

ГЕНЕТИКА, СЕЛЕКЦІЯ І БІОТЕХНОЛОГІЯ РОСЛИН

УДК 633.111.1: 632.4: 661.743.1

ВИКОРИСТАННЯ НАНОЧАСТИНОК БІОГЕННИХ ЕЛЕМЕНТІВ І ХІТОЗАНУ ПРИ ВИРОЩУВАННІ ПАСЛЬОНОВИХ *IN VITRO* ТА *IN VIVO*

© 2019 р. Р. В. Ковбасенко, О. П. Дмитрієв

*Інститут клітинної біології та генетичної інженерії
Національної академії наук України
(Київ, Україна)*

Застосування нанотехнологій у рослинництві дозволяє вирішити низку економічних проблем. Завданнями роботи були модифікація живильного агаризованого середовища Мурасіге-Скуга (МС) для вирощування рослин *in vitro* із заміною у ньому фітогормонів на розчин аква N-окси-2-метилпіридин (II) хлориду у екостимі (водно-спиртовому розчині метаболітів штаму симбіотичного гриба-ендофіта *Cylindrocarpon destructans*, що виявляють ауксин-цитокінінову активність), а також заміна ряду солей макро- і мікроелементів у середовищі МС на наночастинки цих елементів у цитратній або аква-хелатній формі. Такі модифікації сприяли приросту калюсів картоплі і томатів. Перспективним є використання нанопрепаратів і для індукції системної стійкості рослин. У роботі проведено оцінку біологічної активності нових композицій індукторів стійкості рослин до біотичних стресів на основі наночастинок хітозану з аналогами ауксинів та гіберелінів. Встановлено найбільш ефективні композиції, які індукують системну стійкість рослин томатів проти збудників фітофторозу та альтернаріозу в польових умовах.

Ключові слова: *Lycopersicon esculentum*, *Solanum tuberosum*, наночастинки біогенних елементів, культура клітин *in vitro*, біотичні еліситори, індукція системної стійкості рослин

В останні десятиріччя стрімко розвиваються технології отримання нових матеріалів, що складаються з наночастинок. Частинок розміром від 1 до 100 нанометрів здатні проходити мембранні бар'єри живих клітин, що дозволяє використовувати їх у біології (Макаров, 2014). Зокрема, застосування нанопрепаратів у рослинництві як мікродобрив забезпечує підвищення стійкості рослин до несприятливих погодних умов та зростання урожайності (Рамбиди, Березкин, 2008). Наночастинки таких металів як залізо, цинк, мідь зазвичай є менш токсичними, ніж їх солі, що дає змогу уникнути забруднення навколишнього середовища (Коваленко, Фолманис, 2000). З їх допомогою досягається пролонгований ефект підживлення рос-

лин мікроелементами із великої питомої поверхні, що сягає сотень квадратних метрів на 1 г речовини.

Біогенні елементи у формі наночастинок розглядаються як перспективні для використання у культурі *in vitro*. При застосуванні звичайних солей металів у культурі *in vitro* лише незначна частка мікроелементів проникає в клітини та бере участь у біохімічних процесах, оскільки доставка іонів через клітинні мембрани обмежена кількістю спеціалізованих транспортних білків. Наночастинки значно швидше проникають через біомембрани. Стабілізуюча оболонка наночастинок на основі біогенних полімерів забезпечує поступове використання елементів у біосинтетичних процесах. Тобто наночастинки металів проявляють високу біологічну ефективність при менших концентраціях порівняно із солями і можуть бути використані для заміни солей важливих макро- та мік-

роелементів у живильному середовищі, у тому числі для індукції соматональної варіабельності в культурі клітин *in vitro*.

Живильне середовище для культивування рослин *in vitro* зазвичай крім макро- і мікроелементів повинно містити вітаміни та фітогормони. Більшість існуючих живильних середовищ є модифікацією основного середовища Мурасіге-Скуга (МС) (Murashige, Scoog, 1962). З метою здешевлення приготування цього середовища ми вирішили дослідити можливість використання як замітника фітогормонів у МС-середовищі розчину аква N-окси-2-метилпіридин (II) хлориду в екостимі-1 (водно-спиртовому розчині метаболітів штаму симбіотичного гриба-ендофіта *Cylindrocarpon destructans*, виділеного із коренів обліпихи, що має рістрегулюючу активність) (Перелік ..., 2018).

