



KAPITEL 1 / CHAPTER 1¹

FULLERENE C60 AS A REGULATOR OF PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF WHEAT AND PEAS

DOI: 10.30890/2709-2313.2025-43-02-006

Вступ.

Пошук нових шляхів підвищення врожайності основних сільськогосподарських культур, поліпшення якості і безпечності продукції та забезпечення сталості виробництва - це пріоритетні завдання сільськогосподарської галузі як в Україні, так і в світі. Традиційні методи стають малоефективними в умовах динамічних змін, пов'язаних зі зростанням навантаження на довкілля, що супроводжується деградацією ґрунтів та глобальними змінами кліматичних умов, тому важливою є активна переорієнтація аграрного сектору на використання прогресивних інноваційних рішень, зокрема нанотехнологій.

Вуглецеві наноматеріали набули широко застосування в різних галузях промисловості, а також медицині та сільському господарстві. Вуглець володіє досить унікальною для хімічних елементів властивістю - здатністю утворювати зв'язки з іншими атомами вуглецю і таким чином полімеризуватися. Вуглецеві наноматеріали залежно від їх геометричної структури, поділяються на фулерени (сферична форма), одно- і багатошарові нанотрубки (трубчаста форма), графен (двовимірний плоский шар), наноточки та ін. Всі ці наноалотропи вуглецю володіють рядом переваг, зокрема високою стабільністю, провідністю, екологічністю та достатньо високою біосумісністю, а також переважно низькою токсичністю [1, 2].

Вуглецеві наночастинки здатні проникати через клітинні стінки та мембрани рослин, що і визначає їх біологічну дію. Так, існують дані про їх накопичення у тканинах судин, навколишніх клітинах та міжклітинному просторі рису (*O. sativa*) [3], кореневій системі сої (*G. max*), томатів (*S. lycopersicum*), а також у коренях і пагонах кабачків (*C. pepo*) [4], у редисі (*Raphanus sativus*) [5]. Доведено,

¹Authors: Prylutska Svitlana, Tkachenko Tetiana



що вуглецеві наночастинки накопичуються у субклітинних органелах рослинних клітин, зокрема у пластидах, вакуолях та ядрі [6,7].

Вуглецеві наночастинки здатні проникати крізь мембрану хлоропласту шляхом пасивної дифузії та впливати на фотосинтетичну активність, передаючи електрони у фотосинтетичний електрон-транспортний ланцюг [8, 9].

Проникнення і накопичення вуглецевих наночастинок у клітинах рослин залежить від їх фізико-хімічних властивостей, зокрема розміру молекул, концентрації, модифікації і заряду поверхні, наявності функціональних груп, умов обробки, а також виду рослин [10].

Вуглецеві наночастинки можуть накопичуватися в тканинах рослин і використовуватися при синтезі вуглецевмісних біоорганічних сполук. Показано, що вуглецеві наноматеріали індукують синтез біологічно активних речовин і метаболітів у клітинах рослин [11,12], а також фенольних сполук, каротиноїдів, вітамінів та глутатіону [13].

Фулерен утворений атомами вуглецю та сумісний з окремими біосистемами. Ці наночастинки здатні діяти на клітинну стінку і мембрану рослин, змінюючи їх проникність, поглинати вільні радикали кисню і азоту та таким чином виступати як антиоксидант; різними механізмами, зокрема і через модуляцію аквапоринів, сприяти засвоєнню води, що прямо чи опосередковано впливає на ріст та розвиток рослин [14]. Наслідки впливу цих наночастинок можуть бути як позитивними, так і негативними, що залежить від концентрації і способу введення [15, 16].

Злакові та бобові культури є традиційними для вирощування на українських полях. Серед злакових культур надзвичайно важливою для продовольчої безпеки є пшениця, яка є важливим експортним продуктом та основною сировиною для хлібопекарської галузі [17]. Горох - цінне джерело білка, що чудово засвоюється організмом людини, окрім того азотфіксуюча здатність цієї зернобобової культури суттєво покращує родючість ґрунтів та робить його незамінним компонентом у сівозмінах [18].

Перспективи застосування структурованих наночастинок фулерену для



підвищення врожайності сільськогосподарських культур, якості і безпечності отриманої сировини та зниження впливу абіотичних/біотичних стрес-факторів на рослини є без перебільшення широкими. Тому такі дослідження необхідні для розуміння потенційних переваг та ризиків застосування вуглецевих наноматеріалів у сільському господарстві і агробіотехнологіях вцілому.

1.1 Вплив фулерену C₆₀ на морфометричні показники мікрозелені гороху (*Pisum sativum*)

Популярність мікрозелені у раціоні харчування робить горох не лише перспективною сільськогосподарською культурою для вирощування на полі, а також для вертикальних ферм, міських теплиць та домашніх умов завдяки його високій поживній цінності та швидкому росту. Вивчення морфометричних показників дозволяє оцінити загальний стан рослин та їх здатність адаптуватися до різних умов вирощування. Це особливо важливо за умов урбаністичного сільського господарства, де ефективне використання простору та ресурсів є ключовим фактором.

Метою дослідження було оцінити вплив фулерену C₆₀ за різних концентрацій на морфометричні показники гороху (*Pisum sativum*) за дії посухи.

Водні колоїдні розчини фулерену C₆₀ вихідної концентрації 0,15 мг/мл було синтезовано, охарактеризовано структуру і стабільність у хімічній лабораторії Інституту Біотехнологій Технічного університету м. Ільменау (Німеччина) та люб'язно надано для проведення біологічних досліджень професором Уве Ріттером. У дослідженні використано насіння гороху (*Pisum sativum*) сорту ЕСО категорії СН1 (сертифіковане насіння першої генерації) ПП «АБІНА». Перед посівом насіння обробляли за схемою, наведеною на Рис.1.

Після попередньої обробки насіння кожну пробу (30 г) замочували упродовж 3 годин у розчинах: контроль – дистильованій воді, дослідні проби - колоїдних водних розчинах C₆₀ фулерену за відповідних концентрацій 0,1 мкг/мл, 0,2 мкг/мл, 0,5 мкг/мл, 1 мкг/мл.



Після чого насіння гороху висаджували у контейнери з відповідними субстратами, які поміщали на 4 доби за кімнатної температури $+20^{\circ}\text{C}$ у темне місце для проростання, а далі дотримувались фотоперіоду 12/12.

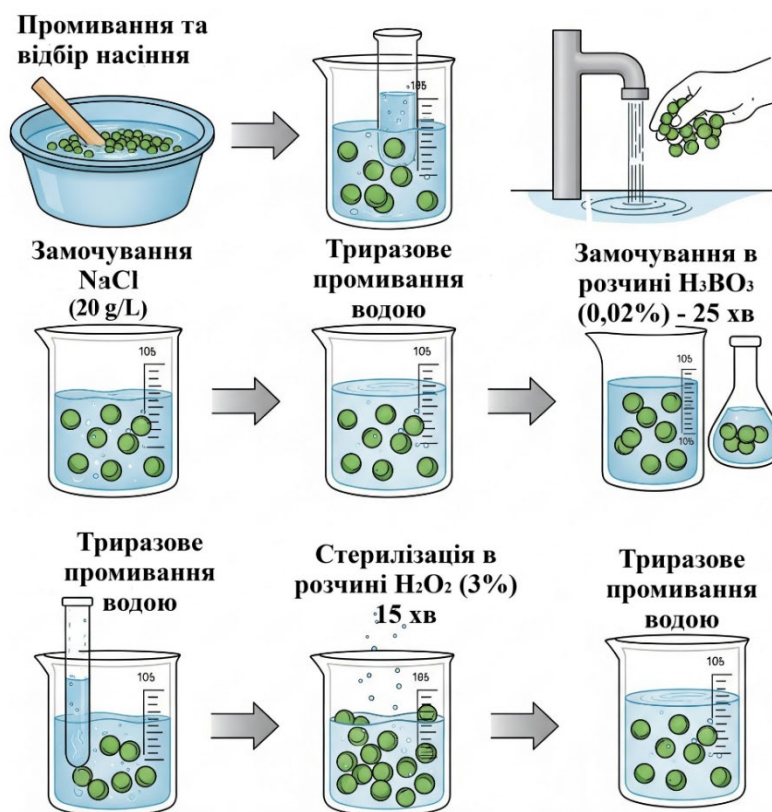


Рис.1 - Схема передпосівної підготовки насіння гороху.

Джерело: створено авторами.

У досліді № 1 в якості субстрату використовували лляний килимок; у досліді № 2 - ґрунтосуміш універсальну ТМ «Флоріада» (склад: дернова земля, торф верховий, торф низинний, річковий пісок, мінеральні добрива (N, P, K), мікроелементи (Fe, Zn, B, Cu, Mo, Mn), pH 5,5–7,5).

Оцінку морфометричних показників гороху здійснювали на 14 добу після висадки насіння та визначали показники: довжина і діаметр головного пагона, кількість листків, довжина кореня, загальна маса рослини, маса всіх листків. Вибірка рослин у досліді становила 10-15 проростків.

