

Научная статья

УДК 631.86+631.811.6

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-2-263-271>

EDN: DWIKEU



Биосинтез наночастиц металлов и их апробация на семенах льна-долгунца

Н.А. Любимова✉, Г.Ю. Рабинович

ФИЦ «Почвенный институт им. В.В. Докучаева», г. Москва, Российская Федерация

Аннотация. В данной работе представлены результаты исследования биопрепарата, основой для которого послужил микробный биопрепарат ЖФБ (жидкофазное биосредство), в который были добавлены наночастицы меди или железа, синтезированные методом зеленого синтеза. Полученные наночастицы были исследованы методом ИК-спектроскопии диффузного отражения и вводились в ЖФБ на этапе его созревания в объемном соотношении ЖФБ:раствор частиц 50:1. В результате получено два новых биопрепарата ЖФБ-Fe и ЖФБ-Cu. Все биопрепараты, а также наночастицы железа (Fe НЧ) и меди (Cu НЧ) были протестированы в лабораторном эксперименте на семенах льна сорта Тверской. Наночастицы железа или меди в составе биопрепаратов положительно повлияли на всхожесть семян. В варианте ЖФБ-Fe всхожесть семян составила 86–91%, что на 3–12% больше по сравнению с контролем. В случае использования ЖФБ-Cu всхожесть семян варьировалась от 86 до 93%, что на 3–11% больше по сравнению с контролем. Однако максимальная средняя длина одного проростка в этих вариантах составила 14,5–14,8 см. Тогда как на среднюю длину одного проростка существенно повлиял полив семян раствором, содержащим только наночастицы железа, т.к. в данном варианте было отмечено максимальное значение данного параметра (16,1±1,2 см). Полученные результаты показали, что данное исследование весьма перспективно, но требует дополнительных экспериментов по варьированию концентрации наночастиц в биопрепарате ЖФБ.

Ключевые слова: наночастицы железа, наночастицы меди, биопрепарат ЖФБ, всхожесть семян, лен-долгунец, биометрические параметры

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 22-76-00016.

Для цитирования: Любимова Н.А., Рабинович Г.Ю. Биосинтез наночастиц металлов и их апробация на семенах льна-долгунца // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 2. С. 263–271. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-2-263-271>. EDN: DWIKEU.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Biosynthesis of metal nanoparticles and their testing on flax seeds

Nadezhda A. Lyubimova✉, Galina Yu. Rabinovich

FRC V.V. Dokuchaev Soil Science Institute, Moscow, Russian Federation

Abstract. This work sets out to investigate a green-synthesized biopreparation produced by introducing iron or copper nanoparticles into a microbial liquid-phase biological product (LBP). The obtained nanoparticles were analyzed by diffuse reflectance IR spectroscopy and introduced into the LPB at the stage of its ripening in the LPB:particle solution volume ratio of 50:1. As a result, two new biopreparations – LPB-Fe and LPB-Cu – were obtained. All LPB samples, as well as iron and copper nanoparticles, underwent laboratory testing on flax seeds of Tverskaya variety. Iron or copper nanoparticles in the composition of biological preparations were found to affect positively the process of seed germination. In the LPB-Fe variant, seed germination ranged between 86–91%, which exceeded that in the control by 3–12%. In the LPB-Cu variant, seed germination ranged between 86–93%, which exceeded that in the control by 3–11%. However, in the latter variant, the maximum average length per seedling was 14.5–14.8 cm. The average length per seedling was significantly affected by watering the seeds with a solution containing only iron nanoparticles, with the maximum value of this parameter reaching 16.1±1.2 cm. According to the results obtained, this research direction has good prospects and requires additional experiments by varying the nanoparticle concentration in LBPs.

Keywords: iron nanoparticles, copper nanoparticles, biopreparation LPB, seed germination, long-stalked flax, biometric parameters

© Любимова Н.А., Рабинович Г.Ю., 2023

Funding. The work was financially supported by the Russian Scientific Foundation (project no. 22-76-00016).