Перспективним є використання нанопрепаратів і в інших напрямках, наприклад, в індукції природної системної стійкості у рослин. Одним із індукторів стійкості рослин до патогенів є хітозан – лінійний полісахарид, ланцюг якого побудований із β -1,4-з'язаних залишків глюкозаміну (GlcN) та невеликої кількості N-ацетил-глюкозамінових (GlcNAc) ланок (Shepherd et al., 1997). У США компанією «Agri House Inc, Denver» на основі нанорозмірних частинок хітозану створено новий препарат YEA (Yield enhancing agent) (Malerba, Cerana, 2018). Один мілілітр його препаративної форми містить $14,4 \times 10^{13}$ молекул низькомолекулярного хітозану і у 600 разів ефективніший від звичайного хітозану. В Японії дві фірми («Taiyo Chemical Industry Com» та «Nisshia Ksei Com») розробили стимулятор росту рослин, що складається із хітозану, органічних кислот та амінокислот (Тютерев, 2015). Проте біологічна ефективність наночастинок хітозану досліджена на обмеженому спектрі об'єктів. Не вивченим залишається вплив їх поєднання з аналогами фітогормонів на стійкість рослин до патогенів.

Таким чином, завданнями роботи були оптимізація живильного МС-середовища із залученням наночастинок біогенних елементів та дослідження ефектів нових композицій індукторів системної стійкості рослин на основі наночастинок хітозану з додаванням синтетичних аналогів ауксинів і гіберелінів.

МЕТОДИКА

Об'єктами досліджень були сорти томату Лагідний і Бобрицький та картоплі Лугівська і Слов'янка. Роботу із рослинами в культурі *in*

vitro проводили згідно із загальноприйнятими методиками (Бутенко, 1986; Кушнір, Сарнацька, 2005). Первинні калуси отримували із сегментів листків асептично вирощених рослин. Для цього розрізані на сегменти пластинки листків культивували при 24-26°C, освітленні 1,5-3,0 клк, фотоперіоді 16 год і відносній вологості 70%. За 5-7 діб на експлантах починає утворюватися калус. При його перенесенні на середовище для стимуляції морфогенезу інтенсивність освітлення збільшували до 5-10 клк. Укорінення пагонів відбувалося на середовищі без регуляторів росту зі зниженим до 1% вмістом сахарози. Добре сформовані рослини-регенеранти із 2-3 парами листків і розвинутою кореневою системою пересаджували у субстрат вермикуліту, а після їх приживлення пересаджували у теплицю.

Визначення ефективності нових композицій індукторів стійкості рослин проводили за індукцією утворення фітоалексину картоплі рішитину. Для цього в лабораторних умовах з бульб картоплі (*Solanum tuberosum*) сорту Темп з генотипом стійкості R₁ вирізали циліндри. Для оцінки індукування локальної стійкості з циліндрів вирізали диски, промивали дистильованою водою і підсушували фільтрувальним папером. На поверхню дисків наносили відповідні індуктори, а в контролі воду – 0,5 мл/диск. Через 2 год після обробки диски інфікували суспензією зооспор несумісної раси r₁ гриба *Phytophthora infestans*. Індукування локальної та системної стійкості визначали через різні проміжки часу за накопиченням фітоалексину рішитину (Дмитриев, 2000).

Для дослідження ефектів комплексів наночастинок та аналогів ауксинів і цитокінінів рослини томату висаджували на малогумусному чорноземі у третій декаді травня із густотою стояння 400 рослин на 100 м². Фітопатологічні обліки інфікованих рослин і ступінь розвитку хвороби у польових умовах проводили згідно із методикою випробування і застосування пестицидів (Методика ..., 2001). За 3-4 дні до прогнозованого прояву симптомів хвороби обробку вегетуючих рослин проводили водним розчином нанохітозанового комплексу. Через два тижні обробку повторювали. Ступінь ураження рослин оцінювали за 6-бальною шкалою. Було проведено по п'ять обліків розвитку захворювання.