Статистичну обробку отриманих результатів досліджень проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики, відмінність показників при значеннях $p \leq 0,05$ вважалась статистично значущою [19].



Дослід № 1 (ляній килимки)

Дослід № 2 (ґрунтосуміш)

Рис. 2 - Мікрозелень гороху (*Pisum sativum*) на 14 день експерименту (контрольні групи).

Джерело: створено авторами

Наші дослідження показали, що на 14 день після пророщення насіння гороху контрольних груп на різних субстратах спостерігаються відмінності у морфометричних показниках (Табл. 1). У рослин, вирощених на ґрунтосуміші, досліджувані параметри перевищували аналогічні у рослин, вирощених на лляному килимку, а саме: довжина головного пагона у 1,5 рази, діаметр головного пагона і кількість листків у 1,7 рази, загальна маса рослин у 1,9 рази, а маса усіх листків у 4,3 рази. Отже, вирощування мікрозелені гороху є ефективнішим на ґрунтосуміші, що дозволяє отримувати більше якісної рослинної сировини.

Таблиця 1 - Морфометричні показники мікрозелені гороху, вирощеної на різних субстратах, на 14 добу ($M \pm m$, $n=15$)

Показник	Лляний килимок	Ґрунтосуміш
Довжина головного пагона, см	10,21 ± 1,71	15,51 ± 1,46*
Діаметр головного пагона, мм	1,83 ± 0,26	3,02 ± 0,29*
Кількість листків, шт	4,00 ± 0,35	7,00 ± 0,66*
Загальна маса рослини, г	0,81 ± 0,07	1,54 ± 0,11*
Маса усіх листків, мг	44,13 ± 3,64	191,03 ± 18,61*
Довжина кореня, см	15,40 ± 3,41	13,22 ± 1,29*

* $p < 0,05$ у порівнянні з рослинами, вирощеними на лляному килимку.

Наступний етап роботи передбачав дослідження впливу наночастинок фулерену C₆₀ на морфометричні показники гороху за умови його вирощування на різних субстратах. Встановлено, що фулерен C₆₀ має субстрат- та дозозалежний вплив на мікрозелень гороху. Так, за умови вирощування мікрозелені на лляних килимках (дослід 1) під дією фулерену в концентрації 0,2 мкг/мл, 0,5 мкг/мл та 1 мкг/мл спостерігалось зниження лише маси листків на 29 %, 32 % і 31 % відповідно порівняно з контролем (Рис. 3).

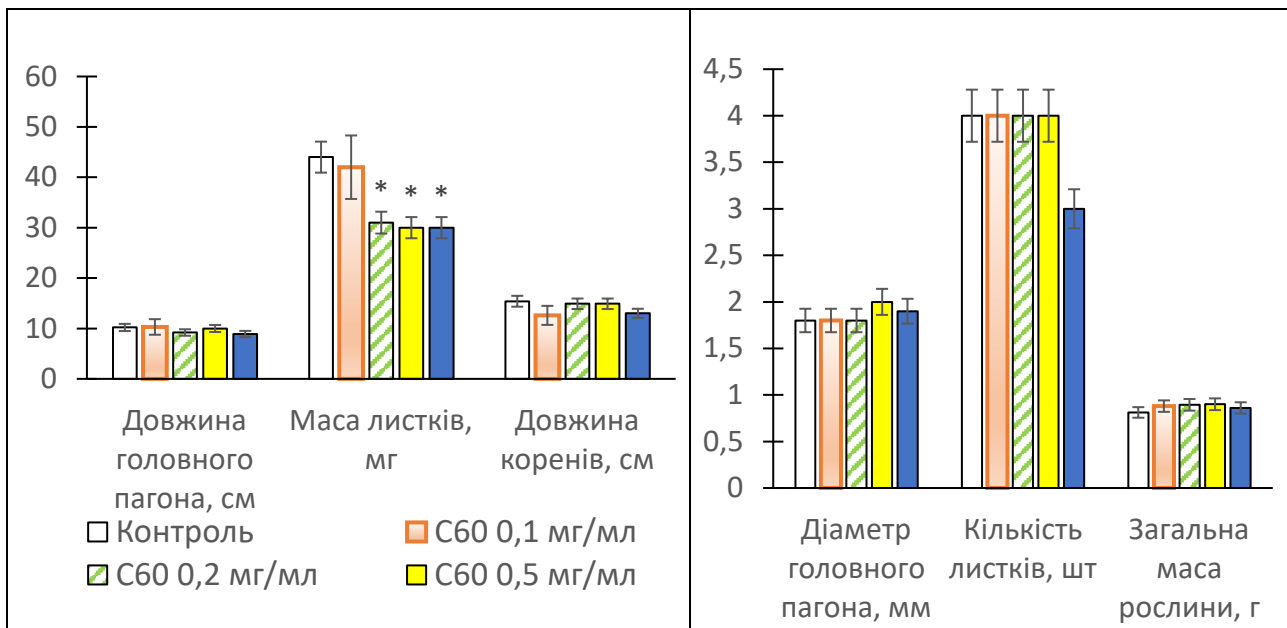


Рис. 3 - Впливу різних концентрацій фулерену C₆₀ на морфометричні показники гороху, вирощеного на лляних килимках (дослід 1), (M±m, n=15)

* $p < 0,05$ у порівнянні з контролем.

Джерело: створено авторами

За умови вирощування мікрозелені гороху на ґрунтосуміші (дослід 2) фулерен в концентрації 0,5 мкг/мл та 1 мкг/мл спричиняв зменшення діаметру головного пагона на 36 % і 33 %, загальної маси рослин на 24 % і 32 % та маси листків на 23 % і 24 % відповідно порівняно з контролем (Рис. 4).

Низькі концентрації фулерену (0,1 і 0,2 мкг/мл) не впливали на жоден з досліджуваних морфометричних показників мікрозелені. Таким чином можна стверджувати, що при обробці насіння фулереном C₆₀, особливо в низьких концентраціях 0,1 і 0,2 мкг/мл, він не проявляє токсичного впливу на рослини гороху і є достатньо біосумісним.

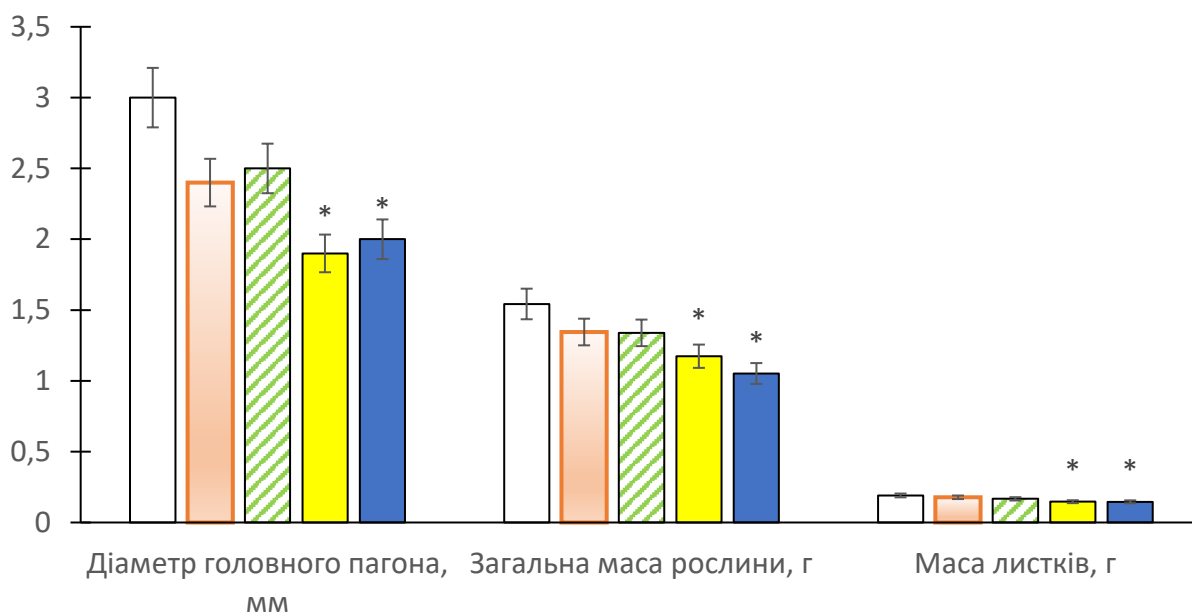
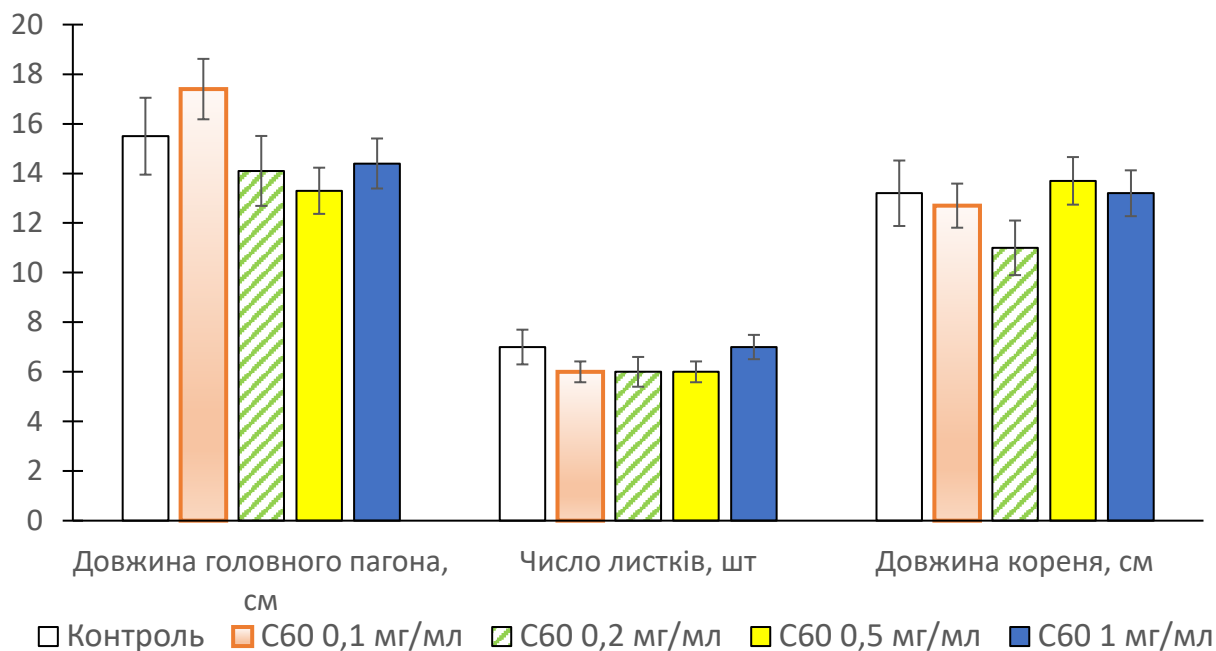


