

УДК 631.811.98-022.532:581.132:633.15

**ВПЛИВ Nb-ВМІСТНИХ НАНОКОМПОЗИТІВ НА ОСНОВІ  
САПОНІТУ НА ІНДУКЦІЮ ФЛУОРЕСЦЕНЦІЇ  
ХЛОРОФІЛУ У ЛИСТКАХ КУКУРУДЗИ**

**М. В. САВЧУК**, молодший науковий співробітник,

*E-mail:* Taranmaruna@gmail.com

**М. Ф. СТАРОДУБ**, доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри  
молекулярної біології, мікробіології та біобезпеки

*Національний університет біоресурсів і природокористування України*

*E-mail:* nikstarodub@yahoo.com

**Анотація.** На сьогодні нанотехнології відкривають великі можливості в галузі сільського господарства. Наночастинки використовують для передпосівної обробки насіння рослин, в результаті покращується якість матеріалу, підвищується стійкість до фітопатогенів та збільшується урожайність сільськогосподарських культур. Метою цієї роботи було дослідити вплив новосинтезованих Nb-вмісних наноконкомпозитів на показники індукції флуоресценції хлорофілу у рослин кукурудзи гібриду Харківський 340 МВ. Виміри проводилися за допомогою портативного флуориметра «Флора-тест», що забезпечує експрес-діагностику стану рослин на ранніх стадіях їх розвитку. Проаналізовано криві Каутського та ряд показників індукції флуорисценції хлорофілу у рослин, пророщених на наноконкомпозитах, та без них (контроль). За результатами досліджень встановлено, що новосинтезовані наноконкомпозити сприяють підвищенню стану ІФХ. Так, показник  $F_0$  у оброблених наноконкомпозитами рослин кукурудзи, був вищий порівняно з контролем, що свідчить про збільшення антенних хлорофілів у досліджуваних зразках внаслідок структурної зміни пігментного комплексу. За дії наноматеріалів Saponite(H), Nb-Saponite(Cl) та Nb-Saponite(Et) на рослини показник  $d F_{pl}$  зростає відповідно на 20,8 %, 29,2 % та 25 % порівняно з контролем. Це вказує на збільшення величини наростання флуоресценції від  $F_0$  до  $F_{pl}$  в рослин за дії наноматеріалів. Показник  $F_v/F_{max}$  у контрольних і дослідних рослин знаходився в межах 0,75-0,77 у.о., що характеризує нормальне проходження фотосинтезу як у контрольних так і в дослідних рослин.

**Ключові слова:** наноконкомпозит, фотосинтез, індукція флуоресценції хлорофіла, кукурудза, крива Каутського

**Актуальність.** Останнім часом в Україні спостерігається підвищений інтерес до застосування нанотехнологій. Наноматеріали у сільському

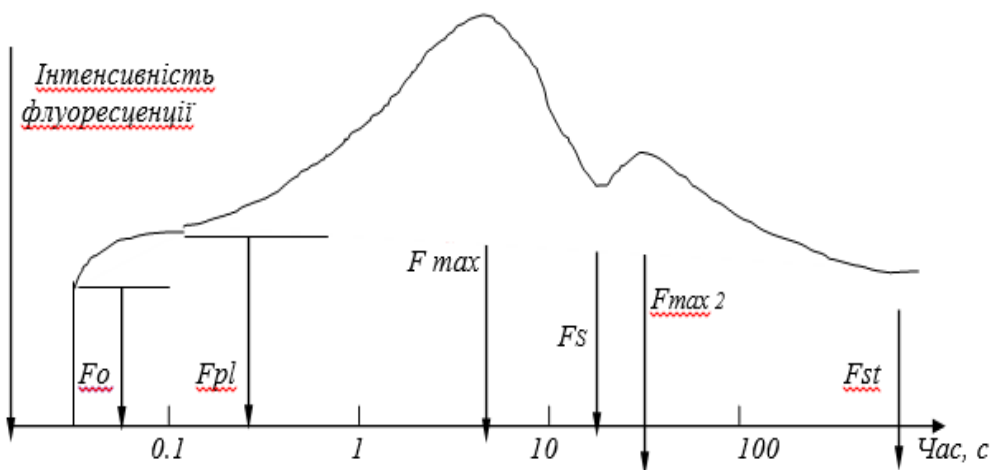
господарстві використовують в якості біостимуляторів та мікродобрив, оскільки вони мають ряд переваг порівняно з традиційними засобами: не розшаровуються під впливом тепла і світла, забезпечують повне змочування поверхні рослин, цілком поглинаються рослинами, не змиваються дощем, приготовлений робочий розчин може зберігатися роками, залишаючись водночас активним [1, с. 48-51].