Активність пероксидази в листках томатів визначали з використанням гваяколу як відновника перексиду водню (Ярош и др., 1987). Метод базується на вимірюванні оптичної гус-

ВИКОРИСТАННЯ НАНОЧАСТИНОК БІОГЕННИХ ЕЛЕМЕНТІВ

Таблиця 1. Калюсогенез рослин томату сорту Лагідний в культурі *in vitro* на МС-середовищі з ауксин-цитокініновим заміником

Дні обліку	Маса калюсних агрегатів, мг			
	Контроль, МС-середовище	Розчин аква N-окси-2 метил-піридин (II) хлориду в екостимі-1, мл/л		
		0,8	1,0	1,2
10-й	56,2 ± 2,4	54,9 ± 2,3	56,3 ± 2,5	56,4 ± 2,4
20-й	73,0 ± 3,6	72,0 ± 3,5	73,0 ± 3,7	73,1 ± 3,9
30-й	93,5 ± 4,2	92,8 ± 4,3	93,4 ± 4,1	93,5 ± 4,4

Таблиця 2. Морфогенез рослин томату сорту Лагідний в культурі *in vitro* на МС-середовищі із ауксин-цитокініновим заміником

Дні обліку	Висота живців, см			
	Контроль, МС-середовище	Розчин аква N-окси-2 метил-піридин (II) хлориду в екостимі-1, мл/л		
		0,8	1,0	1,2
10-й	6,7 ± 0,4	6,6 ± 0,3	6,7 ± 0,4	6,8 ± 0,4
20-й	8,2 ± 0,5	8,0 ± 0,5	8,3 ± 0,6	8,3 ± 0,6
30-й	10,4 ± 0,7	10,2 ± 0,7	10,4 ± 0,7	10,4 ± 0,7

тини продуктів реакції, що утворюються при окисненні гваяколу за певний проміжок часу. Оптичну густину вимірювали при 470 нм. Активність ферменту виражали у відносних одиницях на г сирої маси.

Досліди повторювали незалежно не менше трьох разів. В таблицях наведені середні величини та їх стандартні похибки.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Оптимізація живильного середовища МС з використанням наночастинок біогенних елементів

У першій серії експериментів для стимуляції калюсогенезу томатів в МС-середовище замість ауксину та цитокініну додавали розчин аква N-окси-2-метилпіридин (II) хлориду в екостимі-1 у різних концентраціях (табл. 1). Такі ж концентрації цього комплексу додавали до МС-середовища для стимуляції морфогенезу рослин томатів (табл. 2).

Одержані результати свідчать, що вказаний заміник у досліджуваних концентраціях не поступався за ефективністю класичному МС-середовищу з фітогормонами. Маса калюсних агрегатів та висота морфогенних живців на МС-середовищі з додаванням комплексу у динаміці обліків була на рівні контрольних показників.

Як уже зазначалося, наночастинок металів менш токсичні порівняно з солями тих же металів і відрізняються пролонгованою дією на біологічні об'єкти. Тому у другій серії експери-

ментів досліджували модифікацію МС-середовища, в якому ряд важливих макро- та мікроелементів було замінено на наночастинок цих елементів у цитратній або аква-хелатній формі. Найбільший приріст калюсної маси на початкових етапах був відзначений з експлантів листка у сорту картоплі Лугівська (табл. 3). Виявилось, що норми витрат біогенних елементів в аква-хелатних і цитратних формах були значно нижчими від їх вмісту в класичному варіанті МС-середовища. Схожі результати отримано при роботі з калюсами сортів томату Лагідний (табл. 4) та Бобрицький (табл. 5).