Рис. 4 - Вплив різних концентрацій фулерену C₆₀ на морфометричні показники гороху, вирощеного на ґрунтосуміші (дослід 2), (M±m, n=15)

* p < 0,05 у порівнянні з контролем.

Джерело: створено авторами

Посуха в умовах глобального потепління стає тим фактором, який може чинити суттєвий вплив на екосистеми та нести загрозу продовольчій безпеці



людства [20]. Однією з основних проблем є потенційне зниження урожаїв, а отже і виробництва сільськогосподарської продукції. Це може призвести до дефіциту продуктів харчування та підвищення їх ціни, а також голоду, особливо в регіонах, де сільське господарство є основним джерелом продовольства.

Проведеними дослідженнями було встановлено, що дійсно водний дефіцит суттєво впливає на ріст рослин (Табл. 2).

Таблиця 2 - Морфометричні показники мікрозелені гороху на 14 день вирощування на лляному килимку (дослід № 1) та ґрунтосуміші (дослід № 2) за регулярного поливу і водного дефіциту ($M \pm m$, $n=15$)

Морфометричні показники	Регулярний полив		Водний дефіцит	
	дослід № 1	дослід № 2	дослід № 1	дослід № 2
Довжина головного пагона, см	10,21 ± 1,71	15,51 ± 1,46	6,5 ± 0,58*	5,7 ± 0,54*
Діаметр головного пагона, мм	1,83 ± 0,26	3,02 ± 0,29	1,7 ± 0,03	2,2 ± 0,17*
Кількість листків, шт	4,00 ± 0,35	7,00 ± 0,66	2,0 ± 0,17*	5,0 ± 0,38*
Загальна маса рослини, г	0,81 ± 0,07	1,54 ± 0,11	0,72 ± 0,68	0,80 ± 0,06*
Маса усіх листків, мг	44,13 ± 3,64	191,03 ± 18,61	20,81 ± 0,18*	46,41 ± 3,82*
Довжина кореня, см	15,40 ± 3,41	13,22 ± 1,29	12,62 ± 1,73*	8,31 ± 0,75*

* $p < 0,05$ у порівнянні з контролем.

Так, на 14 день після пророщення насіння гороху спостерігалось значне зниження досліджуваних морфометричних показників рослин гороху як на лляних килимках, так і на ґрунтосуміші (табл. 2).

Зокрема, при недостатньому зволоженні субстратів нами було відмічено зниження довжини головного пагона у 1,6 рази (дослід № 1) і 2,7 рази (дослід № 2), діаметра головного пагона у 1,4 рази (дослід № 2), кількості листків у 2 рази



(дослід № 1) і 1,4 рази (дослід № 2), загальної маси рослини у 1,9 рази (дослід № 2), маси усіх листків у 2,2 рази (дослід № 1) і 4 рази (дослід № 2) і довжини кореня у 1,2 рази (дослід № 1) і 1,6 рази (дослід № 2) порівняно з рослинами вирощеними за умов регулярного поливу на аналогічних субстратах.

Вивчення впливу вуглецевих наноматеріалів на рослинний організм під час стресу задля підвищення його стійкості, а також можливих механізмів, за рахунок яких він може реалізуватись, є надзвичайно актуальним. Оскільки вуглецеві наночастинки фулерену в низьких концентраціях не мали фітотоксичної дії, їх використання є перспективним для зменшення негативних наслідків посухи, поліпшення росту, розвитку рослин, що і стало метою наступного етапу дослідження.

Зважаючи на те, що мікрозелень гороху, яка вирощувалась на ґрунтосуміші, була більш чутливою до впливу посухи, саме цю дослідну модель було використано для подальших експериментальних досліджень з вивчення корегуючого впливу фулерену C_{60} на морфометричні показники рослин за абіотичного стресу.

Отримані результати свідчать, що фулерен C_{60} проявляє суттєвий захисний ефект. Так, було встановлено, що довжина головного пагона за концентрацій фулерену 0,1 і 0,2 мкг/мл та маса листків за концентрацій фулерену 0,1; 0,2; 0,5 мкг/мл була вдвічі більшою порівняно з цим показником за водного дефіциту без внесення вуглецевих наночастинок. Відмічено також збільшення довжини кореня у рослин після обробки 0,1 мкг/мл, 0,2 мкг/мл, 0,5 мкг/мл на 51 %, 22 % і 20 % та маси листків в 2,1; 1,9 і 1,3 рази порівняно з необробленими рослинами. Проте за концентрації фулерену 1 мкг/мл відмічалась й інгібуюча дія, яка проявлялась зниженням довжини головного пагона, кількості листків, діаметру головного пагона та загальної маси рослин (Рис.5).

Водний дефіцит спричиняє значні зміни в біомасі, розмірах та формі органів рослин [21].

