові амендменти, що посилюють толерантність сох до стресів. Обробка насіння одностінними вуглецевими нанотрубками підвищила схожість у посухових умовах на 12% і зменшила МДА на 30% порівняно з контролем [60]. Відзначено наростання активності SOD і САТ, що свідчить про індукцію антиоксидантного статусу.

На вегетуючих рослинах внесення наночастинок графен оксиду збільшувало водоутримання субстрату, сприяло росту кореневої системи та підвищувало відносний вміст води в листках, у результаті чого рослини краще

витримували 10-денний період посухи [64]. Комплексний стрес у тепличних експериментах показав, що додавання наноматеріалів із сажі (CBN) у ґрунт пом'якшує зниження біомаси сої, імовірно завдяки модуляції гормонального профілю та стабілізації фотосинтезу [63].

В аспекті живлення КНМ можуть діяти як нанотраспортери. Комбінована обробка насіння карбонними наночастинками й солями макроелементів збільшувала запасний N і P у проростках та сприяла швидкому переходу до фотосинтетичної автономії [62]. Проте ефективність залежить від типу й дози наночастинок: перевищення порогу $200 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$ може інгібувати ріст через агрегацію і механічне блокування пор тканин [57]. Тому ключовими залишаються оптимізація концентрації, поверхневої функціоналізації (гідроксил, карбоксил) і суворий моніторинг еотоксикологічних показників перед широким застосуванням.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

2.1. Реактиви та обладнання

У роботі використано водний колоїдний розчин наноструктурованих фулеренів C_{60} (вихідна концентрація 0,15 мг/мл), який було синтезовано та охарактеризовано у хімічній лабораторії Інституту біотехнологій Технічного університету м. Ільменау (Німеччина), та люб'язно наданий для досліджень професором Уве Ріттером. У цьому дослідженні використовували стабільний колоїдний розчин фулерену C_{60} у діапазоні в чотирьох різних концентраціях 1 мкг/мл, 2 мкг/мл, 5 мкг/мл та 10 мкг/мл.

Для проведення біохімічних аналізів на ферментативну активність, кількість малонового діальдегіду та фенольних сполук використовували наступні реактиви:

- 0,03% розчин H_2O_2
- 4% розчин молібдату амонію
- 1М фосфатно-сольовий буфер
- 0,1% трихлороцтової кислоти
- 20% трихлороцтової кислоти
- 0,5% тіобарбітурової кислоти
- реактив Фоліна-Чокальтеу
- 96% етанол
- 7,5 % Na_2CO_3

Сертифіковане насіння сорту сої Аріса було отримано від офіційного дистриб'ютора Семенсес Прогрейн ІНК (Канада) в Україні.

У дослідженнях використовували наступне обладнання:

- Центрифуга CM-3M MICROmed
- УФ-спектрофотометр Shimadzu UVmini-1240
- аналітичні ваги TBE 015-0.001-a
- рН-метр ADWA AD1030

- Водяна баня VN-06.

2.2. Умови вирощування сої за лабораторних умов

Для вирощування сої в контрольованих лабораторних умовах не потрібні великі площі поля й тривалий вегетаційний період – достатньо горщиків або петрі-чашок із відповідним наповнювачем. Оптимальною температурою проростання насіння сої становить 25 °С, а найкращий діапазон 20-30°С . Соя також може проростати при температурі 8-10 °С, але в цьому випадку сходи з'являються значно пізніше, ніж при оптимальних умовах.

Спочатку насіння промивали від забруднень протоковою водою, далі відбраковували некондиційне насіння за візуальними ознаками уражень та з урахуванням однорідності форми та розмірів. Соя з пошкодженими оболонками не використовувалась для висадки.

Перед посадкою у ґрунт насіння було поміщене у чашки Петрі зі змоченим фільтрувальним папером у місце з доступом до прямих сонячних променів та протягом однієї доби проростало при температурі +20°С. Після проростання насіння рівномірно висаджували у попередньо зволожену ґрунтосуміш і вирощували при температурі +23°С та 15-годинному фотоперіоді (Рис.2.1.).



Рис. 2.1. Насіння сої висаджене у ґрунтосуміш

У дослідженні ми використовували як субстрат ґрунтосуміш для розсади бренду «Zelen Dar» (Рис. 2.3.). Склад ґрунтосуміші: торф верховий, дернова земля, пісок, мінеральні добрива, Фосфор, Азот, Калій, Мікроелементи (В, Сu, Fe, Mn, Zn, Mo). Кислотність рН 5,5-6,5. Вологість 30-60%.



Рис. 2.2. Ґрунтосуміш

Обробку розчином фулерену C_{60} по листку здійснювали на тринадцятий день після проростання, тобто після появи двох справжніх листків. Контрольні зразки рослин обробляли розчином дистильованої води. Рослини обробляли розчином фулерену C_{60} у діапазоні концентрацій – 1 мкг/мл, 2 мкг/мл, 5 мкг/мл, 10 мкг/мл. У кожній пробі було висаджено по 10 рослин. Після чого оброблені зразки (контрольні та з розчином фулерену C_{60}) поміщали у затемнене місце на три години, а потім повертали на підвіконня для подальшого росту та розвитку.

Досліди проводили через 21 день після посадки.

2.3. Імітація водного дефіциту

При вирощуванні сої – посуху імітували методом в'янення Туманова [67]. Для цього рослину вирощують у вегетаційних горщиках, у певній фазі розвитку

припиняють полив, і відновлюють тоді, коли рослина починає в'янути. Полив ми припинили після обробки фулереном C_{60} , на тринадцятий день після проростання насіння. Відновили полив за день до досліду. Іншу групу рослин (за умов регулярного поливу) регулярно поливали та підтримували ґрунт зволеним.

2.4. Оцінка морфометричних показників сої

На 21 день після проростання і відповідно восьмий день після обробки розчином фулерену C_{60} було ретельно відібрано по п'ять індивідуальних проростків сої з кожної проби, для мінімальної вибірки. Цей відбір був зроблений для того, щоб забезпечити достатню кількість зразків для попереднього вимірювання різних морфометричних показників, які включали, але не обмежувались, довжиною пагонна, довжиною кореня, загальною довжиною проростків, кількістю листків та загальною масою проростку. Ці саджанці були сфотографовані, щоб слугувати візуальним звітом, який документує стан і зовнішній вигляд саджанців під час дослідження (Рис. 2.3.-2.4.).



Рис. 2.3. Фото зразків сої за регулярного поливу контрольної проби на 21 добу після пророщення



Рис. 2.4. Фото зразків сої з водним дефіцитом контрольної проби на 21 добу після пророщення

Саджанці акуратно виймали з ґрунту, приділяючи особливу увагу тому, щоб не пошкодити кореневу систему. Для забезпечення чистоти вимірювань, ґрунт, який залишався на коренях після вилучення, акуратно видалявся вручну. Кожен саджанець поклали на рівну поверхню поряд з стандартною лінійкою з точністю до міліметра для вимірювання відстані від самої основи пагона до кінчика пагона. Цей метод був послідовно застосований до всіх саджанців.

Після вимірювання довжини за допомогою аналітичних ваг визначали вологу вагу кожного саджанця. Кожен зразок окремо зважували на вагах, а між кожним вимірюванням ваги ретельно очищали, щоб запобігти неточним значенням, які можуть виникнути через залишки матеріалу від попереднього зразка.

2.5. Визначення загального вмісту фенольних сполук у сої спектрофотометричним методом

Для визначення загального вмісту фенольних сполук у рослинних зразках використовували модифікований метод Фоліна-Чокальтеу, що базується на спектрофотометричному аналізі [68]. Для кількісного визначення фенольних сполук у досліджуваних зразках проводили детальний біохімічний аналіз на двадцять перший день експерименту. Відбір та підготовку рослинного матеріалу проводили з дотриманням стандартних процедур пробопідготовки загальноприйнятих у біохімічних дослідженнях.

Фенольні сполуки відіграють ключову роль у захисті клітин від оксидативного стресу завдяки своїм антиоксидантним властивостям. Вони окиснюються реактивом Фоліна-Чокальтеу, до складу якого входить суміш фосфорно-вольфрамової ($H_2PW_{12}O_{40}$) та фосфорно-молібденової ($H_3PMo_{12}O_{40}$) кислот. Ці кислоти відновлюються до оксидів вольфраму (W_8O_{23}) блакитно-синього кольору та оксидів молібдену (Mo_8O_{23}). Адсорбція отриманого розчину при довжині хвилі 765 нм пропорційна вмісту фенольних сполук [69].

Експериментальна процедура включила спочатку приготування екстракту з рослинного матеріалу. Для цього ретельно відбирали 25-50 мг повітряно-сухої рослинної сировини та розтирали її у порцеляновій ступці зі скляним порошком для отримання однорідного зразка. Розтертий матеріал переносили у пробірки, додавали 1 мл 96% етанолу, після чого пробірки закривали корками та залишали у холодильнику для екстракції речовин протягом 24 годин (Рис.2.5.).