В цілому на даний час накопичений певний досвід, який підтверджує доцільність використання наночастинок біогенних елементів для калюсогенезу рослин у культурі *in vitro*, але без заміни комплексу фітогормонів у МС-середовищі. Так, при використанні наночастинок кобальту і міді вдалося підвищити кількість отримуваних рослин-регенерантів м'яти перцевої. Автори розглядають наночастинок як адаптогени в технології мікроклонального розмноження рослин *in vivo* (Таланкова-Середа, 2016). Виявлено, що додавання наночастинок оксиду цинку до МС-середовища стимулювало соматичний ембріогенез, ріст проростків банана, а також активність антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази, пероксидази і каталази (Helaly et al., 2014).

Дані літератури свідчать, що наночастинок металів мають низку важливих переваг і відрізняються від своїх макроаналогів великою питомою поверхнею та, як наслідок, високою

Таблиця 3. Калюсогенез рослин картоплі сорту Лугівська на різних живильних середовищах

Час культивування, доба	Живильні середовища		
	МС-середовище (стандарт)	МС-аква-хелатне	МС-цитратне
	Маса калюсної тканини за добу культивування, мг		
3	5,8 ± 0,6	10,0 ± 0,8	14,2 ± 0,9
6	10,0 ± 0,8	35,3 ± 1,6	23,4 ± 1,3
9	16,0 ± 1,0	40,9 ± 2,3	33,0 ± 1,9
12	20,0 ± 1,1	46,0 ± 2,4	36,1 ± 2,0
15	26,0 ± 1,4	53,1 ± 2,5	39,2 ± 2,2
18	28,3 ± 1,5	56,0 ± 2,7	38,1 ± 2,1
21	31,2 ± 1,8	55,2 ± 2,6	37,3 ± 2,0
24	33,0 ± 1,9	52,1 ± 2,5	35,2 ± 1,9
27	33,0 ± 1,9	45,8 ± 2,4	32,5 ± 1,8

Таблиця 4. Калюсогенез рослин томату сорту Лагідний на різних живильних середовищах

Час культивування, доба	Живильні середовища		
	МС-середовище (стандарт)	МС-аква-хелатне	МС-цитратне
	Маса калюсної тканини за добу культивування, мг		
3	13,5 ± 1,0	18,8 ± 1,1	18,6 ± 1,1
6	17,4 ± 1,1	26,4 ± 2,4	33,1 ± 2,5
9	24,1 ± 2,3	50,0 ± 3,6	54,5 ± 3,3
12	36,5 ± 2,6	68,4 ± 3,9	60,0 ± 3,5
15	40,0 ± 2,5	79,2 ± 4,0	58,2 ± 3,3
18	43,4 ± 2,4	81,6 ± 4,0	58,2 ± 3,3
21	45,2 ± 2,4	85,2 ± 4,2	58,2 ± 3,3

Таблиця 5. Калюсогенез рослин томату сорту Бобринський на різних живильних середовищах

Час культивування, доба	Живильні середовища		
	МС-середовище (стандарт)	МС-аква-хелатне	МС-цитратне
	Маса калюсної тканини за добу культивування, мг		
3	6,0 ± 0,5	9,8 ± 0,8	13,8 ± 1,0
6	9,4 ± 0,7	32,4 ± 1,6	21,7 ± 1,3
9	14,0 ± 1,0	37,6 ± 1,7	30,0 ± 1,5
12	18,3 ± 1,1	42,0 ± 2,0	33,3 ± 1,6
15	22,4 ± 1,2	49,0 ± 2,5	36,4 ± 1,7
18	23,0 ± 1,2	53,2 ± 2,7	36,0 ± 1,7
21	25,6 ± 1,3	53,0 ± 2,7	35,4 ± 1,6
24	26,3 ± 1,3	50,2 ± 2,6	33,0 ± 1,6
27	25,8 ± 1,3	43,0 ± 2,4	31,1 ± 1,5

проникною здатністю та адсорбційною активністю (Гусев, 2005). Вони не розшаровуються під впливом тепла і світла, а приготовлений робочий розчин може зберігатися не години або дні, а роки, залишаючись при цьому активним (Фостер, 2008).