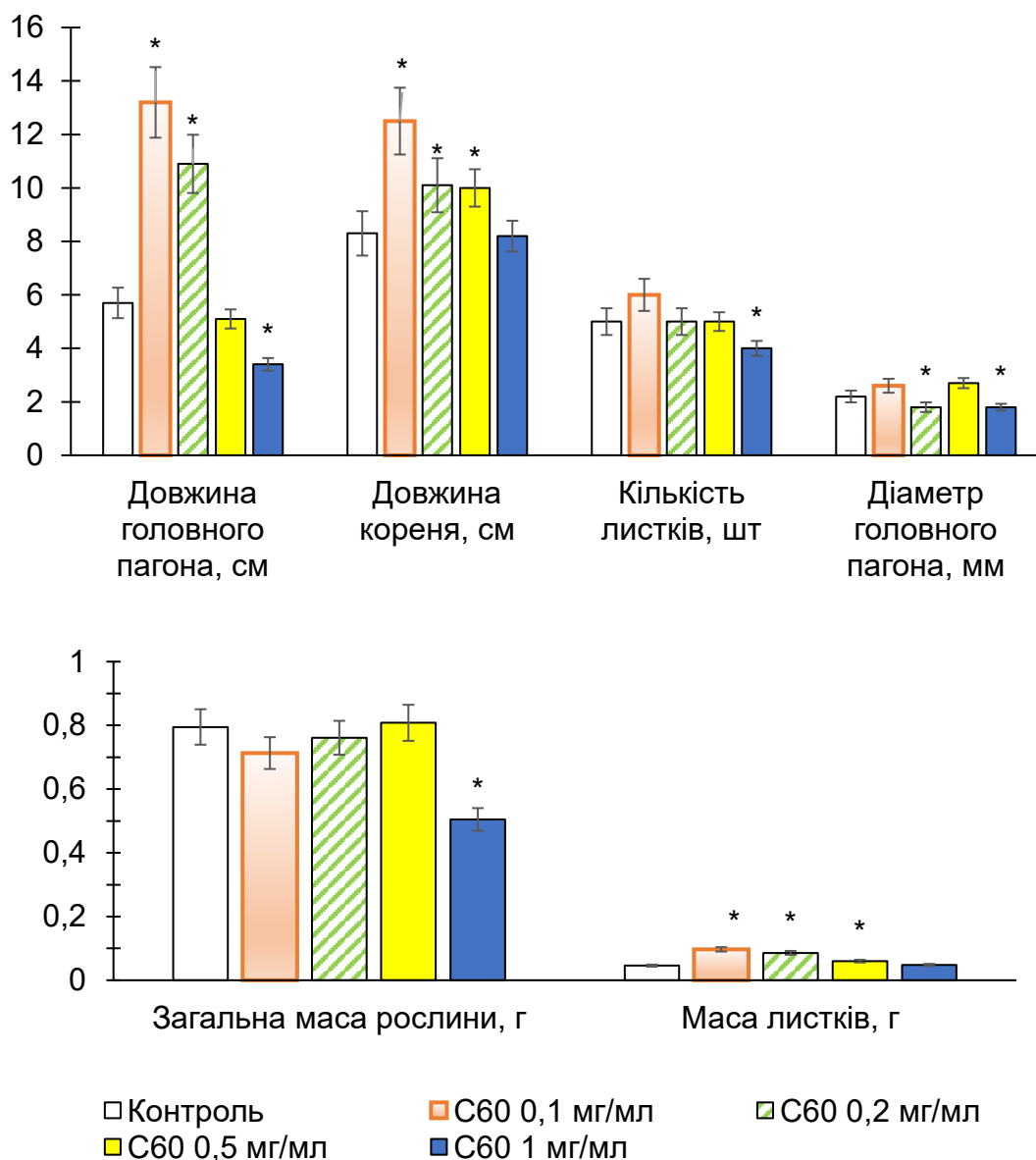


Рис. 5 - Морфометричні показники мікрозелені гороху на 14 день після обробки фулереном C_{60} та пророщення на ґрунтосуміші за водного дефіциту.

* $p < 0,05$ у порівнянні з контролем.

Зміна довжини коренів рослин є однією з ключових умов адаптації до водного дефіциту. Така морфологічна особливість рослин відіграє важливу роль у забезпеченні їх стійкості до посухи [22]. Довгі корені забезпечують рослинам стабільний доступ до води, навіть у складних кліматичних умовах, що сприяє їх збереженню та продуктивності. Рослини за дії посухи розвивають довгу кореневу систему і краще переносять несприятливі умови, тоді як рослини з коротким



корінням є вразливішими до цього стрес-фактора [23, 24]. Збільшення довжини коренів у рослин гороху, яке було встановлено результатами наших досліджень, може бути одним із чинників, які забезпечують вищу стійкість рослин до дії посухи.

Окрім того, отримані нами результати підтверджуються літературними даними. Так, показано, що багатостінні вуглецеві нанотрубки (MWCNTs) за концентрації 100 та 500 мг/кг⁻¹ значно збільшують довжину пагона, кореня і загальну суху біомасу кукурудзи (*Zea mays* L.) [25].

Додавання MWCNT до середовища культивування *Catharanthus roseus* призвело до значного збільшення показників росту рослин, таких як ширина листя, площа листя, вага свіжого листя, довжина кореня та загальна біомаса рослин [26].

Фулерол за різних низьких концентрацій (0,01; 0,1; 1; 10; 100 мг/л) сприяв проростанню насіння *Brassica napus* L. в умовах водного дефіциту а також позитивно впливав на ріст та фотосинтез у *B. napus* [27].

Вуглецеві наноматеріали MWCNTs за концентрації 200 мг/л при зрошуванні листя зменшили негативний вплив водного дефіциту на масу коренів у свіжому та сухому стані, а також збільшували кількість плодів порівняно з контролем за однакового поливу [28].

Отже, наночастинки фулерену C₆₀ є перспективним засобом регуляції росту, розвитку і врожайності сільськогосподарських рослин за впливу посухи, оскільки наші дослідження, проведені на рослинах гороху, а також дослідження інших авторів, виявили позитивний ефект щодо збільшення толерантності рослин до дії вказаного стрес-фактора.

1.2 Фізіолого-біохімічний стан пшениці озимої (*Triticum aestivum* L.) різних сортів за обробки фулереном C₆₀

Урожай озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.) є тим інтегральним показником, що визначається індивідуальною продуктивністю рослин та



залежить від густоти рослин, світлового, температурного та водного режимів, рівня мінерального живлення й інших факторів. Оскільки ці чинники взаємопов'язані, саме їх оптимальний комплекс обумовлює інтенсивність процесу росту, а також продуктивність рослин [29].

Обробку насіння наночастинками використовують з метою забезпечення захисту насіння під час зберігання, покращення й синхронізації проростання та росту рослин, а також для підвищення стійкості культур до абіотичних або біотичних стресових умов [30].

Так відомо про нетоксичний, стимулюючий вплив нанопраймування фулеренолом на врожай пшениці за дії засолення, що реалізувалось за рахунок зниження рівня H_2O_2 та корекції вмісту іонів, зокрема фосфору, в коренях та пагонах [31]. За іншими даними фулерен C_{60} значно збільшує швидкість поглинання амонійного азоту більш ніж у 3 рази та має тенденцію змінювати поглинання окремих мінеральних елементів - зниження рівня поглинання Fe у підземних частині та збільшення рівня поглинання K у надземній частині рослини [32].

Вцілому відомості про фітотоксичну дію фулерену та його похідних, їх вплив на рослини пшениці, механізми взаємодії і ефекти є дуже малочисленими. Тому метою дослідження було дослідити вплив фулерену C_{60} на морфологічні й фізіолого-біохімічні показники пшениці, та встановити найбільш оптимальні концентрації для росту і розвитку рослин.

У дослідженнях було використано водні колоїдні розчини фулерену C_{60} у діапазоні таких концентрацій: 0,1, 0,2, 0,5 і 1 мкг/мл.

Матеріалом дослідження було використано сертифіковане насіння пшениці озимої *Triticum aestivum* L. сортів Патрас і Актер, яке висаджували в універсальну ґрунтосуміш виробника «Флоріада» складу: дернова земля, торф верховий, торф низинний, річковий пісок, мінеральні добрива (N, P, K), мікроелементи (Fe, Zn, B, Cu, Mo, Mn), рН 5,5-7,5».

Передпосівна обробка насіння пшениці включала етапи, зображені на рисунку 6. Нанопраймування насіння пшениці водним колоїдним розчином



фулерену C_{60} різних концентрацій (0,1 мкг/мл 0,2 мкг/мл 0,5 мкг/мл 1 мкг/мл) тривало 3 години, насіння пшениці контрольної групи піддавали гідропраймуванню впродовж аналогічного часу.

Спочатку насіння пророщували на зволоженому фільтрувальному папері в чашках Петрі в темряві при температурі $+17^{\circ}C$ упродовж двох діб, після чого висаджували в ґрунтосуміш на світло і вирощували при температурі $+20^{\circ}C$ та 15/9 фотоперіоді.

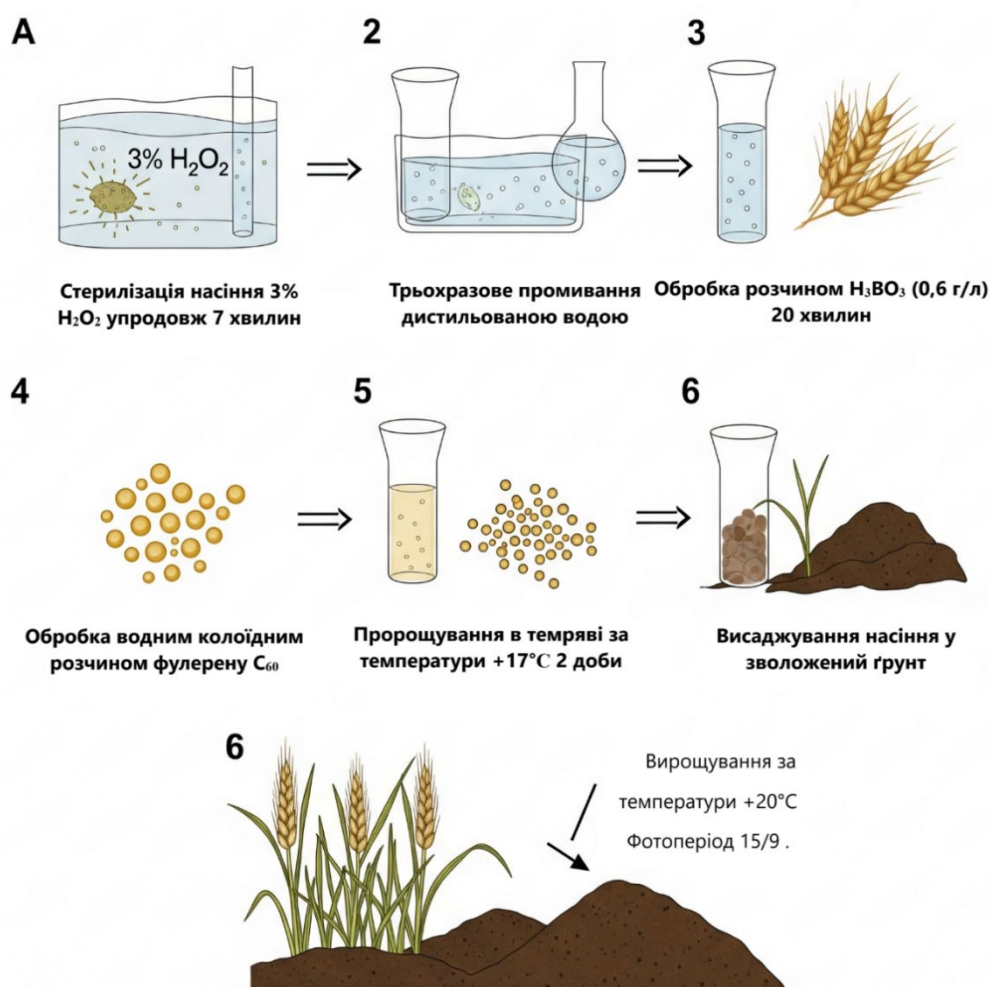


Рис. 6 - Етапи підготовки насіння пшениці *Triticum aestivum* L. Джерело: створено авторами

Морфологічні і біохімічні показники рослин контрольної (без обробки ВНМ) і дослідних груп (оброблених ВНМ) оцінювали на 14 день після пророщення насіння. Відбір і підготовку рослинного матеріалу та морфометричні показники (довжина пагона і кореня, маса рослини) здійснювали



за загальноприйнятими методиками.