For citation: Lyubimova N.A., Rabinovich G.Yu. Biosynthesis of metal nanoparticles and their testing on flax seeds. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(2):263-271. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-2-263-271>. EDN: DWIKU.

ВВЕДЕНИЕ

Наночастицы железа и меди, а также их оксидов широко используются в различных сферах человеческой жизни: в медицине – для адресной доставки лекарственных препаратов и в качестве антимикробных средств, в различных отраслях промышленности – от текстильной до тонкого органического синтеза, в сфере защиты окружающей среды. Особенно интересно применение наночастиц железа и меди в сельском хозяйстве, где они могут служить стимуляторами роста растений, удобрениями, антимикробными веществами, а также индикаторами различных патогенов и пестицидов [1–4]. Медь играет очень важную роль в росте и развитии растений, т.к. участвует в синтезе лигнина – одного из компонентов растительных клеточных стенок, а также в углеводном и липидном обмене. Железо же входит в состав молекул порфирина, цитохрома, белка гемма и Fe-S, а также участвует в биосинтезе хлорофилла в качестве катализатора. Кроме того, оба этих металла участвуют в процессе дыхания растений [5–7].

Ввиду вышесказанного интересно рассмотреть, как наночастицы железа, меди и наночастицы их оксидов влияют на рост и урожайность сельскохозяйственных культур, а также на качество полученных продуктов. Нгуен Д.В. и соавторы [8] показали, что наночастицы CuO положительно повлияли на рост растений как в нормальных условиях, так и при засухе, сохраняя водный баланс листьев, а также содержание в них хлорофилла и каротиноидов [8]. Некорневая обработка растений томата различными концентрациями наночастиц меди (50, 125, 250 и 500 мг/л) позволила получить плоды с повышенной твердостью по сравнению с контролем, что поможет продлить их сроки хранения. Кроме того, применение наночастиц меди способствовало большему накоплению биологически активных соединений, а также витамина С и ликопина в плодах томата [9]. В работе [10] было исследовано влияние различных концентраций наночастиц меди (20, 40 и 60 ppm) на длину корней и побегов кукурузы (*Zeamays L.*). Так, максимальная средняя длина корня и побега была получена при концентрации наночастиц 20 ppm и составила $7,3 \pm 0,2$ и $2,17 \pm 0,15$ см соответственно, что оказалось больше значений контроля на 5 и 2 см. Однако дальнейшее увеличение концентрации наночастиц до 60 ppm привело к снижению роста как корня, так и побега до значений, практически равных контролю ($2,9 \pm 0,2$ и $0,073 \pm 0,06$ см), что связано с токсичным для растений действием повышенного содержания наночастиц меди [10]. Добавление раствора наночастиц концентрацией 20 ppm в почву также положительно повлияло на высоту растений голубиногороха (*Cajanus cajan L.*). Через 4 недели исследования высота побега в экспериментальном варианте составила 25 см, тогда как в контрольном – 20 см. Кроме того, при введении в почву наночастиц меди концентрацией 20 ppm авторы отмечали

увеличение свежей и сухой биомассы на 34 и 82% соответственно по сравнению с контролем [11].