Індукція системної стійкості пасльонових дією композицій на основі наночастинок хітозану

Разом із співробітниками Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря

НАН України було створено 12 нових композицій індукторів на основі різних наночастинок хітозану з синтезованими аналогами ауксинів та гіберелінів. До складу синтезованих композицій входили наночастинок хітозану та похідні N-оксі піридинів і 3,4 діалкіламіносульфофанів із різними нормами витрат.

Для визначення ефективності таких композицій в лабораторних умовах використовували розроблений нами біотест за індукцією утворення фітоалексину картоплі рішитину.

ВИКОРИСТАННЯ НАНОЧАСТИНОК БІОГЕННИХ ЕЛЕМЕНТІВ

Таблиця 6. Накопичення фітоалексину рішитину (умов. од.) у дисках картоплі, оброблених нанохітозановими композиціями індукторів (спектрофотометр «Nicolet Evolution 300», довжина хвилі – 520 нм)

Варіант	Без спор <i>Ph.infestans</i>	Зі спорами <i>Ph. infestans</i>
Хітозан ацетильований	4,141 ± 0,134	2,164 ± 0,118
Хітозан нанорозмірний	4,364 ± 0,142	2,221 ± 0,121
ДП – 1 (x-8 + a-40)	4,386 ± 0,144	2,179 ± 0,120
ДП – 2 (x-9 + a-30)	4,092 ± 0,125	2,089 ± 0,106
ДП – 3 (x-7 + a-45)	4,007 ± 0,128	2,005 ± 0,102
ДП – 4 (x-7 + a-50)	4,012 ± 0,131	2,008 ± 0,105
ДП – 5 (x-8 + a-30)	4,103 ± 0,133	2,014 ± 0,108
ДП – 6 (x-8 + a-35)	4,114 ± 0,134	2,036 ± 0,110
ДП – 7 (x-8 + a-45)	4,367 ± 0,138	2,232 ± 0,122
ДП – 8 (x-9 + a-40)	4,368 ± 0,135	2,233 ± 0,121
ДП – 9 (x-7 + a-40)	4,003 ± 0,121	2,002 ± 0,119
ДП – 10 (x-7 + a-35)	3,992 ± 0,122	2,003 ± 0,121
ДП – 11 (x-7 + a-30)	3,724 ± 0,124	1,995 ± 0,122
ДП – 12 (x-8 + a-50)	4,441 ± 0,128	2,238 ± 0,125

Примітка: x – хітозан (мг/мл); a – аналог ауксинів та гіберелінів (мг/мл)

Таблиця 7. Індукування системної стійкості у рослин томату сорту Борівський проти *Alternaria solani* за допомогою нанохітозанових композицій індукторів у польових умовах

Варіант	Дата обліку	Альтернаріоз, %		Збір, т/га	Сумарний урожай, т/га
		розвиток хвороби	технічна ефективність		
Контроль, без обробки	13.08	4,4	-	5,44 ± 0,43	16,74
	22.08	5,6	-	5,58 ± 0,40	
	31.08	6,4	-	5,72 ± 0,39	
ДП -1	13.08	0,1	97,7	5,86 ± 0,38	18,17
	22.08	0,3	94,6	5,97 ± 0,37	
	31.08	0,4	93,8	6,34 ± 0,36	
ДП-7	13.08	0,1	97,7	5,87 ± 0,38	18,22
	22.08	0,3	94,6	5,99 ± 0,37	
	31.08	0,4	93,8	6,36 ± 0,39	
ДП-8	13.08	0,1	97,7	5,85 ± 0,37	18,25
	22.08	0,3	94,6	6,00 ± 0,36	
	31.08	0,4	93,8	6,40 ± 0,35	
ДП-12	13.08	0,1	97,7	5,86 ± 0,36	18,23
	22.08	0,3	94,6	5,98 ± 0,35	
	31.08	0,4	93,8	6,39 ± 0,33	

Виявилось, що композиції індукторів різною мірою індуюють синтез рішитину. У дисках картоплі, оброблених цими композиціями, рішитин накопичувався у більших кількостях, ніж при інокуляції спорами несумісної раси гриба *Phytophthora infestans* (табл. 6). За здатністю різних композицій індукторів індукувати синтез рішитину було відібрано чотири композиції дослідних препаратів (ДП) (1, 7, 8, 12) – з найбільшою фітоалексин-індукуючою активністю для подальшого аналізу їх захисної дії в польових умовах.