Вміст фотосинтетичних пігментів визначали спектрофотометричним методом при довжині хвилі 665 нм для хлорофілу *a*, 649 нм для хлорофілу *b* та 441 нм для каротиноїдів на спектрофотометрі UVmini-1240 SHIMADZU (Японія) [33]. *Вміст малонового діальдегіду* (МДА) визначали за його реакцією з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) у кислому середовищі за високої температури, в результаті чого утворюється забарвлений комплекс з максимумом поглинання при довжині хвилі 532 нм [34]. *Загальний вміст фенольних сполук* у рослинних зразках визначали за модифікованим методом Фоліна-Чокальтеу спектрофотометрично за оптичного поглинання при 765 нм [35]. *Активність каталази* (Е.С. 1.11.1.6) оцінювали спектрофотометричним методом, який базується на здатності пероксиду водню утворювати з молібдатом амонію стійкий комплекс жовтого кольору, інтенсивність поглинання якого вимірюють при довжині хвилі 410 нм [36].

Статистична обробка отриманих результатів дослідження проводилась дисперсійним аналізом «ANOVA» та з використанням програмного забезпечення Microsoft Excel 2010 та GraphPad Prism 7, результати вважали статистично значущими при $p \leq 0,05$.

Пшениця - ключова зернова культура як в Україні, так і світі. Важливим у забезпеченні стабільних врожаїв цієї культури є використання стресостійких сортів, адаптованих до кліматичних умов регіону. Так сорт пшениці Патрас характеризується зимостійкістю та стійкістю до снігової плісняви, а сорт Актер стійкий до осипання, вилягання та біологічних стресів, таких як коренева гниль, септоріоз, фузаріоз, бура іржа, борошніста роса.

Фітотоксичність є важливим показником для з'ясування потенційного впливу наночастинок на навколишнє середовище і рослини. Численні експериментальні дані показали, що вуглецеві наночастинок можуть виявляти токсичну дію на рослини, яка залежить від природи, модифікації, біодоступності і концентрації їх молекул, умов обробки, термінів дії, виду тощо [37].

З метою аналізу впливу фулерену C₆₀ на ріст і розвиток пшениці сортів



Актер та Патрас було проведено обробку насіння наночастинками в концентраціях 0,1 мкг/мл, 0,2 мкг/мл, 0,5 мкг/мл і 1 мкг/мл. Через 14 днів після висаджування пшениці в ґрунт було проведено морфометричний аналіз проростків насіння оброблених розчином фулерену C_{60} у досліджуваному діапазоні концентрацій. Було оцінено середні значення довжини пагонів, коренів та сирої маси для кожного зразка сорту Патрас (Табл. 3) і Актер (Табл.4).

Порівняння рослин контрольних груп сортів Патрас і Актер не показало суттєвих відмінностей у морфометричних показниках на 14 добу після висаджування пророщеного насіння в ґрунт (Табл.3, Табл. 4).

Таблиця 3 - Морфометричні показники пшениці сорту Патрас ($M \pm m$, $n=20$)

Дослідна група	Довжина пагона, мм	Довжина кореня, мм	Сира маса, г
Контроль	32,16±2,66	54,36±2,66	0,18±0,02
+ C_{60} 0,1 мг/мл	29,46±3,96	61,06±3,96	0,24±0,08*
+ C_{60} 0,2 мг/мл	27,97±1,94	61,55±1,94	0,27±0,05*
+ C_{60} 0,5 мг/мл	33,47±2,53	60,67±2,53	0,25±0,02*
+ C_{60} 1 мг/мл	33,0±1,28	64,14±1,28	0,22±0,05*

* $p < 0,05$ у порівнянні з контролем.

Разом з тим порівняння рослин *T. aestivum* сорту Патрас, які були оброблені фулереном C_{60} , з контрольними необробленими рослинами цього ж сорту свідчить про збільшення сирої маси у 1,3, 1,5, 1,4 і 1,2 рази за концентрацій 0,1, 0,2, 0,5 і 1 мкг/мл відповідно. Інші показники, такі як довжина пагона і кореня, не мали статистично значущих змін порівняно з контролем (Табл. 3).

У пшениці сорту Актер фулерен C_{60} концентрацією 0,2, 0,5 і 1 мкг/мл обумовлював збільшення довжини пагонів в середньому в 1,3 рази, а довжина коренів та сира маса рослин не змінювались і залишались приблизно на рівні контрольних значень (Табл.4). Отже, вуглецеві наночастинки не лише не проявляли фітотоксичного впливу на рослини *T. aestivum* обох сортів, але і стимулювали ріст і розвиток надземної маси.

Таблиця 4 - Морфометричні показники пшениці сорту Актер ($M \pm m$, $n=20$)

Дослідна група	Довжина пагона, мм	Довжина кореня, мм	Сира маса, г
Контроль	30,36±3,93	57,96±4,23	0,22±0,01
+ C ₆₀ 0,1 мг/мл	31,66±5,53	57,38±4,63	0,23±0,10
+ C ₆₀ 0,2 мг/мл	38,75±2,81*	59,70±4,43	0,25±0,03
+ C ₆₀ 0,5 мг/мл	38,87±3,42*	62,26±4,02	0,25±0,06
+ C ₆₀ 1 мг/мл	38,8±2,29*	66,22±3,43	0,24±0,05

* $p < 0,05$ у порівнянні з контролем.

Фотосинтетична система, яка працює завдячуючи наявності пігментів, забезпечує приріст біомаси, енергетичний і пластичний обмін. Тому вміст, склад та співвідношення пігментів у фотосинтезуючих органах рослин є тим показником, що характеризує їх функціональний стан.

Результатами дослідження було встановлено, що для пшениці показник загального вмісту хлорофілу є специфічним для кожного конкретного сорту. Зокрема сорт Патрас відрізняється вищим вмістом хлорофілу *a* та каротиноїдів - у 1,3 та 1,6 рази відповідно, порівняно з сортом Актер (Рис. 7).

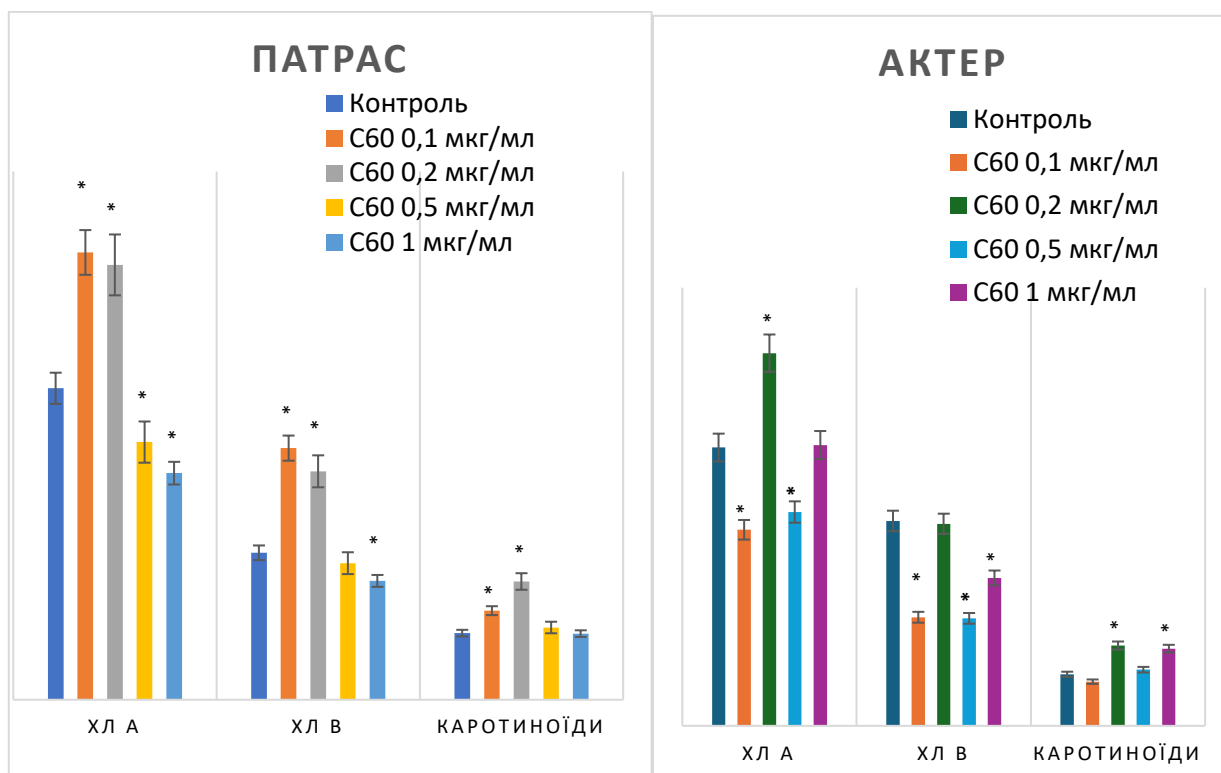


Рис. 7 - Вміст фотосинтетичних пігментів в рослинах пшениці на 14 день після обробки фулереном C₆₀