**Аналіз останніх досліджень та публікацій.** Наночастки впливають на біологічні об'єкти на клітинному рівні, підвищуючи ефективність протікання біохімічних процесів у рослинах, а також, беручи участь у формуванні мікроелементного балансу, тобто є біоактивними. Дослідження багатьох вчених говорить про те, що використання наночасток металів у сільськогосподарському виробництві для передпосівної обробки насіння рослин дозволяє покращити якість посівного матеріалу, підвищити стійкість до фітопатогенів, збільшити урожайність та отримати екологічно чисту продукцію [2, с. 28-34; 3, с. 9-22].

**Мета** дослідження – вивчити вплив новосинтезованих Nb-вмісних нанокompatитів на параметри індукції флуоресценції хлорофілу у рослин кукурудзи.

**Матеріали і методи дослідження.** Ключовими об'єктами були 3 види новосинтезованих нанокompatитів: 1) Saponite; 2) Nb-Sap(EtO); 3) Nb-Sap(Cl). Новостворені наноматеріали було надано в рамках НАТО проекту № NUKR.SFP 984481 науково-дослідним інститутом молекулярних технологій м. Мілану, Італії. Досліджували вплив нанокompatитів на проходження індукції флуоресценції хлорофіла у листках кукурудзи гібриду Харківський 340 МВ. Аналіз стану рослин кукурудзи за дії наноматеріалів здійснювали за допомогою портативного приладу «Флора-тест», розробленого державним науково-інженерним центром мікроелектроніки Інституту кібернетики ім. В. М. Глушкова. Вимірювання індукції флуоресценції хлорофілу здійснювали на рослинах кукурудзи на стадії трьох листків. Для цього листок кукурудзи розміщували в оптичному блоці пристрою та проводили темнову адаптацію

упродовж 5 хв. Зміну флуоресценції хлорофілу реєстрували упродовж 3 хв. Оцінювання фізіологічного стану листків кукурудзи за дії нанокмполітів проводили за основними параметрами індукційної кривої (рис. 1) [4, с. 159-178].



**Рис. 1. Типова індукційна крива Каутського**

$F_0$  – “фоновий” рівень флуоресценції залежить від втрат енергії збудження під час міграції по пігментній матриці, а також вмісту молекул хлорофілу, які не мають функціонального зв’язку з реакційними центрами ;

$F_{pl}$  – рівень флуоресценції на час досягнення тимчасового сповільнення зростання сигналу (плато);

$F_{max}$  – максимальне значення флуоресценції [5, с. 413-418];

$F_{st}$  – стаціонарний рівень, який відзначається динамічною рівновагою між процесами, які обумовлюють збільшення флуоресценції та процесами, які спричиняють її зменшення [6, с. 1-15; 4, с. 159-178].