Польові досліді було проведено разом із співробітниками Національного наукового

центру «Інститут механізації та електрифікації сільського господарства» НААН України. Виявилось, що всі чотири композиції індуювали системну стійкість рослин томатів сорту Лагідний проти збудника альтернаріозу гриба *Alternaria solani* на природному інфекційному фоні. Їх технічна ефективність в польових умовах, коли розвиток хвороби не перевищував 7%, складала близько 100% (табл. 7). Одержані результати свідчать, що при слабкому розвитку хвороби у польових умовах немає необхідності використання фунгіцидів для пригнічення розвитку альтернаріозу, а достатньо лише обприскування посадок томату розробленими нами композиціями індукторів.

Таблиця 8. Активність пероксидази у рослин томату сорту Лагідний, оброблених нанохітозановими композиціями індукторів, (умовн. од./г сирої речовини • хв)

Варіант	Перед обробкою	Після обробки:		
		2-й день	5-й день	8-й день
Контроль, без обробки	11,49 ± 0,72	11,52 ± 0,73	11,50 ± 0,72	11,51 ± 0,73
ДП-1	11,49 ± 0,72	15,29 ± 0,81	14,00 ± 0,78	13,05 ± 0,75
ДП-7	11,49 ± 0,72	15,28 ± 0,77	13,98 ± 0,76	12,98 ± 0,74
ДП-8	11,49 ± 0,72	15,93 ± 0,84	14,89 ± 0,77	13,78 ± 0,75
ДП-12	11,49 ± 0,72	15,87 ± 0,79	14,75 ± 0,74	13,68 ± 0,73

Ми намагалися з'ясувати причетність змін окиснювального метаболізму до індукції системної стійкості рослин за обробки нанохітозановими композиціями. Як маркер таких ефектів визначали активність неспецифічної пероксидази в листках (Колупаєв, Карпец, 2010). У наших експериментах було виявлено збільшення активності ферменту у варіантах з обробкою рослин досліджуваними композиціями (табл. 8). Як відомо, пероксидаза задіяна в активації захисних реакцій рослин проти патогенних грибів. Вона контролює вміст пероксиду водню і бере участь у формуванні клітинної стінки. Пероксидаза є досить чутливим маркером несприятливих впливів, тому її часто використовують для оцінки стрес-чутливості рослин (Граскова, 2011, Землянухина і др., 2017). Крім того, пероксидаза здатна окиснювати поліфеноли в о-хінони, які є ще більш токсичними для фітопатогенних грибів.

Підсумки

Запропоновані нами модифікації живильного МС-середовища з використанням заміника фітогормонів та наночастинок замість солей біогенних елементів дозволяють оптимізувати та здешевити приготування цього середовища для індукції калюсогенезу та морфогенезу пасльонових культур в умовах *in vitro*.

Чотири з 12 новостворених композицій наночастинок хітозану з аналогами ауксинів та гіберелінів виявились ефективними індукторами системної стійкості рослин. Польові експерименти показали, що вони індукують захисні реакції у рослин картоплі і томатів проти збудника альтернативного на природному інфекційному фоні.

Альтернативні хімічним способи захисту рослин, що базуються на активізації їх природної стійкості до стресових факторів, дозволяють зменшити кількість обробок посівів пестицидами, а при слабкому розвитку хвороб взагалі

уникнути їх. Ці способи необхідні для отримання екологічно безпечної продукції та оздоровлення навколишнього середовища.