* $p < 0,05$ у порівнянні з контролем. Джерело: створено авторами



Вочевидь вищий вміст фотосинтетичних пігментів обумовлений зимостійкістю сорту Патрас та високою життєздатністю рослин. Відновлення росту озимої пшениці навесні потребує активного синтезу поживних речовин та достатнього рівня вологи на ранніх етапах вегетації.

При дослідженні впливу екзогенних сполук пігментна система є найбільш важливим маркером, оскільки саме від неї залежить продуктивність рослин. Зважаючи на це наступний етап роботи включав вивчення впливу фулерену C_{60} у діапазоні концентрацій 0,1-1,0 мкг/мл на вміст фотосинтетичних пігментів. Встановлено, що фулерен C_{60} проявляє дозозалежний вплив. Так, у пшениці сорту Патрас спостерігалось значне підвищення вмісту хлорофілів за низьких концентрацій 0,1 і 0,2 мкг/мл фулерену C_{60} на 43 і 40 % хлорофілу *a* і 72 і 56 % хлорофілу *b* відповідно (Рис. 7). За обробки насіння пшениці наночастинками C_{60} 0,5 мкг/мл у рослин сорту Патрас вміст хлорофілів не мав статистично значущих змін порівняно з контролем. Тоді як фулерен C_{60} у найвищій концентрації 1 мкг/мл, навпаки, зменшував вміст хлорофілу *a* і хлорофілу *b* на 26 та 20 % відповідно відносно необроблених наночастинками рослин.

У пшениці сорту Актер наночастинки подібно до попередніх результатів впливали на вміст пігментів, а саме: у рослин, оброблених колоїдним водним розчином фулерену в концентрації 0,1 мкг/мл, вміст хлорофілу *a* підвищувався на 28 %; концентрація 0,2 мкг/мл C_{60} не викликала статистично значущих змін цих показників. Разом з тим концентрації фулерену 0,5 і 1 мкг/мл зменшували вміст хлорофілів *a* і *b* на 22 і 25 % та 18 і 29 % відповідно відносно контролю (Рис. 7).

Загальний вміст хлорофілів характеризує фотосинтетичну активність, базуючись на сумі концентрацій хлорофілів *a* та *b*, які беруть участь у поглинанні світлової енергії. Сума хлорофілів у пшениці обох сортів незначно зростала за низьких концентрацій та знижувалася за високих концентрацій C_{60} фулерену (Табл. 5) порівняно з контролем.

Співвідношення хлорофілів *a/b* або хлорофіловий індекс дозволяє оцінити ефективність використання сонячної енергії для фізіологічних потреб рослин,



тобто є також показником фотосинтетичної активності і може використовуватися як маркер стійкості за стресових умов [38].

Отримані результати вказують на те, що фотосинтетична активність пшениці озимої (*Triticum aestivum* L.) обох сортів не змінюється під дією наночастинок фулерену C₆₀, оскільки показник співвідношення хлорофілів *a/b* відповідає контрольним значенням (Табл. 5).

Таблиця 5 - Співвідношення фотосинтетичних пігментів у 14-добових проростках пшениці за обробки фулереном C₆₀ (M±m, n=15)

Умови експерименту	Співвідношення пігментів		
	$\sum X_{\text{Л}} (a + b)$	$X_{\text{Л}} a / X_{\text{Л}} b$	$\sum X_{\text{Л}} / \sum \text{Карот}$
Сорт Патрас			
Контроль	0,78±0,06	2,12±0,19	6,88±0,66
+ C ₆₀ 0,1 мг/мл	1,19±0,08	1,78±0,16	10,82±0,96*
+ C ₆₀ 0,2 мг/мл	1,13±0,09	1,9±0,18	9,42±0,86
+ C ₆₀ 0,5 мг/мл	0,67±0,06*	1,89±0,18	5,15±0,46*
+ C ₆₀ 1 мг/мл	0,59±0,06*	1,91±0,19	3,9±0,26*
Сорт Актер			
Контроль	0,68±0,07	1,43±0,13	9,71±0,88
+ C ₆₀ 0,1 мг/мл	0,79±0,08	1,82±0,17	11,29±0,12
+ C ₆₀ 0,2 мг/мл	0,68±0,07	1,43±0,13	8,5±0,76
+ C ₆₀ 0,5 мг/мл	0,54±0,06*	1,35±0,12	6,0±0,56*
+ C ₆₀ 1 мг/мл	0,50±0,06*	1,5±0,14	5,0±0,46*

* $p < 0,05$ у порівнянні з контролем

Каротиноїди є важливими елементами фотосинтетичного апарату, відіграють важливу роль у його функціонуванні, забезпечуючи фітопротекторну і захисну антиоксидантну дію [39].

Так, вміст каротиноїдів підвищувався у рослин пшениці сорту Патрас за концентрації 0,1 мг/мл на 34 %, 0,2 мг/мл на 78 % порівняно з рослинами



контрольної групи. У пшениці сорту Актер також відмічали підвищення вмісту каротиноїдів під впливом фулерену C_{60} концентрацією 0,2 мг/мл на 56 %, 1,0 мг/мл на 50 % порівняно з контролем.

Каротиноїди це ті пігменти, які захищають хлорофіли від фотоокиснення. Тому підвищення вмісту каротиноїдів може бути свідченням посилення захисту фотосистем [40].

Разом з тим, якщо розглянути комплекс змін вмісту фотосинтетичних пігментів, можна припустити, що відбувається модифікація роботи світлозбирального комплексу пігментних систем, активація захисних механізмів для запобігання втрати функціональної здатності тилакоїдних мембран. З одного боку активація пігментних фотосистем запобігає фотопошкодженню фотосинтетичного апарату, однак з іншого боку призводить до скорочення частки сонячної енергії, яка використовується у фотосинтетичних процесах [41].

Показник співвідношення загального хлорофілу до каротиноїдів демонструє наскільки оптимальними є умови зростання рослин. Співвідношення між сумарним вмістом хлорофілів і каротиноїдів знижувалося із збільшенням концентрації C_{60} порівняно з контролем (Табл. 5).

Отже, підвищення досліджуваних показників фотосинтетичної активності у рослин пшениці за дії фулерену C_{60} вказує на високу потенційну інтенсивність фотосинтезу і підтверджує комплексний характер формування захисних реакцій.

Нами відмічено зниження вмісту хлорофілів *a* і *b* та загального хлорофілу на фоні підвищення каротиноїдів у обох сортів пшениці оброблених фулереном C_{60} за високих концентрацій (0,5 і 1 мг/мл), що свідчить про зниження фотосинтетичної активності та фізіологічних процесів.

Такі зміни можливі за окисного стресу, що виникає внаслідок надмірного утворення активних форм кисню (АФК), які ушкоджують структури мембран і клітин. Маркером окисного стресу на рівні плазматичних мембран є малоновий діальдегід (МДА), що утворюється під час пероксидного окиснення ліпідів спричиненого надмірним утворенням і накопиченням АФК [42].

Встановлено, що за дії фулерену C_{60} у рослинах пшениці процеси ПОЛ



інтенсифікувалися і також мали дозозалежний характер (Рис. 8, Рис.9.).

У рослинах пшениці сорту Патрас під дією наночастинок фулерену C₆₀ (0,1 мг/мл, 0,2 мг/мл, 0,5 мг/мл; 1 мг/мл) вміст МДА зріс на 23 %, 39 %, 58 % і 65 % (Рис.8). Разом з тим у 14-добових проростках пшениці сорту Актер цей показник пропорційно зростав із збільшенням концентрації наночастинок, зокрема на 28 %, 38 %, 48 % і 67 % за концентрації 0,1 мг/мл, 0,2 мг/мл, 0,5 мг/мл і 1 мг/мл C₆₀ фулерену відповідно (Рис.9).