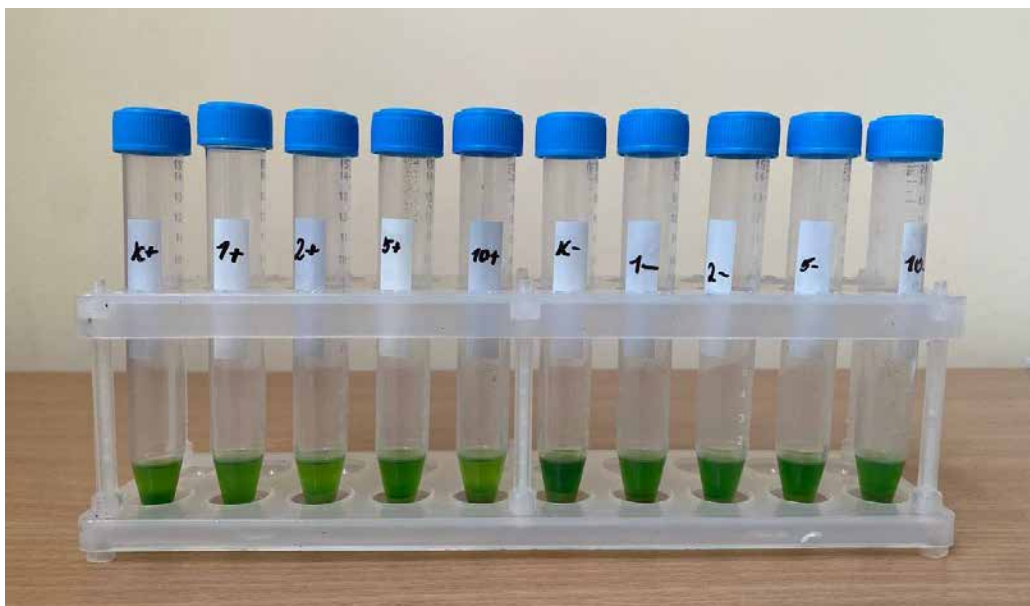


Рис.2.5. Спиртові екстракти рослин сої

Після екстракції відбирали 0,2 мл надосадової рідини та додавали 1,8 мл етанолу, досягаючи розведення 1:10. Суміш у пробірці ретельно перемішували. Відібрали 0,2 мл цієї суміші, додали 2 мл робочого розчину реактиву Фоліна-Чокальтеу (розведеного у співвідношенні 1:10) та 2 мл 7,5% розчину Na_2CO_3 . Пробірки експонували протягом 1 години для повного розвитку кольорової реакції (Рис.2.6.).

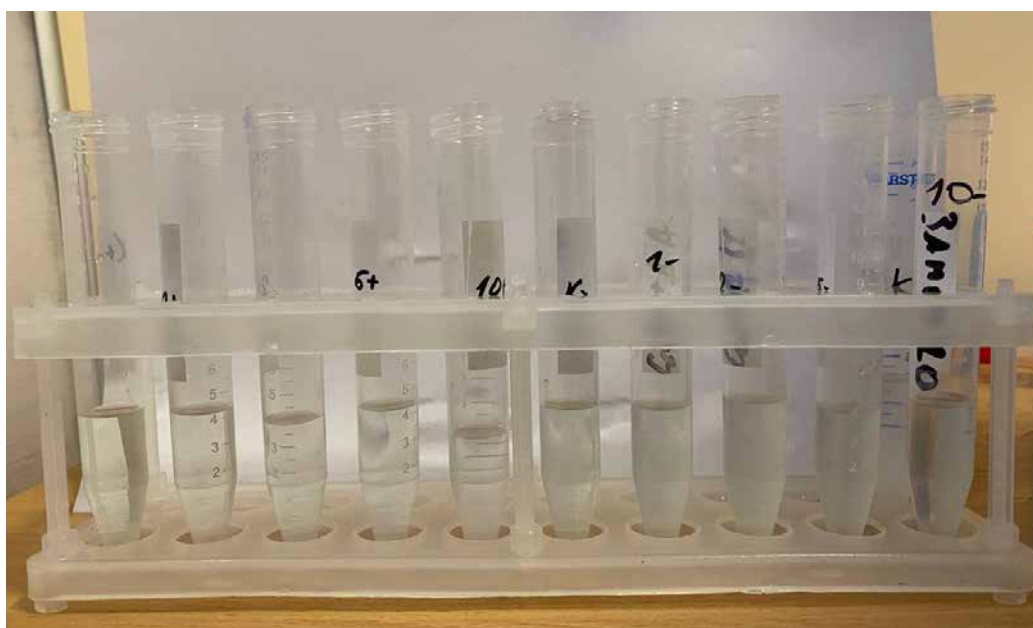


Рис.2.6. Пробірки з інкубаційною сумішшю після 1 години експонування

Для оптичного контролю готували розчин, додаючи 0,2 мл етанолу, 2 мл робочого розчину реактиву Фоліна-Чокальтеу та 2 мл розчину Na_2CO_3 . Цей контроль дозволяв виміряти фонове поглинання реагентів без присутності фенольних сполук.

Оптичну густину дослідних розчинів відносно оптичного контролю вимірювали після експозиції при довжині хвилі 765 нм за допомогою спектрофотометра. Цей прилад дозволяє точно вимірювати оптичну густину, що дає змогу кількісно визначити вміст фенольних сполук у зразках.

Загальний вміст фенольних сполук у досліджуваних зразках обчислювали за формулою:

(2.1.)

$$C = \frac{Ak \times 100 \times 25 \times 100}{m \times 540 \times (100 - W)};$$

де:

- A – адсорбція дослідного розчину;
- m – маса наважки сировини, г;
- 540 – коефіцієнт питомого поглинання розчину кислоти при довжині хвилі 765 нм;
- W – втрати в масі при висушуванні сировини, %.

Ця формула враховує поглинання світла, виключно спричинене реакцією фенольних сполук з реактивом Фоліна-Чокальтеу, та дозволяє коректно розраховувати їхній вміст у зразках.

2.6. Визначення загального вмісту МДА у сої спектрофотометричним методом

Для визначення малонового діальдегіду (МДА) у рослинних зразка використовували метод тіобарбітурової кислоти (ТБК), який базується на спектрофотометричному аналізі та є загальноприйнятим у біохімічних дослідженнях для оцінки рівня переисного окиснення ліпідів [72]. Детальний

біохімічний аналіз проводили спеціально для кількісного визначення МДА у досліджуваних зразках на 21-й день експерименту. Відбір та підготовку рослинного матеріалу здійснювали з дотриманням стандартних процедур пробпідготовки, що гарантувало точність відтворюваності результатів.

Малоновий діальдегід є одним з кінцевих продуктів перекисного окислення ліпідів і використовується як важливий маркер оксидативного стресу в клітинах [73]. Підвищенні рівні МДА свідчать про інтенсивне ушкодження клітинних мембран внаслідок дії активних форм кисню [10]. Він реагує з тіобарбітуровою кислотою, утворюючи кольоровий комплекс (МДА-ТБК аддукт), інтенсивність забарвлення якого можна виміряти спектрофотометрично при довжині хвилі 532 нм.

Експериментальна процедура включала кілька етапів, виконаних у послідовності без використання списків для кращого розуміння процесу. Спочатку відбирали 0,5 г зразків свіжого листа, які ретельно розтирали з 3 мл 0,1% (мас./об.) трихлороцтової кислоти (ТХК) у порцеляновій ступці. Цей етап забезпечував ефективне вивільнення МДА з клітинних структур рослинного матеріалу завдяки подрібненню та екстракції в присутності ТХК, яка осаджує білки та запобігає подальшому окисленню.

Отриману суміш переносили у пробірки та центрифугували при 5000 g протягом 15 хвилин. Центрифугування дозволяло відокремити рідку фазу (супернатант), що містить розчинений МДА, від твердих залишків рослинного матеріалу. Після цього відбирали 0,5 мл супернатанту та переносили його у чисту пробірку для подальшої реакції з тіобарбітуровою кислотою.

До відібраного супернатанту додавали 3 мл 20% розчину ТХК, що містить 0,5% тіобарбітурової кислоти. Суміш ретельно переішували, забезпечуючи повну взаємодію МДА з ТБК. Пробірки з реакційною сумішшю нагрівали на водяній бані за температури 95°C протягом 30 хвилин. Нагрівання сприяло утворенню МДА-ТБК комплексу з характерним рожевим забарвленням, яке є пропорційним до кількості МДА в зразку.

Після інкубації пробірки швидко охолоджували на водяній бані з льодом до кімнатної температури, щоб зупинити реакцію та стабілізувати утворений комплекс. Для видалення осаду суміш знову центрифугували при 5000 g протягом 10 хвилин (Рис.2.7.)