У кінетиці індукційних переходів флуоресценції хлорофілу значну роль відіграють світлова і темнова фази фотосинтезу. Для оцінки стану фотосинтетичного апарату використовують комплекс параметрів, серед яких основними є [6, с.1-15]:  $F_v = F_{max} - F_0$  – варіабельна флуоресценція;  $d$   $F_{pl} = F_{pl} - F_0$  – показник наростання флуоресценції;  $F_v/F_{max}$  – ефективність фотохімічних реакцій ФС2;  $dF_{pl} / F_v$  – якщо інтенсивність діючого світла

достатня для досягнення стану максимальної відновленості  $Q_A$ , у момент досягнення рівня  $F_p$ , тоді параметр  $(F_{pl}-F_o)/F_v$  відповідає відносній кількості QВ-невідновлюючих комплексів ФС<sub>2</sub>, які не беруть участі у лінійному транспорті електронів;  $(F_{max}-F_{st})/F_{st}$  – величина гасіння флуоресценції, на яку впливають фотохімічні (фіксація CO<sub>2</sub>) і нефотохімічні процеси (теплова дисипація енергії збудженого стану молекул хлорофілу);  $(F_{max_2}-F_{st})/F_{st}$  – відповідає кореляції з інтенсивністю темної фіксації вуглекислого газу [6, с. 1-15; 4, с. 159-178; 7, с. 28-30].

Параметри контрольної і дослідної груп рослин порівнювали на основі побудованих кривих ІФХ з використанням програмного засобу Microsoft Office Excel 2007.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Процес функціонування фотосинтетичного апарату є одним із найуразливіших до стресових чинників, тому вагому інформацію про стан фотосинтетичного апарату рослин за дії на неї різних препаратів можна дослідити методом флуоресценційного аналізу. Під час аналізу кривих Каутського було визначено ряд показників ІФХ (табл.1.)

Індукцію флуорисценції хлорофілу вимірювали в рослин кукурудзи у фазі 3-ох листків на ідентичних ярусах, за контроль використовували рослини вирощені у фітокамері на воді, дослідними зразками слугували рослини які пророщувалися на нанокompозитах у концентраціях 300 мг/л.

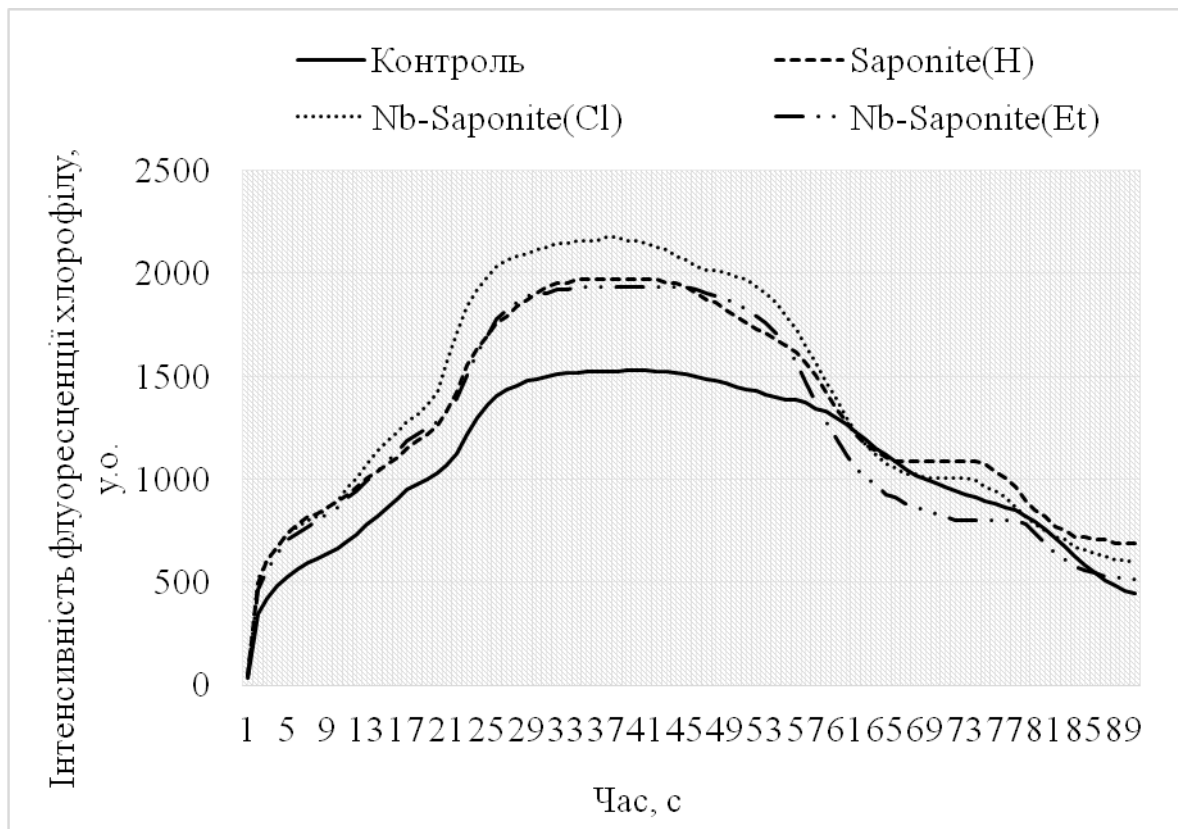
Показник фонові флуоресценції ( $F_0$ ) – характеризує кількість неактивного хлорофілу, які не мають функціонального зв'язку з реакційними центрами, тобто виступає початковим рівнем ІФХ. Він залежить від втрат енергії збудження під час міграції по пігментній матриці. Показник  $F_0$  рослин кукурудзи, які були оброблені нанокompозитами знаходилися у межах від 464 у.о. до 512 у.о. і були вищими від показника у контрольних рослинах, який становив 347 у.о. (Табл.1.). Це свідчить про більшу кількість антенних хлорофілів у досліджуваних зразках порівняно з контролем, що можна пояснити структурною зміною пігментного комплексу рослин кукурудзи за дії нанокompозитів.