Шейхбаглу Р. и соавторы [12] обнаружили, что внекорневое опрыскивание растений сои наночастицами оксида железа концентрацией 0,75 г/л привело к увеличению содержания белка, липидов, олеиновой, линолевой и линоленовой кислот, а также повлияло на антиоксидантную активность соевого масла из-за увеличения содержания хлорофилла в семенах сои, что благоприятно сказалось на пищевых и промышленных качествах семян [12]. Наночастицы железа также положительно влияют на биометрические параметры растений. Например, после обработки наночастицами концентрацией 500 мг железа на 1 кг почвы биомасса растений резуховидки Таля (*Arabidopsis thaliana*) увеличилась на 38% за счет усиления фотосинтеза, в результате чего в растениях повысилось накопление глюкозы, сахарозы и крахмала [13]. Применение наночастиц оксида железа в дозе 10 мг/кг почвы при размножении растений шелковицы (*Morus alba L.*) также положительно сказалось на их морфологических признаках. Например, количество листьев увеличилось на 52% по сравнению с контролем (дистиллированная вода), а биомасса побегов и корней – на 37 и 90% соответственно, при этом длина корня стала больше на 34%. Кроме того, по сравнению с контрольным вариантом в растениях увеличилось содержание хлорофилла и сахаров на 42 и 15% соответственно [14]. Руи М. и соавторы [15] в своей работе показали, что наночастицы Fe_2O_3 могут стать хорошей заменой традиционным железосодержащим удобрениям при выращивании арахиса (*Arachis hypogaea*), т.к. при их добавлении в почву в дозе от 2 до 1000 мг/кг почвы увеличивается биомасса, содержание хлорофилла и общее содержание железа в растениях по сравнению с контролем [15]. Таким образом, использование наночастиц железа и меди, а также их оксидов является весьма перспективным направлением в растениеводстве.

Еще одно перспективное направление, которое может стать альтернативой традиционным удобрениям, – это создание различных микробных препаратов, ассортимент которых ежегодно становится все шире [16]. В 1 мл или 1 г микробного препарата содержится до 5 млрд клеток симбиотических, ассоциативных и ризосферных микроорганизмов, которые конкурируют с аборигенной микрофлорой почвы, способствуя обогащению почвы доступными соединениями фосфора и азота [16]. Биопрепараты способны увеличивать длину и массу побегов и корней растений, а также положительно влиять на почвенные и растительные биохимические процессы, что способствует повышению урожайности сельскохозяйственных культур [17]. Однако эффективность таких препаратов может значительно снизиться при массовом заражении растений вредителями или болезнями, а также при изменении температурно-го режима и влажности. Следовательно, разработка

сложных биопрепаратов для растениеводства, содержащих в себе несколько действующих компонентов, усиливающих и дополняющих друг друга, является весьма актуальной задачей.

Исходя из всего вышеизложенного, в данной работе был соединен микробный биопрепарат ЖФБ, полученный в процессе ферментации смеси низинного торфа и навоза крупного рогатого скота с последующей экстракцией солевым раствором [18], с наночастицами железа или меди, полученными методом зеленого синтеза с использованием экстракта зеленого чая.

Цель данного исследования – получение биопрепаратов с наночастицами меди или железа и их апробация на семенах льна-долгунца сорта Тверской.

Ожидается, что введение наночастиц в данный биопрепарат на стадии его созревания усилит результативность действующей микрофлоры и будет способствовать увеличению исследуемых параметров. Кроме того, ранее было показано, что сочетание ЖФБ и наночастиц магния или оксида магния, синтезированных указанным выше методом, положительно сказалось на средней длине проростков льна-долгунца [19].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Получение экстракта и биосинтез наночастиц железа и меди. Синтез наночастиц железа и меди осуществляли с использованием экстракта коммерчески доступного зеленого чая торговой марки «Принцесса Ява. Традиционный» (ООО «НП», Россия), который содержит большое количество полифенолов, способных восстанавливать ионы металлов [20]. Для получения экстракта измельченные до тонкодисперсного порошка листья чая смешали с дистиллированной водой (5 г листьев на 100 мл воды) и нагрели на водяной бане при температуре 80 °C в течение 20 мин. После охлаждения экстракт отделили от листьев через бумажный фильтр с помощью воронки Бюхнера.

Для получения наночастиц железа 0,1 М раствор $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ смешали с экстрактом в объемном соотношении 1:1 и оставили на 24 ч при температуре 55 °C.

Синтез наночастиц меди был выполнен аналогичным способом. В качестве прекурсора использовали раствор $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ концентрацией 0,1 моль/л, который смешали с экстрактом зеленого чая в объемном соотношении 1:1.