ЛІТЕРАТУРА

- Бутенко Р.Г. 1986. Культура клеток растений и биотехнология. Москва : 344 с.
- Граскова И.А. 2011. Роль пероксидаз в устойчивости растений к биотическому стрессу. Berlin : 356 с.
- Гусев А.И. 2005. Наноматериалы, наноструктуры, нанотехнологии. Москва : 416 с.
- Дмитриев А.П. 2000. Фитоалексины и их роль в устойчивости растений. Киев : 207 с.
- Землянухина О.А., Калаев В.Н., Воронина В.С. 2017. Сравнительный анализ методов определения активности и изоферментного спектра пероксидаз различного происхождения. Успехи современного естествознания. № 9. С. 13-22.
- Коваленко Л.В., Фолманис Г.Э. 2000. Высокоэффективные биопрепараты нового поколения. Сахарная свекла. 4-5 : 20-23.
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. 2010. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров. Киев : 352 с.
- Кушнір Г.П., Сарнацька В.В. Мікротклональне розмноження рослин. Київ: 2005. 270 с.
- Методика випробування і застосування пестицидів. К. : 2001.
- Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні. 2018. Київ : 629 с.
- Рамбиди Н.Г., Березкин А.В. 2008. Физические и химические основы нанотехнологий. Москва : 454 с.
- Таланкова-Середа Т.С. 2016. Вплив наночастинок біогенних металів на ефективність морфогенетичних процесів м'яти перцевої (*Mentha piperita* L.) у культурі *in vitro*. Агроєкологічний журнал. (2) : 149-155.
- Тютюрев С.Л. 2015. Экологически безопасные индукторы устойчивости растений к болезням и

ВИКОРИСТАННЯ НАНОЧАСТИНОК БІОГЕННИХ ЕЛЕМЕНТІВ

- физиологическим стрессам. Вестник защиты растений. 1 (83) : 3-13.
- Фостер Л. 2008. Нанотехнологии. Наука, инновации и возможности. Москва : 349 с.
- Ярош Н.П., Арасимович В.В., Ермаков И.А., Перуанский Ю.В. 1987. Определение активности ферментов и их ингибиторов. Методы биохимических исследований растений. Ленинград : 36-64.
- Helaly M.N., El-Metwally M.A., El-Hoseiny H., Omar S.A., El-Sheery N.I. 2014. Effect of nanoparticles on biological contamination of in vitro cultures and organogenic regeneration of banana. Aust. J. Crop Sci. 8 : 612-624.
- Makarov V.V. 2014. «Green» Nanotechnologies: Synthesis of metal nanoparticles using plants. Acta Nature. 6 (1) : 35-44.
- Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15 (3). 473-497.
- Shepherd R., Reader S., Falshaw A. 1997. Chitosan functional properties. Glycoconj. J. 14 (4) : 535-542.
- Kolupaev Yu.E., Karpets Yu.V. 2010. Formation of plant adaptive responses to the action of abiotic stressors. Kiev : 352 p.
- Kushnir G.P., Sarnatska V.V. 2005. Microclone propagation of plants. Kyiv : 270 p.
- Metodyka vyprobuvannya i zastosuvannya pestytsydiv (Methods of testing and using pesticides). Kyiv : 448 p.
- List of pesticides and agrochemicals authorized for use in Ukraine. 2018. Kyiv : 629 p.
- Rambidi N.G., Berezkin A.V. 2008. Physical and chemical bases of nanotechnology. Moscow : 454 p.
- Talankova-Sereda T.E. 2016. The Influence of Nanoparticles of Biogenic Metals on the Efficiency of the Morphogenetic Processes of Mint Peppermint (*Mentha piperita* L.) in culture in vitro. Agroecological J. (Agroecologichnyi Zhurnal) (2): 149-155.
- Tyuterev S.L. 2015. Environmentally safe inductors of plant resistance to diseases and physiological stress. Plant Protection Bulletin. 1 (83) : 3-13.
- Foster L. 2008. Nanotechnology. Science, innovation and opportunity. Moscow : 349 p.
- Yarosh N.P., Arasimovich V.V., Ermakov I.A., Peruvsky Y.V. 1987. Determination of the activity of enzymes and their inhibitors. Methods of biochemical studies of plants. Leningrad : 36-64.)
- Helaly M.N., El-Metwally M.A., El-Hoseiny H., Omar S.A., El-Sheery N.I. 2014. Effect of nanoparticles on biological contamination of in vitro cultures and organogenic regeneration of banana. Aust. J. Crop Sci. 8 : 612-624.
- Makarov V.V. 2014. «Green» Nanotechnologies: Synthesis of metal nanoparticles using plants. Acta Nature. 6 (1) : 35-44.
- Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15 (3). 473-497.
- Shepherd R., Reader S., Falshaw A. 1997. Chitosan functional properties. Glycoconj. J. 14 (4) : 535-542.