Рис. 2.7. Пробірки з сумішшю для оптичного вимірювання вмісту МДА

Оптичну густину прозорого надосадового розчину вимірювали за допомогою спектрофотометра при довжинах хвиль 532 нм та 600 нм. Вимірювання при 532 нм відповідає максимальному поглинанню МДА-ТБК комплексу, тоді як значення при 600 нм використовували для корекції можливого фонового розсіяння світла та впливу інтерферуючих речовин. Концентрацію МДА у досліджуваних зразках обчислювали за формулою:

(2.2.)

$$C = A_{532} - A_{600} \epsilon \times l \times Vm$$

де:

- A_{532} та A_{600} – оптичні густини при довжинах хвиль 532 нм та 600 нм відповідно;

- ϵ - молярний коефіцієнт екстинкції МДА-ТБК комплексу (становить $155 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$);
- l – довжина оптичного шляху кювети (звичайно 1 см);
- V – загальний об'єм реакційної суміші (мл);
- m – маса зразка (г).

2.7. Статистична обробка отриманих результатів

Отримані результати морфометричних показників, загального вмісту фенольних сполук та рівнів малонового діальдегіду (МДА), та активності каталази проводили за допомогою «ANOVA» та програми Excel 2024. Обраховували коефіцієнт кореляції Пірсона, однофакторний та багатофакторний дисперсійний аналіз, стандартну похибку та відхилення.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Вплив фулерену C₆₀ на морфометричні показники *Glycine max* за регулярного поливу та водного дефіциту

Через двадцять один день після пророщування ми провели морфометричний аналіз сіянців сої сорту Аріса за регулярного поливу та з водним дефіцитом, щоб оцінити вплив фулерену C₆₀ в діапазоні концентрацій 1 мкг/мл, 2 мкг/мл, 5 мкг/мл, 10 мкг/мл на ріст і розвиток рослин. Ми розраховували середні значення довжини пагонів, коренів, загальної висоти та маси для кожного зразка (див. Таблиці 3.1. та 3.2.). На основі цих даних були побудовані графіки, які ілюструють зміни параметрів росту рослин на 21-й день після пророщування (Рис. 3.1.-3.4.).

Таблиця 3.1.

Морфометричні показники сої сорту Аріса у контролі та після обробки фулереном C₆₀ на 21 день після пророщення за умов регулярного поливу

№	Проба	Довжина пагонів, см	Довжина коріння, см	Загальна висота, см	Сира маса, г
1	Контроль	17,1±3,54	22,5±1,86	39,4±3,41	1,65±0,03
2	+C ₆₀ 1 мкг/мл	17,24±3,51	11,44±2,54	28,66±2,07	1,45±0,04
3	+C ₆₀ 2 мкг/мл	16,84±4,62	14,74±5,43	31,58±3,56	1,54±0,08
4	+C ₆₀ 5 мкг/мл	15,58±2,45	13,62±1,99	29,2±4,58	1,49±0,05
5	+C ₆₀ 10 мкг/мл	15,96±3,24	15,18±2,51	31,14±0,87	1,53±0,04

У сої сорту Аріса за регулярного поливу встановлено, що обробка фулереном C_{60} має вплив на ріст і розвиток рослин залежно від концентрації. Використання фулерену загалом пригнічувало ріст та розвиток надземної та підземної частини рослин порівняно з контролем. Найбільш виражене зниження спостерігалось при концентрації 1 мкг/мл (-49,16% та -27,25% довжини кореня та загальної висоти відповідно порівняно з контролем), тоді як збільшення дози надало помірного стимулювального ефекту (підвищення кореневої довжини та висоти до 15,18 см та 31,14 см відповідно). Цей нелінійний тренд може свідчити про тахіфілаксію рослин до наночастинок та дозозалежну цитотоксичність низьких концентрацій фулерену.

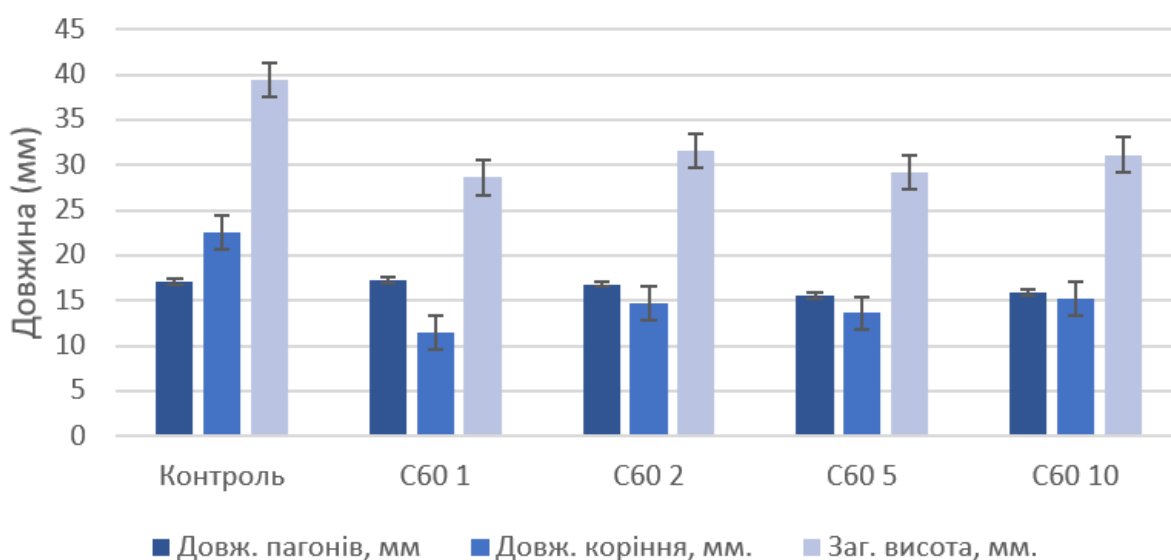


Рис. 3.1. Морфометричні показники сої сорту Аріса у контролі та після обробки фулереном C_{60} (мкг/мл) на 21 день після пророщення за умов регулярного поливу

Щодо сирової маси, то обробка фулереном C_{60} показала незначне пригнічення накопичення біомаси паростків, найсильніше – на рівні 1 мкг/мл (-12,12%). При збільшенні концентрації вага сирової маси частково відновилася до контрольних показників.

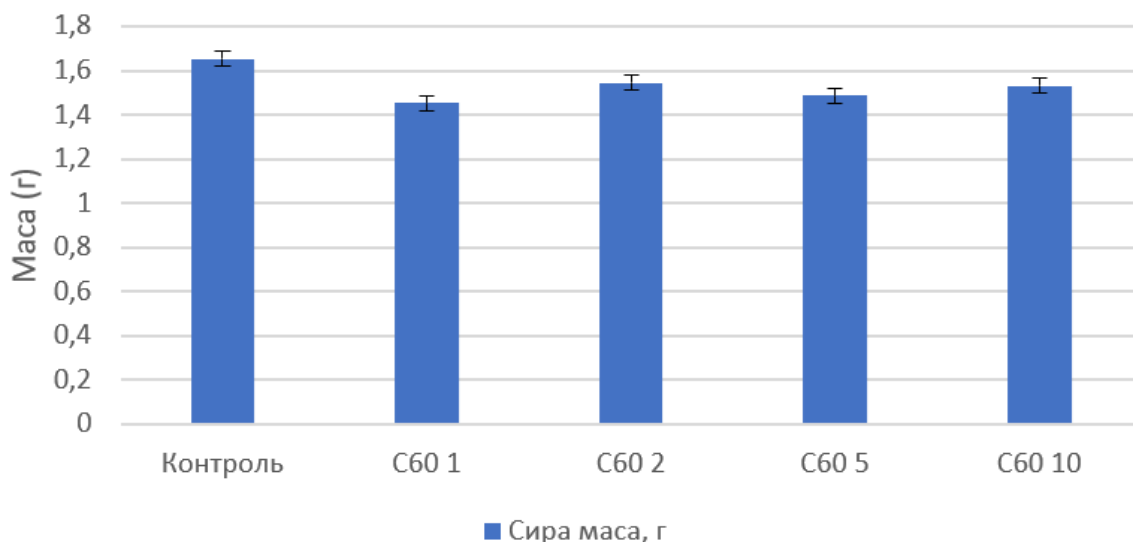


Рис. 3.2. Вага сирії маси сої сорту Аріса у контролі та після обробки фулереном C_{60} на 21 день після пророщення за умов регулярного поливу

Таблиця 3.2.

Морфометричні показники сої сорту Аріса у контролі та після обробки фулереном C_{60} на 21 день після пророщення за умов водного дефіциту

№	Проба	Довжина пагонів, см	Довжина коріння, см	Загальна висота, см	Сира сама, г
1	Контроль	14,84±2,53	13,92±2,44	28,76±2,22	1,33±0,03
2	+ C_{60} 1 мкг/мл	12,06±2,10	19,42±2,23	31,48±2,17	1,43±0,05
3	+ C_{60} 2 мкг/мл	14,06±4,51	13,8±4,11	27,86±4,24	1,33±0,05
4	+ C_{60} 5 мкг/мл	14,96±3,36	15,8±3,96	30,76±3,57	1,38±0,08
5	+ C_{60} 10 мкг/мл	15,22±3,91	17,98±3,12	33,2±3,43	1,38±0,06

У сої сорту Аріса за умов водного дефіциту фулерен C_{60} виконує роль біостимулятора. За найнижчої та найвищої концентрації (1 мкг/мл та 10 мкг/мл) значно посилювався розвиток кореневої системи – до 19,42 см (+39,52%) та 17,98 см (+29,16%) відповідно за рахунок активації антиоксидантних механізмів у коренях. За вищих доз фулерену (5-10 мкг/мл) відновлюють довжину пагонів до або вище контрольного рівня.