За дії нанокompозитів Saponite(H), Nb-Saponite(Cl) та Nb-Saponite(Et) на рослини показник  $dF_{pl}$  відповідно зростає на 20,8 %, 29,2 % та 25 % порівняно з контролем. Це свідчить про збільшення величини наростання флуоресценції від  $F_0$  до  $F_{pl}$  у рослин за дії наноматеріалів.

### **1. Вплив нанокompозитів на показники індукції флуоресценції хлорофілу у рослин кукурудзи**

Показник	Варіанти			
	Контроль	Нанокompозит Saponite(H)	Нанокompозит Nb-Saponite(Cl)	Нанокompозит Nb-Saponite(Et)
$F_0$	347,00	496,00	512,00	464,00
$F_{pl}$	731,00	960,00	1008,00	944,00
$dF_{pl}$	384,00	464,00	496,00	480,00
$F_{max}$	1531,00	1968,00	2176,00	1936,00
$F_{st}$	442,67	688,00	592,00	512,00
$F_v$	1184,00	1472,00	1664,00	1472,00
$F_v/F_{max}$	0,77	0,75	0,76	0,76
$(F_{max}-F_{st})/F_{st}$	2,46	1,86	2,68	2,78

Параметер  $F_{max}$  вказує на найвищий рівень флуоресценції, який реєструється на індукційній кривій у вигляді максимуму. Найвище значення  $F_{max}$  було у рослин, які оброблялися нанокompозитом Nb-Saponite(Cl), воно становило 2176 у.о. (рис. 2.).



**Рис. 2. Індукційні криві флуоресценції хлорофілу рослин кукурудзи за дії нанокompatитів**

Стационарний рівень флуоресценції характеризується динамічною рівновагою між процесами, які обумовлюють збільшення флуоресценції та процесами, які призводять до її зменшення [6, с. 1-15; 8, с. 1-4]. У рослин, які вирощувалися за дії нанокompatитів показник Fst в середньому був вищий порівняно з контролем на 35 %.