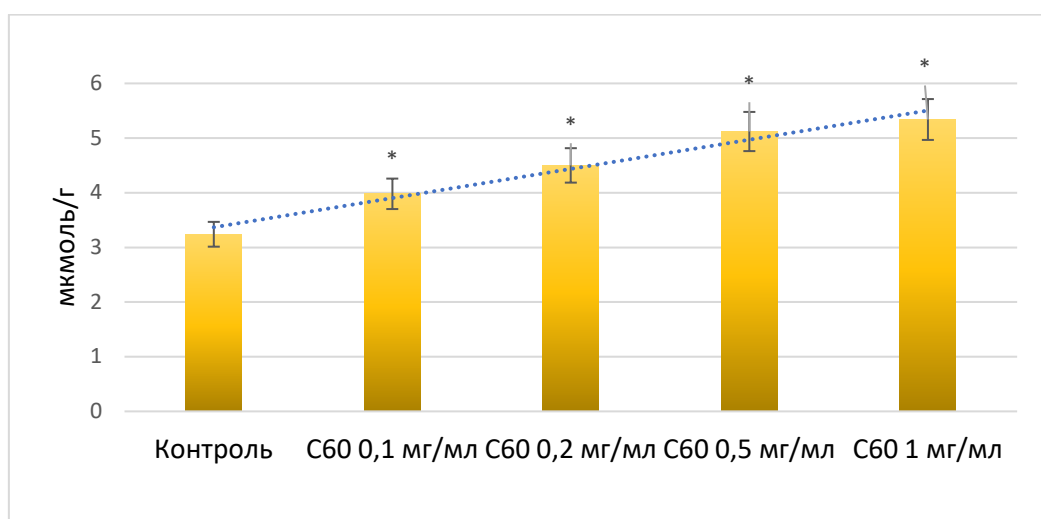


Рис. 8 - Вміст МДА (мкмоль/г) у рослинах пшениці сорту Патрас за обробки фулереном C₆₀.

* $p < 0,05$ у порівнянні з контролем.

Джерело: створено авторами

Підвищення рівня МДА після дії C₆₀ фулерену свідчить про негативний вплив наночастинок на клітинні мембрани внаслідок активації процесів ПОЛ і розвитку окисного стресу.

Компенсаторно-захисні механізми живих клітин, які еволюційно виникли у відповідь на надмірний синтез АФК, з метою нейтралізації їх пошкоджувальної дії та підтримання внутрішньоклітинного гомеостазу, передбачають функціонування так званої системи антиоксидантного захисту, яка включає зокрема антиоксидантні ензими.

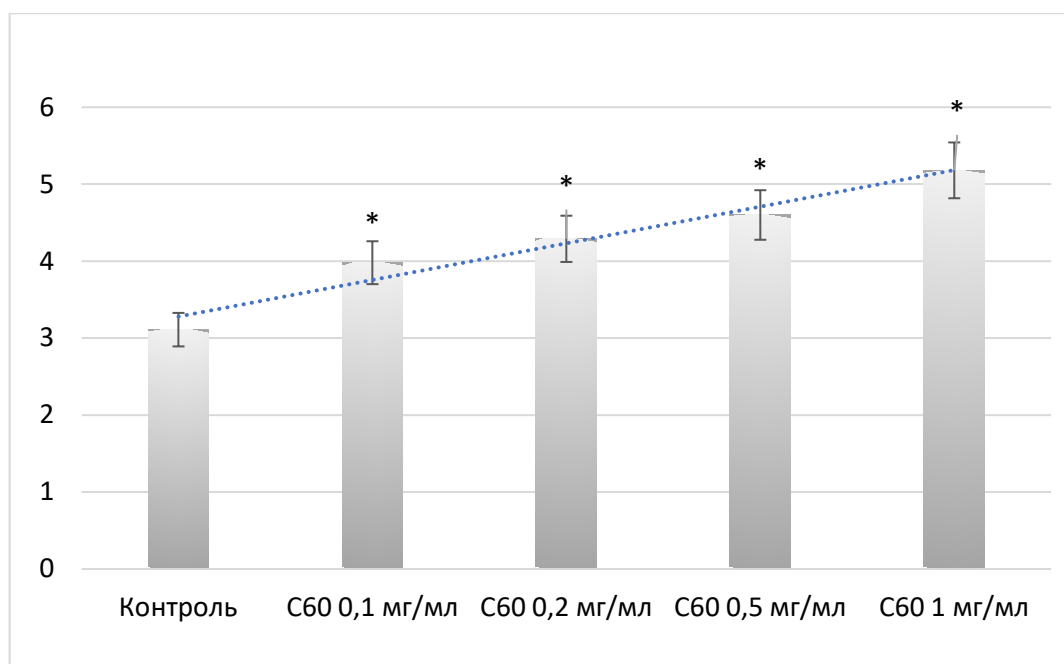


Рис. 9 - Вміст МДА (мкмоль/г) у рослинах пшениці сорту Актер за обробки фулереном C₆₀.

* $p < 0,05$ у порівнянні з контролем. Джерело: створено авторами

Каталаза є одним з ключових ензимів антиоксидантного захисту, який забезпечує детоксикацію пероксиду водню, інактивуючи його та зменшуючи токсичну дію в клітинах [43].

У рослинних клітинах каталаза локалізується у пероксисомах і цитозолі та відіграє важливу роль у фотосинтетичних процесах, зокрема у фотодиханні [44].

Нами було відмічено активацію каталази у рослин пшениці обох сортів оброблених фулереном C₆₀. Так, активність каталази зростала за обробки фулереном C₆₀ у високих концентраціях 0,5 і 1 мкг/мл на 125 і 150 % відповідно у рослин сорту Патрас і на 150 і 173 % відповідно у рослин сорту Актер (Рис. 10). Підвищена активність каталази зазвичай свідчить про надмірне утворення та накопичення H₂O₂ у клітинах, що може свідчити про оксидативний стрес.

Вміст хлорофілів, МДА та активність антиоксидантних ферментів у рослинах зазвичай використовується як маркери можливого окисного пошкодження [45, 46]. Наноматеріали часто спричиняють зміни фізико-біохімічних властивостей та активності антиоксидантних ферментів у біологічних системах [47].

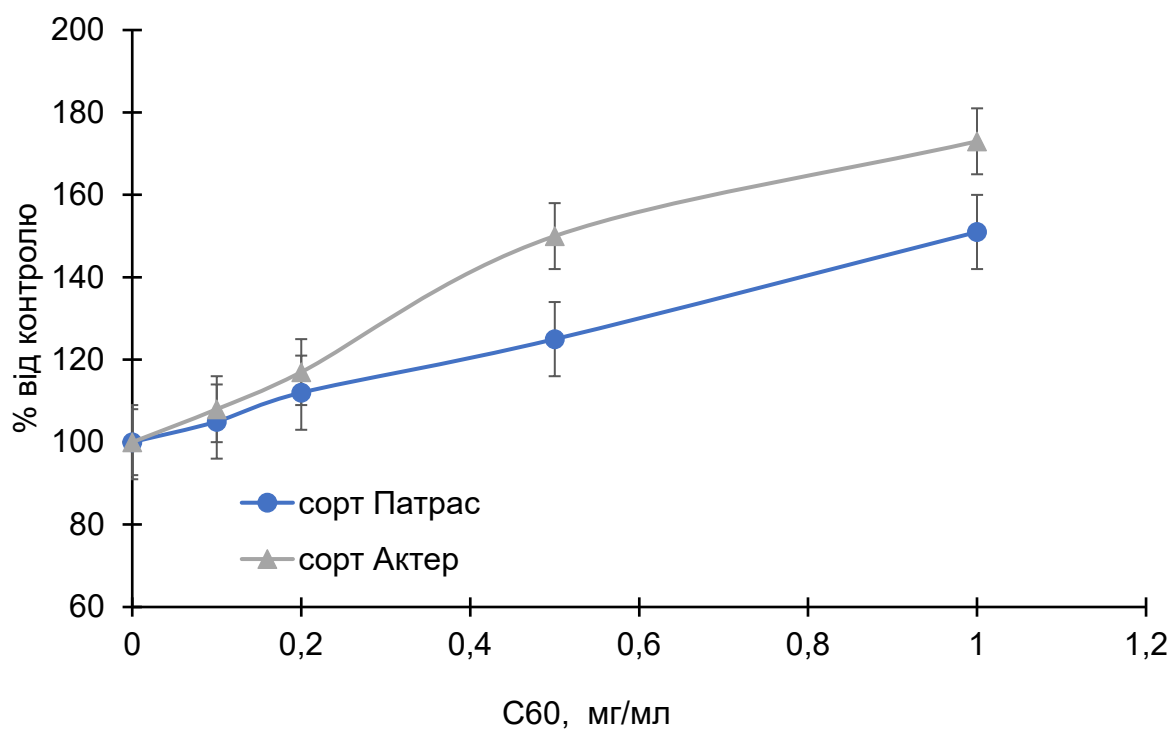


Рис.10 - Активність каталази *T. aestivum* за дії фулерену C₆₀.

* $p < 0,05$ у порівнянні з контролем.