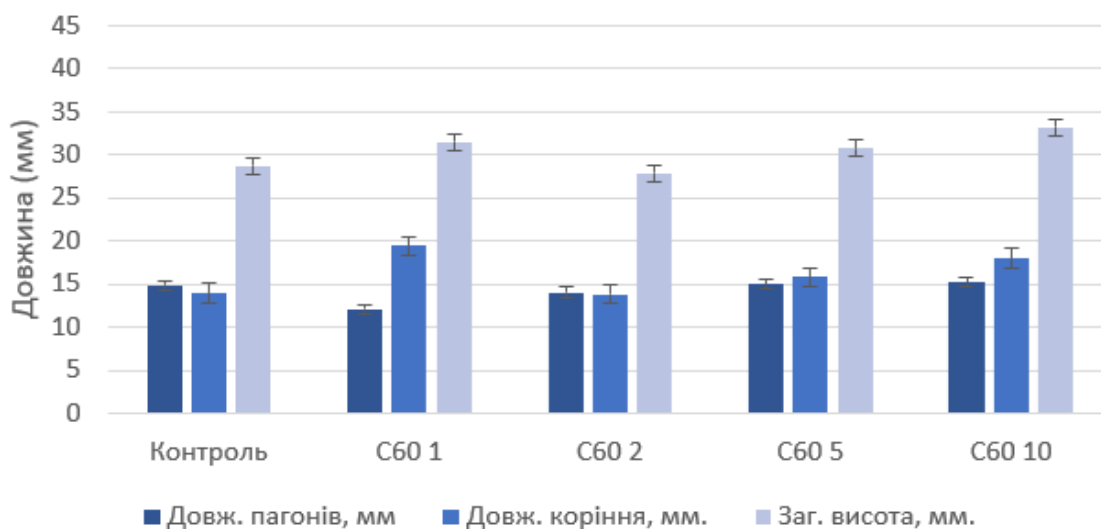


Рис. 3.3. Морфометричні показники сої сорту Аріса у контролі та після обробки фулереном C_{60} (мкг/мл) на 21 день після пророщення за умов водного дефіциту

Щодо сирої маси сої з водним дефіцитом, при концентрації фулерену C_{60} 1 мкг/мл сира маса виросла на 7,5%, що свідчить про посилення водоутримувальної здатності та зменшення пероксидного окиснення ліпідів. При вищих концентраціях (2-10 мкг/мл) сира маса залишалася на рівні 1,33-1,38 г, що дорівнює або перевищує контрольний показник на +3,76%.

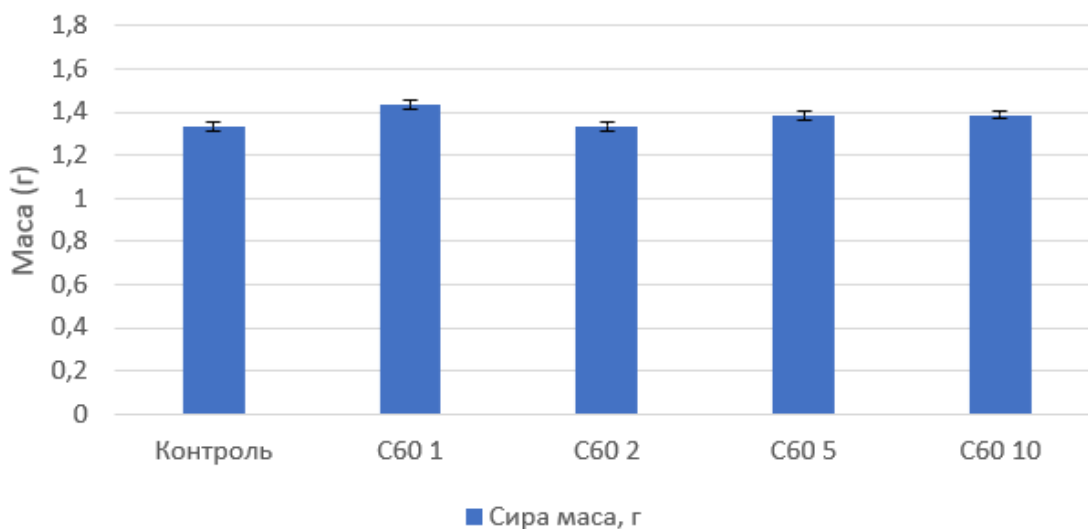


Рис. 3.4. Вага сирової маси сої сорту Аріса у контролі та після обробки фулереном C_{60} (мкг/мл) на 21 день після пророщення за умов водного дефіциту

За умов регулярного поливу за обробки фулереном C_{60} незначно пригнічувався ріст пагонів, коренів і накопичення біомаси, з найвираженішим інгібуючим ефектом при 1 мкг/мл (-12% сирової маси порівняно з контролем). Натомість за умов водного дефіциту низькі та високі концентрації фулерену значно покращують розвиток кореневої системи, загальну висоту та сиру масу (до + 7,5% порівняно з контролем), що свідчить про потенціал використання фулерену як стимулятора росту у сільському господарстві в умовах посухи.

3.2. Вміст МДА у *Glycine max* після дії фулерену C_{60} за умов регулярного поливу та водного дефіциту

Малоновий діальдегід (МДА) є одним із ключових показників інтенсивності перокисного окислення ліпідів у клітинах. Його рівень зростає під впливом активних форм кисню, які ушкоджують клітинні мембрани. Збільшення концентрації МДА зазвичай свідчить про розвиток оксидативного стресу, що може спричиняти порушення в структурі клітин і негативно позначатися на загальному стані та функціонуванні рослин.

На основі результатів вмісту МДА для сої за регулярного поливу (Табл. 3.3.) та сої за водного дефіциту (Табл. 3.4.) можна оцінити рівень оксидативного стрес в клітинах та адаптацію сої на дію фулерену C_{60} . Вищий рівень МДА може свідчити про більшу чутливість рослин до оксидативного стресу або про активні процеси захисної реакції, спрямованої на відновлення пошкоджених структур.

Таблиця 3.3.

Вміст МДА (мкмоль/г) у зразках сої сорту Аріса у контролі та за обробки фулереном C_{60} на 21 день після пророщення за умов регулярного поливу

№	Проба	С, мкмоль/г	Серед-ньокв. відх., σ
1	Контроль	17,85±0,02	0,15
2	+ C_{60} 1 мкг/мл	16,04±0,02	0,15
3	+ C_{60} 2 мкг/мл	19,97±0,03	0,17
4	+ C_{60} 5 мкг/мл	16,23±0,22	0,47
5	+ C_{60} 10мкг/мл	13,12±0,01	0,11

За результатами спектрофотометричного вимірювання для сої за регулярного поливу у контрольній пробі рівень МДА становив 17,85±0,02 мкмоль/г. Обробка фулереном при 1 мкг/мл дещо знизила його до 16,04±0,02 мкмоль/г (-10,14% порівняно з контролем), тоді як концентрація 2 мкг/мл викликала підвищення до 19,97±0,03 мкмоль/г (+12% порівняно з контролем). Подальші дози (5 та 10 мкг/мл) знизили вміст МДА до 16,23±0,22 (-0,08%) та 13,12±0,01 мкмоль/г (-26,5%) відповідно, що може вказувати на активацію захисних антиоксидантних механізмів при високих концентраціях наночастинок.

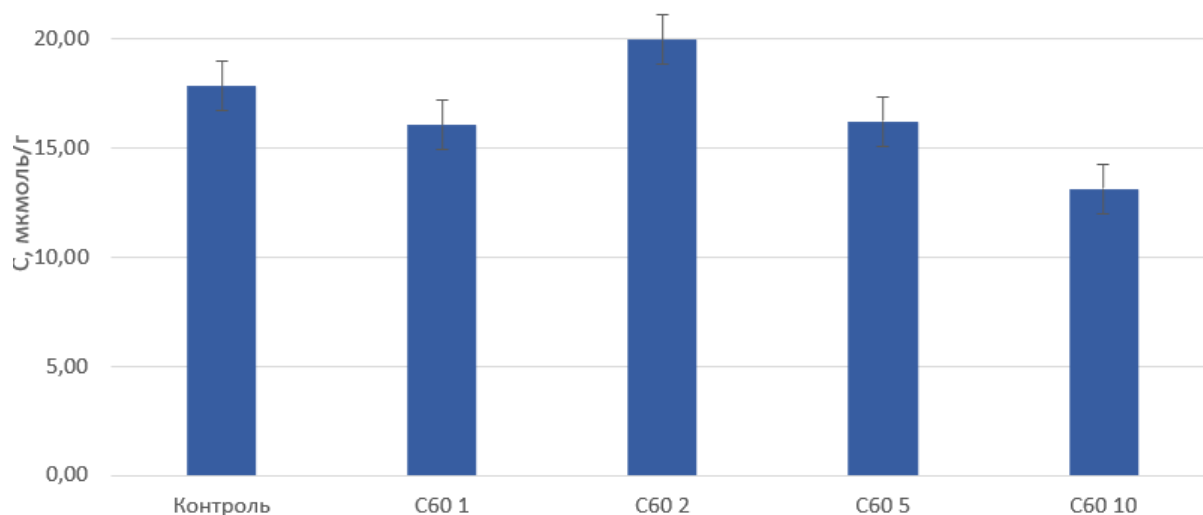


Рис. 3.5. Вміст МДА (мкмоль/г) у зразках сої сорту Аріса у контролі та за обробки фулереном C_{60} на 21 день після пророщення за умов регулярного поливу