Варіабельність флуоресценції (Fv) розраховується як різниця показників Fmax та Fo і є фізіологічним показником, який віддзеркалює дію екологічних та експериментальних чинників на рослину. Даний показник у рослин, які вирощувалися за дії нанокompatитів Saponite(H), Nb-Saponite(Cl) та Nb-Saponite(Et) становив 1472 у.о., 1664 у.о. та 1472 у.о., тоді як у контролі він мав значення 1184 у.о.. Такі дані демонструють вплив наноматеріалів на фізіологічний стан рослин.

Показник Fv/Fmax залежать від ефективності фотохімічних реакцій ФС2 [6, с. 1-15]. Він у темно-адаптованих рослин відображує потенційну квантову ефективність ФС II. Цей показник використовують як індикатор

продуктивності фотосинтезу. Його оптимальне значення для більшості видів рослин за умов насичуючої інтенсивності збуджуючого світла не перевищує значення 0,83 [9, с. 87-92]. За даними досліджень показник  $F_v/F_{max}$  у контрольних і дослідних рослин знаходився в межах 0,75-0,77 у.о., що говорить про нормальне проходження фотосинтезу як у контрольних так і в дослідних рослин.

Ефективність фотохімічного перетворення енергії в ФС II розраховували за формулою  $(F_{max} - F_{st}) / F_{st}$ , яка характеризує швидкість лінійного транспорту електронів і є інтегрованим показником процесу фотосинтезу. Цей показник у досліджуваних рослин змінювався від 1,86 до 2,78 у.о. За величиною гасіння флуоресценції їх можна розташувати у такому порядку відносно обробки нанокompозитами та контролю: Nb-Saponite(Et) > Nb-Saponite(Cl) > Контроль > Saponite(H).

### **Висновки**

Отже, за результатами досліджень встановлено, що новосинтезовані нанокompозити сприяють підвищенню ряду значень показників ІФХ. Так, показник  $F_0$  у оброблених нанокompозитами рослин кукурудзи, був вищий порівняно з контрольними рослинами, що свідчить про збільшення антенних хлорофілів у досліджуваних зразках порівняно з контролем. Це пояснюється структурною зміною пігментного комплексу рослин кукурудзи за дії нанокompозитів. Під впливом Saponite(H), Nb-Saponite(Cl) та Nb-Saponite(Et) на рослини показник  $d F_{pl}$  зростає порівняно з контролем відповідно на 20,8 %, 29,2 % та 25 %. Ці дані свідчать про збільшення величини наростання флуоресценції від  $F_0$  до  $F_{pl}$  у рослин за дії нанокompозитів. Показник  $F_v/F_{max}$  у контрольних і дослідних рослин знаходився в межах 0,75-0,77 у.о., що вказує на нормальне проходження фотосинтезу як у контрольних, так і у дослідних рослин.

### **Список літератури**

1. Панюта, О. Вплив передпосівної обробки насіння наночастками металів на захистні реакції проростків пшениці, інфікованих збудником церкоспорельозу / О. Панюта, В. Белавя, С. Фомаїді, О. Калініченко, Н. Таран //

Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. – 2014. – № 17. – С. 48-51.

2. Райкова А. П. Исследование влияния ультрадисперсных порошков металлов, полученных различными способами, на рост и развитие растений : 2006 Материалы Международной научно-практической конференции / А. П. Райкова, Л. А. Паничкин, Н. Н. Райкова // Нанотехнологии и информационные технологии – технологии XXI века. – Москва, 2006. – С. 143.

3. Masarovičová, E. Metal nanoparticles and plants. / E. Masarovičová, K. Kráľová // ECOL CHEM ENG S. – 2013. – 20(1). – P. 9-22.

4. Корнеев Д. Ю. Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофила / Д. Ю. Корнеев. – К.: Альтерпрес, 2002. – 188 с.

5. Москвин, О. В. Индукция флуоресценции хлорофилла в листьях клевера, выращенного при различном азотном питании и различных интенсивностях света / О. В. Москвин, Н. С. Новичкова, Б. Н. Иванов // Физиология растений. – 1998. – Т.45, № 3. – С.413-418.