REFERENCES

*Надійшла до редакції
12.01.2019 р.*

КОВБАСЕНКО, ДМИТРИЄВ

**APPLICATION OF NANOPARTICLES OF BIOGENIC ELEMENTS AND CHITOSAN
AT CULTIVATION OF SOLANACEOUS *IN VITRO* AND *IN VIVO***

R. V. Kovbasenko, O. P. Dmitriev

*Institute of Cell Biology and Genetic Engineering
of National Academy of Science Ukraine
(Kyiv, Ukraine)
E-mail: rayasenko@ukr.net*

The application of nanotechnology in crop production allows us to solve a number of economic problems. The objectives of the work were to modify the nutritious agar medium Murashige-Skoog (MS) to grow plants *in vitro* with the replacement of phytohormones in aqueous solution of Nhydroxy-2-methylpyridine (II) chloride in ecostim (water-alcohol solution of metabolites of the strain of the symbiotic fungus endophyte *Cylindrocarpon destructans* that exhibit auxin-cytokinin activity), as well as the replacement of a number of salts of macro- and micronutrients in the MS medium on the nanoparticles of these elements in the citrate or aqua-chelate form. Such modifications contributed to the growth of potatoes and tomatoes. Perspective is the use of nanoparticles and to induce system resistance of plants. In the work the estimation of biological activity of new compositions of inductors of plant resistance to biotic stresses on the basis of chitosan nanoparticles with analogues of auxins and gibberellins is carried out. The most effective compositions have been established that induce the systemic resistance of tomato plants to pathogens *Phytophthora* and *Alternaria* in field conditions.

Key words: *Lycopersicon esculentum*, *Solanum tuberosum*, nanoparticles of biogenic elements, *in vitro* culture, biotic elicitors, systemic acquired resistance in plants

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ БИОГЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ
И ХИТОЗАНА ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ ПАСЛЕНОВЫХ
IN VITRO И *IN VIVO***

Р. В. Ковбасенко, А. П. Дмитриев

*Институт клеточной биологии и генетической инженерии
Национальной академии наук Украины
(Киев, Украина)
E-mail: rayasenko@ukr.net*

Применение нанотехнологий в растениеводстве позволяет решить ряд экономических проблем. Задачами работы были модификация питательной агаризованной среды Мурасиге-Скуга (МС) для выращивания растений *in vitro* с заменой в нем фитогормонов на раствор аква-N-окси-2-метилпиридин (II) хлорида в экостиме (водно-спиртовом растворе метаболитов штамма симбиотического гриба-эндифита *Cylindrocarpon destructans*, проявляющих ауксин-цитокининовую активность), а также замена ряда солей макро- и микроэлементов в среде МС на наночастицы этих элементов в цитратной или аква-хелатной форме. Такие модификации способствовали приросту каллусов картофеля и томатов. Перспективным является использование нанопрепаратов и для индуцирования системной устойчивости растений. В работе проведена оценка биологической активности новых композиций индукторов устойчивости растений к биотическим стрессам на основе наночастиц хитозана с аналогами ауксинов и гиббереллинов. Установлены наиболее эффективные композиции, которые индуцируют системную устойчивость растений томатов против возбудителей фитофтороза и альтернариоза в полевых условиях.

Ключевые слова: *Lycopersicon esculentum*, *Solanum tuberosum*, наночастицы биогенных элементов, культура клеток *in vitro*, биотические элиситоры, индуцирование системной устойчивости растений