Вміст МДА у рослин сої за умов водного дефіциту у контролі (без обробки ВНЧ) становило $16,43 \pm 0,02$ мкмоль/г, що на 7,99% нижче за контроль за умови регулярного поливу ($17,85 \pm 0,02$ мкмоль/г). Найбільший приріст МДА (+13,21% порівняно з контролем) спостерігався за концентрації фулерену 1 мкг/мл ($18,60 \pm 0,02$ мкмоль/г), що вказує на посилення оксидативного стресу на найнижчому рівні концентрації. За концентрації фулерену 2 мкг/мл відмічено помірне зростання вмісту МДА до $17,14 \pm 0,07$ мкмоль/г (+4,32% порівняно з контролем). Інгібіторний ефект помітний при 5 мкг/мл: вміст МДА різко знизився до $10,03 \pm 0,06$ мкмоль/г (-39% порівняно з контролем), що свідчить про ефективну активацію системи детоксикації перекисних продуктів. При концентрації фулерену 10 мкг/мл за умов водного дефіциту значення було наближене до контролю ($15,87 \pm 0,02$ мкмоль/г).

Таблиця 3.4.

Вміст МДА (мкмоль/г) у зразках сої сорту Аріса у контролі та за обробки фулереном C_{60} на 21 день після пророщення за умов водного дефіциту

№	Проба	C, мкмоль/г	Серед-ньокв. відх., σ
1	Контроль	16,43±0,02	0,15
2	+ C ₆₀ 1 мкг/мл	18,60±0,02	0,13
3	+ C ₆₀ 2 мкг/мл	17,14±0,07	0,26
4	+ C ₆₀ 5 мкг/мл	10,03±0,06	0,24
5	+ C ₆₀ 10 мкг/мл	15,87±0,02	0,15

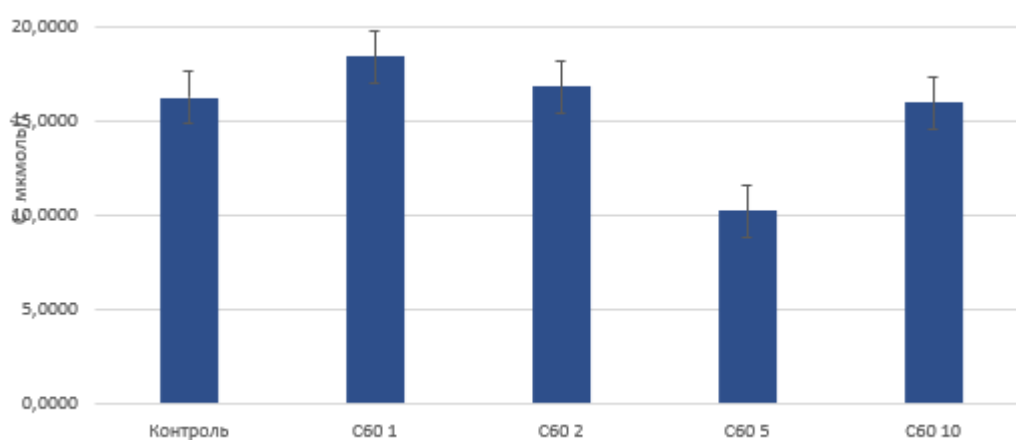


Рис. 3.6. Вміст МДА (мкмоль/г) у зразках сої сорту Аріса у контролі та за обробки фулереном C₆₀ на 21 день після пророщення за умов водного дефіциту

За регулярного зволоження значний стресовий ефект виявляється при 2 мкг/мл фулерену, тоді як за дефіциту води – при 1 мкг/мл. Концентрація 5 мкг/мл демонструє найбільш помітний протекторний ефект як за регулярного поливу так і за умов водного дефіциту, знижуючи рівень МДА нижче контрольного. Цей дозозалежний двофазний характер реакції вказує на те, що помірні та високі концентрації фулерену активують антиоксидантні системи, тоді як низькі викликають оксидативний стрес.

3.3. Вміст фенольних сполук у *Glycine max* після дії фулерену C₆₀ за регулярного поливу та водного дефіциту

Фенольні сполуки є важливим антиоксидантами в рослинах і виконують низку функцій: вони беруть участь у захисті від оксидативного стресу, викликаного активними формами кисню, зокрема під впливом зовнішніх стресорів [74]. Під впливом наноматеріалів рослина може змінювати активність антиоксидантних ферментів і синтез вторинних метаболітів, таких як фенольні кислоти, що мають важливу роль у нейтралізації АФК та захисті клітин від окислювальних пошкоджень [75]. Наприклад, у разі стресу, викликаного високими концентраціями ВНМ, активується шлях фенілпропаноїдів, який є ключовим для синтезу біологічно активних фенолів, включаючи кверцетин та інші флавоноїди [76].

Антиоксидантні властивості фенольних сполук забезпечують захист клітинних мембран та білків від ушкоджень, які можуть бути спричинені оксидативним стресом, індукованим високими концентраціями ВНМ [77]. Окрім того, фенольні сполуки мають бактерицидні та фунгіцидні властивості, що підвищує стійкість рослин до патогенів і є корисним для поліпшення якості продукції, отриманих з рослинних екстрактів. Виявлено, що механізми дії ВНМ залежать від розміру частинок, типу рослин та умов росту, що ускладнює прогнозування їх впливу. У медичних рослинах, як, наприклад, *Salvia verticillata*, під впливом нанотрубок суттєво зростає вміст фенольних кислот, що свідчить про можливість регуляції біосинтезу фармакологічно активних сполук [78].

Таблиця 3.5.

Вміст фенольних сполук (мг/г) у зразках сої сорту Аріса у контролі та за обробки фулереном C₆₀ на 21 день після посіву за регулярного поливу

№	Проба	C, мг/г	Серед-ньокв. відх., σ
1	Контроль	8,89±0,03	0,19
2	C ₆₀ 1 мкг/мл	7,59±0,03	0,19
3	C ₆₀ 2 мкг/мл	6,02±0,08	0,28
4	C ₆₀ 5 мкг/мл	12,78±0,03	0,19
5	C ₆₀ 10 мкг/мл	6,20±0,01	0,09

Відповідно до даних таблиці, вплив фулерену C_{60} на вміст фенольних сполук у зразках сої за умов регулярного поливу має дозозалежний характер.

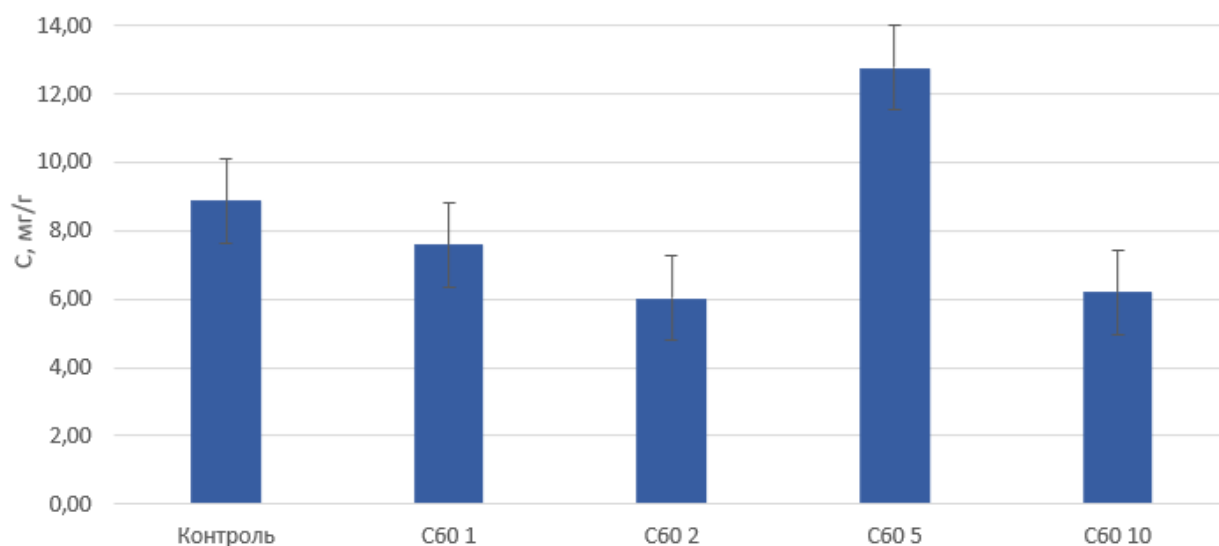


Рис. 3.7. Вміст фенольних сполук (мг/г) у зразках сої сорту Аріса у контролі та за обробки фулереном C_{60} на 21 день після посіву за умов регулярного поливу

У контрольній пробі вміст фенольних сполук становить $8,89 \pm 0,03$ мг/г, що відображає базовий рівень без додаткових стимулюючих факторів – це беремо за 100%. Обробка фулереном при концентрації 1 та 2 мкг/мл призвела до зниження вмісту фенольних сполук на 14,6% та 32,3% відповідно порівняно з контролем, що вказує на пригнічення біосинтезу при низьких концентраціях. При концентрації 5 мкг/мл фулерену спостерігається різке підвищення до 12,78 мг/г (+43,8% порівняно з контролем), ймовірно через активацію шляху фенолпропаноїдів як відповідь на помірний стрес. Висока доза 10 мкг/мл знову знижує показник до рівня нижче контролю $6,20 \pm 0,01$ мг/г (-30,3% порівняно з контролем), що може свідчити про токсичність надмірної кількості наночастинок і виснаження антиоксидантних резервів.