6. Брайон О. В. Інструментальне вивчення фотосинтетичного апарату за допомогою індукції флуоресценції хлорофілу / Брайон О. В., Корнеев Д. Ю., Снегур О. О., Китаєв О. І. // Методичні вказівки для студентів біологічного факультету – Київ: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2000.– 15 с.

7. Физиологические и биохимические методы анализа растений: Практикум / Калинингр.ун-т; Авт.-сост. Г. Н. Чупахина. – Калининград, 2000. – С. 28–30.

8. Шерер В. О. Спосіб визначення фізіологічного стану рослин методом індукції флуоресценції хлорофілу. Патент України на корисну модель МПК G01N21/64 [Текст] / В. О. Шерер, Є. В. Сарахан. – № 24908; заявл. 24.11.2006; опубл. 25.07.2007, Бюл. № 11.

9. Genty, B. The relationship between quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence / B. Genty, J.-M. Briantais, N.R. Baker // Biochimica et Biophysica Acta. – 1989. – 990, Issue 1. – P. 87–92.

### References

1. Panyuta, A., Belava, V., Fomayidi, S., Kalinichenko, A., Taran N. (2014). Vpliv peredposivnoi obrobki nasinnya nanochastinkami metaliv na zahistni reakcii prorostkiv pshenici, inficovanih zbudnikom cercosporelozu [The effect of pre-sowing seed treatment with nanoparticles of metals in protective reactions of wheat seedlings infected with the pathogen cercosporella]. Journal of Taras Shevchenko National University of Kyiv - №17. – С. 48-51.

2. Raikova, A.P., Panychkyn, L.A., Raikova, N.N. (2006). Issledovanie vliyania ultradispersnih poroshkov metalov, polucheni razlichnimi sposobami, na rost i rozvitie rasteniy [Study of the effect of ultrafine metal powders obtained in various ways, the growth and development of plants]. Materials of International scientific-practical conference: Nanotechnology and information technologies – technologies of the XXI century, Moscow - P. 143.



3. Masarcovichova, E., Kralova, K. (2013). Metal nanoparticles and plants. *ECOL CHEM ENG S.* 20(1):P. 9-22.

4. Korneev, D. Yu. (2002). Informacionnie vosmozhnosti metoda indukcii fluoriscencii hlorofila [The information possibilities of the method of induction of chlorophyll fluorescence] – Kyiv.: Alterpres – 188.

5. Moskvina, O.V., Novichkova, N.S., Ivanov, B.N. (1998). Indukcia fluorescencii hlorofila v listah klevera, virashenogo pri razlichnom azotnom pitanii i razlichnih intensivnostyah sveta [Induction of chlorophyll fluorescence in the leaves of the clover grown under different nitrogen nutrition and different intensities of light]. *The physiology of plants.* Vol. 45, 3, 413-418.

6. Brayon, A.V., Korneev, D.Y., Snegur, A.A., Kitaev, O.I. (2000). Instrumentalne vivchennya fotosintetichnogo aparatu za dopomogoy indukcii fluoriscencii hlorofilu [Instrumental study of the photosynthetic apparatus by induction of chlorophyll fluorescence]. *Methodical instructions for students of the biological faculty of Kyiv: Publishing and printing center "Kiev University" - P.15.*

7. Chupahina, G.N. (2000). Fiziologicheskie i biokhimicheskie metodi analiza rosteniy: Pracktikum [Physiological and biochemical methods of plant analysis: Workshop]. Kaliningrad, 28–30.

8. Sherer, V.O., Sarahan, E.V. (2007). The method of determining the physiological state of plant chlorophyll fluorescence induction method. Patent of Ukraine for useful model. G01N21/64. № 24908; declared 24.11.2006; published 25.07.2007, № 11.

9. Genty, B., Briantais, J.-M., Baker N.R. (1989). The relationship between quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta.* Issue 1, 87–92.