Исследование полученных наночастиц методом инфракрасной спектроскопии диффузного отражения. Предварительно экстракт зеленого чая, а также растворы, содержащие наночастицы железа или меди, были высушены при температуре 105 °C в течение 6 ч для получения порошка. Порошок помещался в стальную кювету приставки диффузного отражения DRS-8000 (Shimadzu, Япония) инфракрасного спектрометра с Фурье преобразованием IR-Prestige-21 (Shimadzu, Япония). Перед регистрацией спектра образец выдерживался в кюветном отделении спектрометра в течение 5 мин для стабилизации атмосферы. Регистрация спектров проводилась

в диапазоне 4000–240 см^{-1} . В качестве фонового образца использовался материал зеркала оптической системы приставки DRS-8000. Число сканов спектра 100 с разрешением 4 см^{-1} .

Получение биопрепаратов ЖФБ-Fe и ЖФБ-Cu. Зеленый чай, содержащий наночастицы железа или меди, смешивали с готовым ЖФБ для усиления его полифункциональных свойств в объемном соотношении 1:50 (2 мл чая и 100 мл ЖФБ). Полученные биопрепараты ЖФБ-Fe и ЖФБ-Cu, а также ЖФБ без добавок анализировали на ряд биохимических и микробиологических показателей в 3-кратной аналитической повторности: активность каталазы (газаметрическим методом) и дегидрогеназы (фотоколориметрическим методом), численность азототрансформирующих микроорганизмов, полученную из суммы аммонифицирующих и амилалитических микроорганизмов (методом предельных разведений на твердых питательных средах: мясо-пептонный агар и крахмало-аммиачный агар)¹.

Лабораторное исследование полученных биопрепаратов на семенах льна. Для изучения влияния на растительный организм полученных биопрепаратов ЖФБ-Fe и ЖФБ-Cu, а также исходного ЖФБ и наночастиц железа и меди (Fe HCl и Cu HCl) был заложен модельный эксперимент на семенах льна сорта Тверской. В опыте использовали семена 4-й репродукции, II категории по сортовой чистоте. Фитопатологическая оценка семян не проводилась, оценка качества определялась путем тщательного осмотра на предмет зараженности болезнями с последующей калибровкой по размеру и массе. Перед непосредственным использованием семена льна дезинфицировали 1%-м раствором марганцовокислого калия в течение 5 мин.

Проращивание семян льна осуществляли согласно ГОСТ 12038-84 в течение 7 суток в стеклянных чашках Петри на фильтровальной бумаге при температуре 22 ± 1 °C в темноте. В чашки Петри выкладывали семена на сухую фильтровальную бумагу, а затем один раз поливали готовыми препаратами объемом 5 мл. Концентрация препаратов варьировалась от 0,05 до 1,0%. В каждом варианте было предусмотрено 4 повторности (по 35 семян в каждой). Оценку эффективности биопрепаратов проводили путем определения энергии прорастания и всхожести семян, а также определения средней длины одного проростка (ГОСТ 12038-84). В качестве контроля использовали дистиллированную воду.

Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием программы Microsoft Office Excel 2007. Данные в таблицах представлены в виде среднеарифметического значения плюс-минус доверительный интервал (объем выборки $n = 140$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В процессе получения наночастиц железа и меди с использованием экстракта зеленого чая наблюдали изменение цвета с желто-зеленого на черный и темно-коричневый после добавления в экстракт растворов сульфата железа и сульфата меди соответ-

¹ Методы почвенной микробиологии и биохимии: учеб. пособие / под ред. Д.Г. Звягинцева. М.: Изд-во МГУ, 1991. 304 с.

ственно. Данные изменения согласуются с другими работами по биосинтезу наночастиц железа и меди с использованием экстракта зеленого чая и подтверждают формирование наночастиц железа и меди. При этом изменение цвета связано с возбуждением поверхностного плазмонного резонанса [21, 22].