Таблиця 3.6.

Вміст фенольних сполук (мг/г) у зразках сої сорту Аріса з водним дефіцитом у контролі та за обробки фулереном C₆₀ на 21 день після посіву

№	Проба	C, мг/г	Серед-ньокв. відх., σ
1	Контроль	7,22±0,03	0,19
2	+C ₆₀ 1 мкг/мл	8,70±0,14	0,37
3	+C ₆₀ 2 мкг/мл	7,59±0,03	0,19
4	+C ₆₀ 5 мкг/мл	7,04±0,03	0,19
5	+C ₆₀ 10 мкг/мл	7,22±0,03	0,19

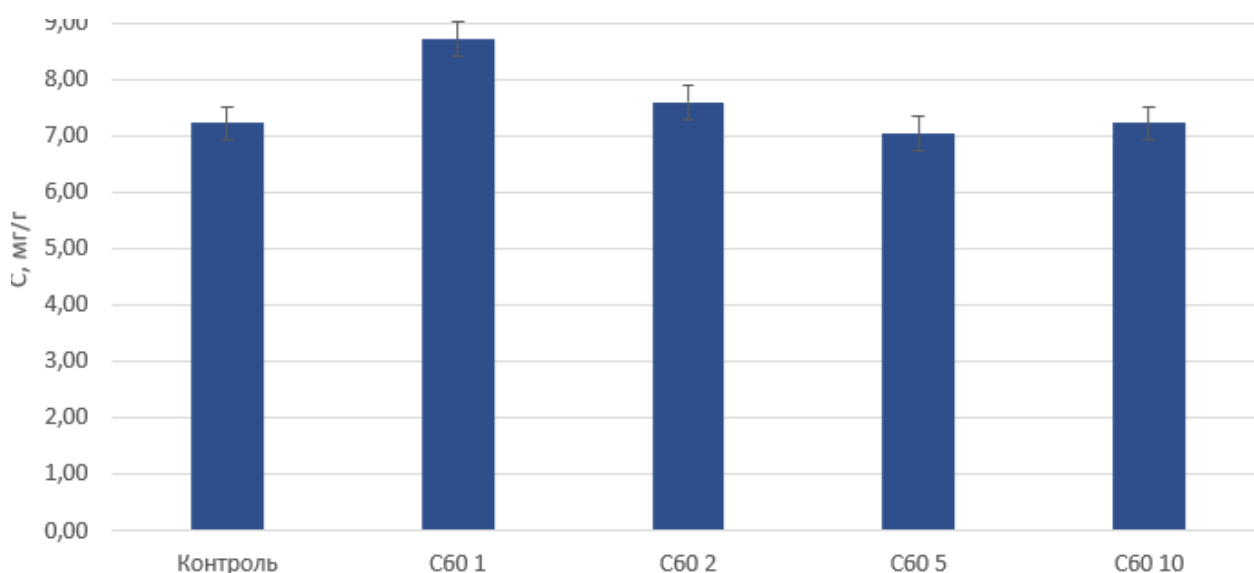


Рис. 3.8. Вміст фенольних сполук (мг/г) у зразках сої сорту Аріса з водним дефіцитом у контролі та за обробки фулереном C₆₀ на 21 день після посіву

У контролі (без обробки ВНЧ) за умов дефіциту води рівень фенольних сполук становив 7,22±0,03 мг/г, що є нижчим на 18,8% порівняно з контролем за умов регулярного поливу (8,89±0,03 мг/г). За концентрації 1 мкг/г фулерену показник підвищився до 8,70±0,14 (+20,5% порівняно з контролем з водним дефіцитом), що вказує на початкову активацію захисних механізмів. За концентрації 2 та 5 мкг/мл фулерену виявлено незначні зміни (+5,12% та -2,49% відповідно), демонструючи стабілізацію системи. При концентрації 10 мкг/мл показник повернувся до контрольного рівня (7,22±0,03 мг/г), що може свідчити про відновлення гомеостазу або адаптацію.

ВИСНОВКИ

Було досліджено вплив фулерену C_{60} у діапазоні концентрацій 1-10 мкг/мл на морфометричні показники, вміст малонового діальдегіду (МДА) та фенольних сполук у проростках сої сорту Arisa за умов регулярного поливу та водного дефіциту.

1. За умови регулярного поливу сої та обробки фулереном C_{60} відмічено пригнічення росту коренів і загальної висоти рослини на -39,47% та -25,89% відповідно при 5 мкг/мл фулерену порівняно з контролем, а також незначне зменшення накопичення сирової маси на 12% при 1 мкг/мл фулерену порівняно з контролем. Натомість за водного дефіциту наночастинки демонстрували біостимулювальний ефект: концентрація 1 мкг/мл сприяв збільшенню довжини кореня і маси на +39% та +7,5% відповідно порівняно з контролем, а 10 мкг/мл – максимальному приросту загальної висоти (+15%) порівняно з контролем. Отримані результати свідчать про двофазний залежний ефект від умов поливу та концентрації фулерену C_{60} .

2. За умови регулярного поливу рівень МДА після дії фулерену за концентрації 2 мкг/мл зростав на 12% та 10 мкг/мл фулерену знижувався на 26% порівняно з контролем. За водного дефіциту фулерен у дозі 5 мкг/мл вміст МДА знижувався на 39%, тоді як за дози 1 мкг/мл навпаки підвищувався на 13%, що свідчить про дозозалежну дію фулерену C_{60} на пероксидне окиснення ліпідів: за певних умов і низьких концентрацій він може індуквати оксидативний стрес, тоді як вищі дози забезпечують антиоксидантний захист клітинних мембран.

3. При регулярному поливі вміст фенольних сполук знижувався за дії фулерену за доз 2 і 10 мкг/мл на 32 і 30,3% відповідно, а за дози 5 мкг/мл зростав на 43,8% порівняно з контролем. За умов водного дефіциту вміст фенольних сполук за дії фулерену за концентрації 1 мкг/мл підвищувався на 20,4%, та за вищих концентрацій були на рівні контрольних значень.

Отже, фулерен C_{60} виявляє дозозалежний ефект, який за оптимальних умов зволоження незначно пригнічує її розвиток, тоді як за умов водного дефіциту діє

як потужний біостимулятор і антиоксидант. Отримані результати свідчать про перспективність використання фулерену C_{60} як агента підвищення стресостійкості сої у посушливих умовах.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Wang X., Tang F., Cao Q. Comparative Study of Three Carbon Additives: Carbon Nanotubes, Graphene, and Fullerene-C60, for Synthesizing Enhanced Polymer Nanocomposites // *Nanomaterials*. – 2020. – Vol. 10, № 5. – Art. 838. – doi: 10.3390/nano10050838.
2. Clancy A. J., Bayazit M. K., Hodge S. A. Charged Carbon Nanomaterials: Redox Chemistries of Fullerenes, Carbon Nanotubes, and Graphenes // *Chemical Reviews*. – 2018. – Vol. 118. – P. 7363 – 7408. – doi: 10.1021/acs.chemrev.8b00128
3. Dinadayalane T. C., Leszczynski J. Fundamental Structural, Electronic, and Chemical Properties of Carbon Nanostructures: Graphene, Fullerenes, Carbon Nanotubes, and Their Derivatives // у кн.: *Handbook of Computational Chemistry*. – Dordrecht : Springer, 2016. – P. 1 – 69. – doi: 10.1007/978-94-007-6169-8_22-2.
4. Kokorina A. A., Ermakov A. V., Abramova A. M. Carbon Nanoparticles and Materials on Their Basis // *Colloids and Interfaces*. – 2020. – Vol. 4, № 4. – Art. 42. – doi: 10.3390/colloids4040042.
5. Максимяк П. П., Зенкова К. Ю., Ткачук В. М. Вуглецеві наночастинки. Виготовлення, властивості, перспективи використання // *Фізика і хімія твердого тіла*. – 2020. – Т. 21, № 1. – С. 13 – 18.
6. Kempniński W., Łoś S., Kempniński M. Experimental Techniques for the Characterization of Carbon Nanoparticles – A Brief Overview // *Beilstein Journal of Nanotechnology*. – 2014. – Vol. 5. – P. 1760 – 1766. – doi: 10.3762/bjnano.5.186.
7. Shekhawat G. S., Mahawar L., Rajput P. Role of Engineered Carbon Nanoparticles (CNPs) in Promoting Growth and Metabolism of *Vigna radiata* (L.) Wilczek // *Plants*. – 2021. – Vol. 10. – Art. 1317. – doi: 10.3390/plants10071317.
8. Safdar M., Kim W., Park S. Engineering Plants with Carbon Nanotubes: A Sustainable Agriculture Approach // *Journal of Nanobiotechnology*. – 2022. – Vol. 20. – Art. 275. – doi: 10.1186/s12951-022-01483-w.
9. Zaytseva O., Neumann G. Carbon Nanomaterials: Production, Impact on Plant Development, Agricultural and Environmental Applications // *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. – 2016. – Vol. 3. – Art. 17. – doi: 10.1186/s40538-016-0070-8.
10. Mukherjee A., Majumdar S., Servin A. D. Carbon Nanomaterials in Agriculture: A Critical Review // *Frontiers in Plant Science*. – 2016. – Vol. 7. – Art. 172. – doi: 10.3389/fpls.2016.00172.