## **ВЛИЯНИЕ Nb-СОДЕРЖАЩИХ НАНОКОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ САПОНИТА НА ИНДУКЦИЮ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА В ЛИСТЯХ КУКУРУЗЫ**

**М.В. Савчук, М.Ф. Стародуб**

*Аннотация.* На данное время нанотехнологии открывают большие возможности в области сельского хозяйства. Наночастицы используют для предпосевной обработки семян растений, в результате улучшается качество посевного материала, повышается устойчивость к фитопатогенам и увеличивается урожайность сельскохозяйственных культур. Целью настоящей работы было исследовать влияние новосинтезированных Nb-содержащих нанокomпозитов на параметры индукции флуоресценции хлорофилла у растений кукурузы гибрида Харьковский 340 МВ. Измерения проводились с помощью портативного флуориметра «Флора-тест», обеспечивающий экспресс-диагностику состояния растений на ранних стадиях развития. Проанализированы кривые Каутского и ряд показателей индукции флуоресценции хлорофилла у растений, пророщенных на нанокomпозитах и без них (контроль). По результатам исследований установлено, что

наноконпозиты способствуют повышению ряда значений показателей ИФХ. Так, показатель  $F_0$  в обработанных наноконпозитами растений кукурузы, был выше по сравнению с контролем. Это свидетельствует об увеличении антенных хлорофиллов в исследуемых образцах по сравнению с контролем, что объясняется структурными изменениями пигментного комплекса растений кукурузы за действия наноконпозитов. За действия наноматериалов Saponite(H), Nb-Saponite(Cl) и Nb-Saponite(Et) на растения показатель  $d F_{pl}$  возрастает по сравнению с контролем соответственно на 20,8 %, 29,2 % и 25 %. Эти данные указывают на увеличение величины нарастания флуоресценции от  $F_0$  до  $F_{pl}$  у растений при действии наноматериалов. Показатель  $F_v/F$  в контрольных и опытных растений находился в пределах 0,75-0,77 у.а., что характеризует нормальное прохождение фотосинтеза как в контрольных так и в экспериментальных растений.

**Ключевые слова:** наноконпозит, фотосинтез, индукция флуоресценции хлорофила, кукуруза, кривая Каутского

## THE EFFECT OF Nb-CONTAINING NANOCOMPOSITES BASED ON SAPONITE ON THE INDUCTION OF CHLOROPHYLL FLUORESCENCE IN LEAVES OF CORN

M. V. Savchuk, M. F. Starodub

**Abstract.** Today, nanotechnology opens up great opportunities in agriculture. Nanoparticles are used for presowing treatment of seeds of plants, resulting in its improved quality, increased resistance to phytopathogens and increase the yield of agricultural crops. The aim of this work was to investigate the influence of new Nb-containing nanocomposites on the parameters of induction of chlorophyll fluorescence in plants of maize (hybrid of Kharkiv 340 MV). The measurements were carried out by a portable fluorimeter "Flora-test" for express-diagnostics of plant state in the early stages of development. Kautsky curves were analyzed and the number of indicators of the induction of chlorophyll fluorescence in plants which were germinated in the presence of nanocomposites and without them (control). According to the results of investigations it was established that nanocomposites had effect on a number of values of IFH. The value of  $F_0$  increased in the processed nanocomposites of maize plants and it was higher compared with the control plants. This indicates an increase of the antenna chlorophylls in the studied samples compared with control as a result of structural changes of the pigment complex of plants of maize for the actions of the nanocomposites. For the actions of Saponite(H), Nb-Saponite(Cl) and Nb-Saponite(Et) on plants value of  $d F_{pl}$  increases compared to the control by 20.8%, 29.2% and 25% respectively. These data indicate an increase in the magnitude of increase of fluorescence from  $F_0$  to  $F_{pl}$  in plants by the action of nanomaterials. The value of  $F_v/F$  in control and experimental plants was in the range 0,75-0,77 relative units that indicates on the normal passage of photosynthesis in the control and in the research of plants.

**Keywords:** nanocomposite, photosynthesis chlorophyll fluorescence induction, corn, Kautsky curve