Для установления функциональных групп экстракта зеленого чая и их превращения при добавлении солей металлов был проведен анализ методом инфракрасной спектроскопии диффузного отражения. Полученные ИК-спектры диффузного отражения экстракта зеленого чая, а также наночастиц железа и меди представлены на рис. 1.

Из полученных спектров следует, что для экстракта зеленого чая в соответствии с его химической природой характерны следующие полосы поглощения: полоса поглощения 2928 см^{-1} относится к валентным колебаниям С–Н связи в алканах, полосы поглощения в диапазоне $1470\text{--}700\text{ см}^{-1}$ соответствуют деформационным (крутильным, веерным, маятниковым) колебаниям $\text{--CH}_2\text{--}$ и $\text{--CH}_3\text{--}$ групп. Полоса поглощения около 1207 см^{-1} относится к валентным колебаниям С–О в феноле. Полоса поглощения около 3650 см^{-1} относится к колебаниям ОН-групп катехина и воды, не образовавшей водородные связи, тогда как полосы 3506 и 3531 см^{-1} относятся к валентным колебаниям групп --OH , образовавших водородные связи, что характерно для катехинов – полифенолов, содержащихся в большом количестве в зеленом чае [22]. В спектрах биогенных наночастиц железа и меди также были обнаружены полосы поглощения, характерные для валентных колебаний в алканах (полоса поглощения около 2953 см^{-1}), а также валентные колебания --OH -групп, характерные для полимерных структур (полосы поглощения в диапазоне $3500\text{--}3200\text{ см}^{-1}$). Кроме того, в обоих ИК-спектрах наночастиц присутствуют полосы поглощения около 1311 см^{-1} , характерные для связи S--CH_3 , что косвенно говорит о реакции сульфатов меди и железа с катехинами, в результате которой сформировались наночастицы [23, 24].

Результаты микробиологического и биохимического исследований полученных биопрепаратов

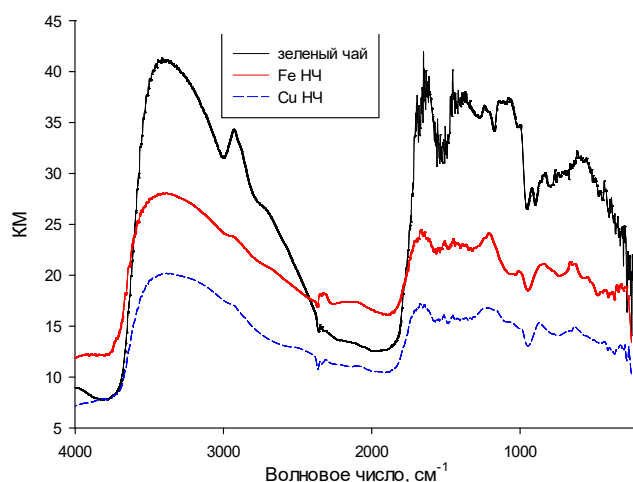


Рис. 1. ИК-спектры зеленого чая, наночастиц железа и меди

Fig. 1. IR spectra of green tea, iron and copper nanoparticles

ЖФБ-Fe и ЖФБ-Cu, а также чистого ЖФБ показали (табл. 1), что добавление в исходный биопрепарат наночастиц металлов не повлияло на его кислотность (рН равна 8,5–8,6).

Таблица 1. Результаты оценки качества биопрепаратов на основе ЖФБ

Table 1. Results of assessing the quality of biologics based on LPB

Показатель	ЖФБ	ЖФБ-Fe	ЖФБ-Cu
Содержание наночастиц металлов, г/л	0	0,28	0,32
рН	8,6	8,5	8,5
Азоттрансформирующие микроорганизмы, 10^{11} КОЕ/мл	25,2	20,0	10,1
Активность каталазы, $\text{см}^3\text{ O}_2/\text{г}/\text{мин}$	$0,20 \pm 0,02$	$0,12 \pm 0,03$	$0,10 \pm 0,02$
Активность дегидрогеназы, мг ТФФ/г/24 ч	$0,74 \pm 0,09$	$0,67 \pm 0,19$	$0,28 \pm 0,01$