11. Zhu L., Chen L., Gu J. et al. Carbon-Based Nanomaterials for Sustainable Agriculture: Their Application as Light Converters, Nanosensors, and Delivery Tools // *Plants*. – 2022. – Vol. 11. – Art. 511. – doi: 10.3390/plants11040511.
12. Коковін М. І., Прилуцька С. В. Регуляція стресостійкості у сільськогосподарських культур вуглецевими частинками за вмістом вторинних метаболітів // *Матеріали IV Всеукраїнської наук.-практ. конф. «Екологія – виклики сучасності»* (Київ, 2024). – С. 30 – 31.
13. Коковін М. І. *Регуляція стресостійкості рослин ...* : магістерська кваліфікаційна робота. – Київ : НУБіП, 2024. – 88 с.
14. Chistyakov V. A., Smirnova Yu. O., Prazdnova E. V., Soldatov A. V. Possible Mechanisms of Fullerene C60 Antioxidant Action // *BioMed Research International*. – 2013. – Art. 821498. – doi: 10.1155/2013/821498.
15. Markovic Z., Todorovic-Markovic B., Kleut D. et al. The Mechanism of Cell-Damaging Reactive Oxygen Generation by Colloidal Fullerenes // *Biomaterials*. – 2007. – Vol. 28, № 30. – P. 5437 – 5448. – doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.09.002.
16. Sachkova A. S., Kovel E. S., Churilov G. N. et al. On Mechanism of Antioxidant Effect of Fullerenols // *Biochemistry and Biophysics Reports*. – 2017. – Vol. 9. – P. 1 – 8. – doi: 10.1016/j.bbrep.2016.10.011.
17. Lee J. S., Mackeyev Y., Cho M. et al. Photochemical and Antimicrobial Properties of Novel C60 Derivatives in Aqueous Systems // *Environmental Science & Technology*. – 2009. – Vol. 43, № 17. – P. 6604 – 6610. – doi: 10.1021/es901501k.
18. Djordjević A., Srdjenović B., Seke M. et al. Review of Synthesis and Antioxidant Potential of Fullerene Nanoparticles // *Journal of Nanomaterials*. – 2015. – Art. 567073. – doi: 10.1155/2015/567073.
19. Grebowski J., Konopko A., Krokosz A. et al. Antioxidant Activity of Highly Hydroxylated Fullerene C60 and Its Interactions with the Analogue of α -Tocopherol // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2020. – Vol. 160. – P. 734 – 744. – doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2020.08.017.
20. Kleandrova V. V., Luan F., Speck-Planche A., Cordeiro M. N. D. S. Review of Structures Containing Fullerene-C60 for Delivery of Antibacterial Agents. Multitasking Model for Computational Assessment of Safety Profiles // *Current Bioinformatics*. – 2015. – Vol. 10, № 3. – P. 1 – 19. – doi: 10.2174/1574893610666151008011628.
21. Satoh M., Takayanagi I. Pharmacological Studies on Fullerene (C60), a Novel Carbon Allotrope, and Its Derivatives // *Journal of Pharmacological Sciences*. – 2006. – Vol. 100. – P. 513 – 518. – doi: 10.1254/jphs.CPJ06002X.
22. Jensen A. W., Wilson S. R., Schuster D. I. Biological Applications of Fullerenes // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. – 1996. – Vol. 4, № 6. – P. 767 – 779. – doi: 10.1016/S0968-0896(96)00081-8.

23. Tanzi L., Terreni M., Zhang Y. Synthesis and Biological Application of Glyco- and Peptide Derivatives of Fullerene C60 // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2022. – Art. 105826. – doi: 10.1016/S0223-5234(22)00005-8.
24. Fazylov S. D., Nurkenov O. A., Muldakhmetov Z. M. Biologically Active Derivatives of Fullerene C60: Current State and Development Prospects // *Bulletin of the Karaganda University. Chemistry Series*. – 2020. – № 3(99). – P. 11 – 20. – doi: 10.31489/2020Ch3/11-20.
25. Da Ros T., Spalluto G., Prato M. Biological Applications of Fullerene Derivatives: A Brief Overview // *Croatica Chemica Acta*. – 2001. – Vol. 74, № 4. – P. 743 – 755.
26. Sen S., Chakraborty R., Sridhar C. et al. Free Radicals, Antioxidants, Diseases and Phytochemicals: Current Status and Future Prospect // *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. – 2010. – Vol. 3, № 1. – P. 91 – 100.
27. Jamshidi-Kia F., Wibowo J. P., Elachouri M. et al. Battle between Plants as Antioxidants with Free Radicals in Human Body // *Journal of HerbMed Pharmacology*. – 2020. – Vol. 9, № 3. – P. 191 – 199. – doi: 10.34172/jhp.2020.25.
28. Aruoma O. I. Free Radicals, Antioxidants and International Nutrition // *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. – 1999. – Vol. 8, № 1. – P. 53 – 63.
29. Kleandrova V. V., Luan F., Speck-Planche A., Cordeiro M. N. D. S. New Insights toward the Discovery of Antibacterial Agents: Multitasking QSBER Model for the Simultaneous Prediction of Anti-Tuberculosis Activity and Toxicological Profiles of Drugs // *Current Bioinformatics*. – 2015. – Vol. 10, № 3. – P. 217 – 228.
30. Rao S., Kalva S., Yerramilli A., Mamidi S. Free radicals and tissue damage: role of antioxidants // *Free Radicals and Antioxidants*. – 2011. – Vol. 1, № 4. – P. 1 – 8.
31. Becana M., Moran J. F., Iturbe-Ormaetxe I. Iron-Dependent Oxygen Free Radical Generation in Plants Subjected to Environmental Stress: Toxicity and Antioxidant Protection // *Plant and Soil*. – 1998. – Vol. 201. – P. 137 – 147.
32. El-Beltagi H. S., Mohamed H. I. Reactive Oxygen Species, Lipid Peroxidation and Antioxidative Defense Mechanism // *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. – 2013. – Vol. 41, № 1. – P. 44 – 57.
33. Spiteller G. Are Lipid Peroxidation Processes Induced by Changes in the Cell Wall Structure and How Are These Processes Connected with Diseases? // *Medical Hypotheses*. – 2003. – Vol. 60, № 1. – P. 69 – 83.
34. Horton A. A., Fairhurst S. Lipid Peroxidation and Mechanisms of Toxicity // *Critical Reviews in Toxicology*. – 1987. – Vol. 18, № 1. – P. 27 – 79.
35. Girotti A. W. Mechanisms of Lipid Peroxidation // *Journal of Free Radicals in Biology & Medicine*. – 1985. – Vol. 1. – P. 87 – 95.