Джерело: створено авторами

Підвищення активності каталази може свідчити як про негативну дію наночастинок, а саме про надмірне накопичення H_2O_2 у клітинах та розвиток окисного стресу, так і про їх захисні властивості, оскільки даний ензим розщеплює перекис водню на воду і кисень, тим самим зменшує перекисне окиснення ліпідів [48].

Важливу роль в антиоксидантному захисті клітин від окисного стресу відіграють фенольні сполуки, які забезпечують захист клітинних мембран та білків [49, 50].

Нами було відмічено синтез фенольних сполук у рослин пшениці сорту Патрас оброблених наночастинками у діапазоні досліджуваних концентрацій (0,1-1 мкг/мл), а саме вміст фенольних сполук зростав на 51 %, 58 %, 66 % та 51 % відповідно відносно контролю (Рис. 11).

Рослини пшениці сорту Актер реагували зростанням вмісту фенольних сполук на 21 і 38 % відповідно порівняно з контролем лише на дію вищих концентрацій фулерену C₆₀ (0,5 і 1 мкг/мл) (Рис.12).

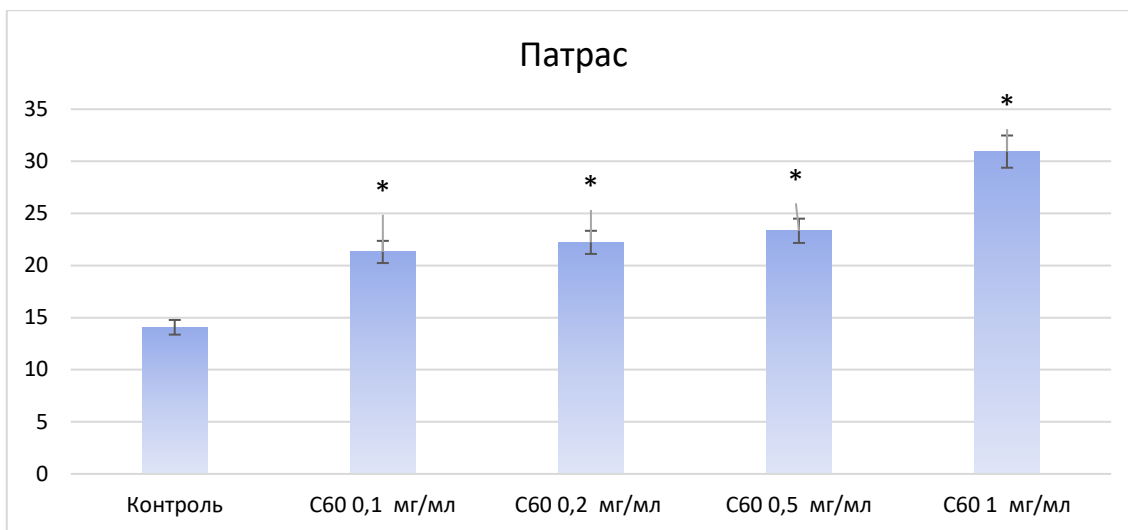


Рис. 11 - Вміст фенольних сполук (мг/г) у рослинах пшениці сорту Патрас за обробки фулереном C₆₀

* $p < 0,05$ у порівнянні з контролем.

Разом з тим у рослинному матеріалі сорту Актер не виявлено підвищення вмісту фенольних сполук за дії низьких концентрацій (0,1 і 0,2 мкг/мл) фулерену C₆₀, що може свідчити про вищу стресостійкість рослин, а також різну сприйнятливність і адаптивність досліджуваних сортів пшениці до дії наночастинок (Рис. 12).

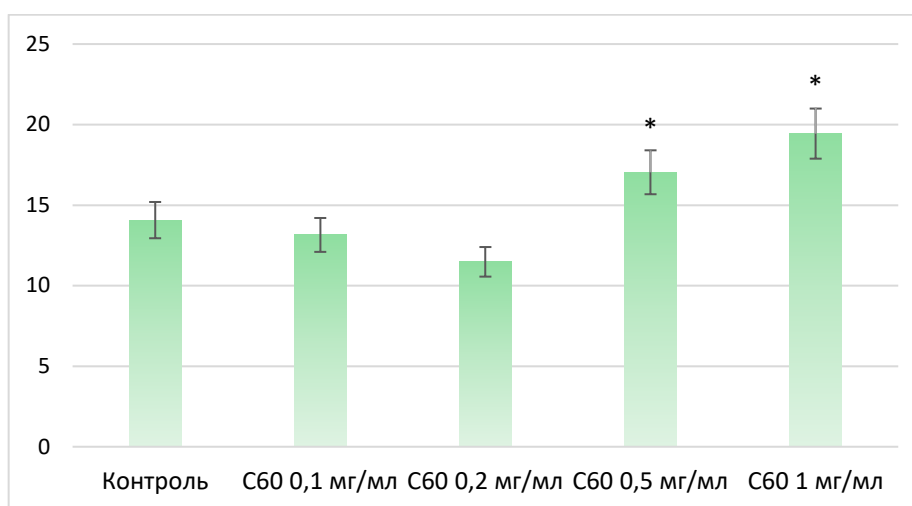


Рис. 12 - Вміст фенольних сполук (мг/г) у рослинах пшениці сорту Актер за обробки фулереном C₆₀. * $p < 0,05$ у порівнянні з контролем.

Джерело: створено авторами



Тобто під впливом вуглецевих наночастинок відбувається активація антиоксидантного захисту рослин, одним з механізмів якого є посилений синтез фенольних сполук у рослин пшениці. Фенольні сполуки нейтралізують активні форми кисню, які утворюються за дії фулерену C_{60} та відіграють роль сигнальних молекул у захисних реакціях [51].

Іншими авторами також показано, що вуглецеві наноматеріали, зокрема нанотрубки за помірних доз, як і фулерен C_{60} , можуть виступати як індуктори системної стійкості у рослин шляхом підвищення вмісту фенолів [52].

У ряді робіт доведено захисні ефекти вуглецевих наночастинок за дії абіотичних чинників на рослини. Так, за обробки насіння 40 і 80 нМ $C_{60}(OH)_{20}$ підвищувався вміст флаваноїдів, фенолів, сахаридів, амінокислот та посилювалися активність каталази і пероксидази у рослин пшениці (*Triticum aestivum* L.) та зниження вмісту МДА [53].

Крім того, у рослин пшениці за умов 6 місячного сольового стресу та позакореневого підживлення 40 і 80 нМ фулерену спостерігався позитивний захисний ефект, який супроводжувався підвищенням вмісту хлорофілів, амінокислот та поживних речовин (кальцію, калію і фосфору) [54].

При обробці насіння кукурудзи (*Zea mays* L.) 5-50 мг/л фулерену виявлено захисну дію від посухи, про що свідчило підвищення активності антиоксидантних ензимів СОД і каталази та зниженням вмісту H_2O_2 і МДА у розсади [55].

Позакоренева обробка буряка звичайного (*Beta vulgaris* L.) фулеренолом супроводжувалася підвищенням вмісту проліну та активності каталази, аскорбатпероксидази і глутатіонпероксидази у коренях і пагонах за умови посухи [56].

За умови позакореневої обробки огірка 1,0 або 2,0 мг/л C_{60} підвищувалася концентрація хлорофілів зв'язуючих білків, протонної помпи (АТФ-синтаза), фотосинтетичних білкових комплексів, що призводило до покращення засвоєння світла, перенесення електронів, синтезу фотосинтетичних пігментів, АТФ та активності гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази і глюкозо-6-фосфат ізомерази



[57].

Таким чином обробка насіння пшениці фулереном C_{60} виявляє дозозалежні ефекти, а також встановлено різну чутливість сортів пшениці до дії цих вуглецевих наночастинок. Позитивний вплив наночастинок на ріст рослин пшениці та позитивний стимулюючий вплив на активацію ферментативних та неферментативних захисних систем, дозволяє розглядати їх як елісатори для підвищення стійкості рослин.

Підсумки та висновки.

В лабораторних умовах наноструктурований фулерен C_{60} продемонстрував ряд цікавих тенденцій впливу на ріст і розвиток рослин гороху та пшениці. Його ефекти були як позитивними, так і негативними, що передусім залежало від концентрації наночастинок, виду і сорту рослин, умов вирощування. В цілому фулерен переважно у нижчих концентраціях, стимулював ріст і розвиток рослин, неоднозначно впливав на вміст фотосинтетичних пігментів, а також активував систему антиоксидантного захисту шляхом підвищення вмісту МДА, фенольних сполук та активності антиоксидантного ферменту каталази. Тобто досліджувані вуглецеві наночастинок мають значні перспективи використання у рослинництві та в умовах змін клімату здатні стати ефективними регуляторами стійкості рослин до дії абіотичних стресорів, зокрема посухи.

Фінансування.

Дослідження проводили за фінансової підтримки МОН України в рамках фундаментальної тематики 110/1-ф-2023 «Регуляція внутрішньоклітинних механізмів стресостійкості сільськогосподарських рослин за використання вуглецевих наноматеріалів» (№ державної реєстрації 0123U101993, 2023-2025 рр.).