36. Catalá A., Díaz M. Impact of Lipid Peroxidation on the Physiology and Pathophysiology of Cell Membranes // *Frontiers in Physiology*. – 2016. – Vol. 7. – Art. 423.
37. Demidchik V. Mechanisms of Oxidative Stress in Plants: From Classical Chemistry to Cell Biology // *Environmental and Experimental Botany*. – 2014. – Vol. 100. – P. 1 – 17.
38. Anjum N. A., Sofu A., Scopa A. et al. Lipids and Proteins — Major Targets of Oxidative Modifications in Abiotic-Stressed Plants // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2015. – Vol. 22, № 6. – P. 4099 – 4121.
39. Halliwell B. Oxidative Damage, Lipid Peroxidation and Antioxidant Protection in Chloroplasts // *Chemistry and Physics of Lipids*. – 1987. – Vol. 44, № 4. – P. 327 – 340.
40. Abuja P. M., Albertini R. Methods for Monitoring Oxidative Stress, Lipid Peroxidation and Oxidation Resistance of Lipoproteins // *Clinica Chimica Acta*. – 2001. – Vol. 306. – P. 1 – 17.
41. Dotan Y., Lichtenberg D., Pinchuk I. Lipid Peroxidation Cannot Be Used as a Universal Criterion of Oxidative Stress // *Progress in Lipid Research*. – 2004. – Vol. 43, № 3. – P. 200 – 227.
42. Halliwell B., Chirico S. Lipid Peroxidation: Its Mechanism, Measurement, and Significance // *American Journal of Clinical Nutrition*. – 1993. – Vol. 57, Suppl. – P. 715S – 725S.
43. Niki E. Lipid Peroxidation Products as Oxidative Stress Biomarkers // *BioFactors*. – 2008. – Vol. 34, № 3. – P. 171 – 180.
44. Yoshida Y., Umeno A., Shichiri M. Lipid Peroxidation Biomarkers for Evaluating Oxidative Stress and Assessing Antioxidant Capacity *in vivo* // *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. – 2013. – Vol. 52, № 1. – P. 9 – 16.
45. Hossain Z., Khatoon A., Komatsu S. Soybean Proteomics for Unraveling Abiotic Stress Response Mechanism // *Journal of Proteome Research*. – 2013. – doi: 10.1021/pr400604b.
46. Masoumi H., Darvish F., Daneshian J. F. et al. Chemical and Biochemical Responses of Soybean (*Glycine max* L.) Cultivars to Water Deficit Stress // *Australian Journal of Crop Science*. – 2011. – Vol. 5, № 5. – P. 544 – 553.
47. Atencio L., Salazar J., Moran Lauter A. N. et al. Characterizing Short and Long Term Iron Stress Responses in Iron-Deficiency Tolerant and Susceptible Soybean // *Plant Stress*. – 2021. – Vol. 2. – Art. 100012.
48. Liu H., Song J., Dong L. et al. Physiological Responses of Three Soybean Species to Salinity Stress // *Journal of Plant Research*. – 2017. – doi: 10.1007/s10265-017-0929-1.

49. Ghosh A., Islam T. Genome-Wide Analysis and Expression Profiling of Glyoxalase Gene Families in Soybean // *BMC Plant Biology*. – 2016. – Vol. 16. – Art. 87.
50. Xiong R., Liu S., Considine M. J. et al. Root System Architecture, Physiological and Transcriptional Traits of Soybean in Response to Water Deficit // *Physiologia Plantarum*. – 2021. – Vol. 172, № 2. – P. 405 – 418.
51. Wang X., Wu Z., Zhou Q. et al. Physiological Response of Soybean Plants to Water Deficit // *Frontiers in Plant Science*. – 2022. – Vol. 12. – Art. 809692.
52. Bandeira J. M., Marini P., Noguez Martins A. B. et al. Relationships between the Physiological and Biochemical Modifications in Soybean Seeds under Different Temperatures // *African Journal of Agricultural Research*. – 2013. – Vol. 8, № 43. – P. 5369 – 5375.
53. Sheteiwiy M. S., Ali D. F. I., Xiong Y.-C. et al. Physiological and Biochemical Responses of Soybean Plants Inoculated with Arbuscular Mycorrhizal Fungi and *Bradyrhizobium* under Drought Stress // *BMC Plant Biology*. – 2021. – Vol. 21. – Art. 195.
54. The XXXI International Scientific and Practical Conference “Trends in the Development of Modern Scientific” : abstracts (Vancouver, 22–25 June 2021). – Vancouver : Accent Graphics Communications & Topic Inc., 2021. – 549 c.
55. Matniyazova H., Nabiev S., Kholikova M., Mavlonova G. Physiological and Biochemical Parameters of Soybean Genotypes under Diverse Water Regimes // *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*. – 2023. – Vol. 55, № 4. – P. 1094 – 1108.
56. Kokebie D., Enyew A., Masresha G. et al. Morphological, Physiological, and Biochemical Responses of Soybean Varieties under Salinity Stress // *Frontiers in Plant Science*. – 2024. – Vol. 15. – Art. 1440445.
57. Swigonska S., Amarowicz R., Król A. et al. Influence of Abiotic Stress during Soybean Germination Followed by Recovery on Phenolic Compounds of Radicles and Their Antioxidant Capacity // *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. – 2014. – Vol. 83, № 3. – P. 209 – 218.
58. Bellaloui N. Soybean Seed Phenol, Lignin, and Isoflavones and Sugars Composition Altered by Foliar Boron Application under Water Stress // *Food and Nutrition Sciences*. – 2012. – Vol. 3. – P. 579 – 590.
59. Król-Grzymała A., Amarowicz R. Phenolic Compounds of Soybean Seeds from Two European Countries and Their Antioxidant Properties // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25. – Art. 2075.
60. Sun W., Shahrajabian M. H. Soybean Seeds Treated with Single-Walled Carbon Nanotubes Showed Enhanced Drought Tolerance during Germination // *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*. – 2020. – Vol. 8, № 1. – Art. e2020-1-2.

61. Darmanti S., Santosa, Nugroho L. H., Dewi K. Reactive Oxygen Species Accumulations, Phenylalanine Ammonia-Lyase Activity and Phenolic Acid Composition of Soybean cv. Grobogan Exposed to Purple Nutsedge Interference and Drought // *The Journal of Animal & Plant Sciences*. – 2018. – Vol. 28, № 1. – P. 244 – 251.
62. Pandey K., Lahiani M. H., Hicks V. K. et al. Effects of Carbon-Based Nanomaterials on Seed Germination, Biomass Accumulation and Salt Stress Response of Bioenergy Crops // *PLOS ONE*. – 2018. – Vol. 13, № 8. – e0202274.
63. Wang Y., Welch Z. S., Ramirez A. et al. Effects of Carbonaceous Nanomaterials on Soil-Grown Soybeans under Combined Heat and Insect Stresses // *Environmental Chemistry*. – 2019. – Vol. 16, № 6. – P. 482 – 493.
64. Zhao L., Wang W., Fu X. et al. Graphene Oxide, a Novel Nanomaterial as Soil Water Retention Agent, Dramatically Enhances Drought Stress Tolerance in Soybean Plants // *Frontiers in Plant Science*. – 2022. – Vol. 13. – Art. 810905.
65. Hu L., Bi A., Hu Z. et al. Antioxidant Metabolism, Photosystem II, and Fatty Acid Composition of Tall Fescue Genotypes under High-Temperature Stress // *Frontiers in Plant Science*. – 2018. – Vol. 9. – Art. 1242.
66. Khoubnasabjafari M., Jouyban A. Challenges on Determination of Malondialdehyde in Plant Samples // *Archives of Crop Science*. – 2020. – Vol. 4, № 1. – P. 64 – 66.
67. Кириченко В. В., Посилаєва О. О., Кобизєва Л. Н., Гопцій Т. І. Селекція сої на стійкість до спеки та посухи. Навчальний посібник. Харків. 2016. 19 с.
68. Yastreb, T., Kovalenko, I., Butkova, T., Mazur, V. Fiziologija vtorynnoho metabolizmu roslyn (Plant Secondary Metabolism Physiology). Kyiv: Taras Shevchenko National University of Kyiv, 2014. P. 1–275.
69. Mohan A.N., Panicker S. Facile synthesis of graphene-tin oxide nanocomposite derived from agricultural waste for enhanced antibacterial activity. *Scientific Reports*. 2019. Vol. 9, № 40916.
70. M. Khoubnasabjafari, A. Jouyban. Challenges on determination of malondialdehyde in plant samples. *Archives of Crop Science*. 2020. Vol. 15, № 2. P. 102–112.
71. Cakmak I., Horst W.J. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiologia Plantarum*. 1991. Vol. 83, № 3. P. 463–468.

- 72.Hermes P.H., Gabriela M.P., Ileana V.R. Carbon nanotubes as plant growth regulators: prospects. *Advances in Nanomedicine and Nanobiotechnology*. 2020. Vol. 4. P. 46–68.
- 73.Mousavi S.S., Karami A. Graphene Oxide from Natural Products and Its Applications in the Agriculture and Food Industry. *Taylor & Francis*. 2022. Vol. 15, № 21. P. 134–147.
- 74.Lanza Castelli, M.E., Conti, G., Fagioli, V., Pinedo, M., González Antivilo, F., Agostini, E. Response of *Cenchrus ciliaris* to heat stress: Effects on antioxidant enzyme activities and oxidative damage. *Environmental and Experimental Botany*. 2010. Vol. 68, № 2. P. 218–226.
- 75.Blainski, A., Lopes, G., de Mello, J.C.P. Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium Brasiliense* L. *Molecules*. 2013. Vol. 18, № 6. P. 6852–6865.
- 76.Muhammad M., Basit A., Wahab A., Li W.J. Response mechanism of plant stresses to secondary metabolites production. *Secondary Metabolites*. Elsevier. 2024. Vol. 32. P. 25–50.
- 77.Elhamouly N.A., Hewedy O.A., Zaitoon A. The hidden power of secondary metabolites in plant-fungi interactions and sustainable phytoremediation. *Frontiers in Plant Science*. 2022. Vol. 13. P. 1044896.
- 78.Chen D., Mubeen B., Hasnain A., Rizwan M. Role of promising secondary metabolites to confer resistance against environmental stresses in crop plants: Current scenario and future perspectives. *Frontiers in Plant Science*. 2022. Vol. 13. P. 881032.