Однако при добавлении наночастиц железа в биопрепарат незначительно (в 1,3 раза) снизилось содержание полезных азоттрансформирующих микроорганизмов и, как следствие, активности обоих исследуемых ферментов (см. табл. 1). Аналогичная тенденция наблюдалась и при добавлении в ЖФБ наночастиц меди, только количество микроорганизмов снизилось в 2,5 раза, а активность каталазы и дегидрогеназы – в 2 и в 2,6 раза соответственно по сравнению с исходным биопрепаратом ЖФБ.

Учет энергии прорастания семян льна проводили на третьи сутки после посева (рис. 2). При использовании ЖФБ максимальная (86%) энергия прорастания семян получена при концентрации этого биопрепарата 0,5–0,6%, что на 11% превышало контрольный вариант. В то же время при использовании ЖФБ в малых концентрациях (0,05–0,1%) энергия прорастания семян была меньше на 2% и практически равна значению энергии прорастания в контроле. При этом при увеличении концентрации ЖФБ (диапазон от 0,7 до 1,0%) энергия прорастания постепенно снижалась до 82%.

В отличие от ЖФБ при использовании биопрепарата ЖФБ-Fe энергия прорастания семян (рис. 2) напрямую зависела от его концентрации. Так, при минимальной концентрации ЖФБ значения энергии прорастания были равны 76%, что всего на 1% больше, чем в контроле, тогда как в варианте с 1%-м ЖФБ-Fe энергия прорастания уже достигла 91%, что на 16% больше, чем в контрольном варианте, и на 6% больше максимального значения энергии прорастания при использовании ЖФБ. Применение для полива семян наночастиц железа (Fe НЧ) привело к обратной зависимости энергии прорастания от концентрации (см. рис. 2), т.е. максимальное значение 84% было получено при концентрации Fe НЧ 0,05%, а наименьшее 61% – при его 1,0%-й концентрации. Низкую энергию прорастания семян при использовании Fe НЧ в диапазоне концентраций от 0,4 до 1,0% можно объяснить избытком наночастиц железа,

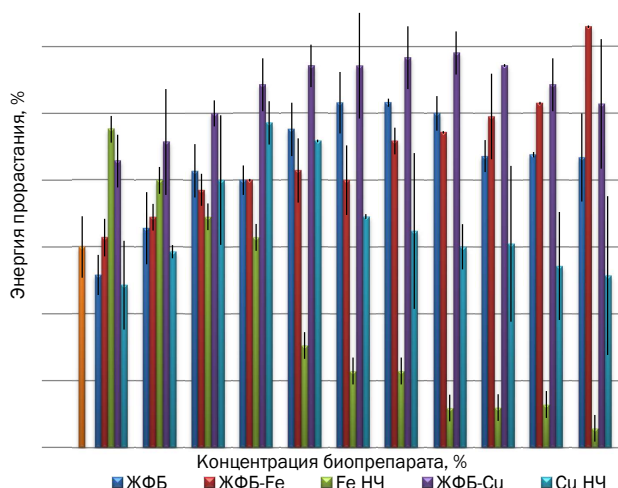


Рис. 2. Энергия прорастания семян льна при использовании различных препаратов

Fig. 2. Germination energy of flax seeds when using various preparations

которые в чистом виде способны ингибировать прорастание семян, тогда как в случае совместного использования ЖФБ и наночастиц железа при больших концентрациях действует именно ЖФБ.

При использовании ЖФБ-Cu максимальная энергия прорастания семян 90% была получена при концентрации биопрепарата 0,7%, что на 15 и на 6% больше по сравнению с контролем и максимальным значением энергии прорастания, полученным при использовании чистого ЖФБ соответственно. При этом важно отметить, что в данном варианте значения энергии прорастания варьировались в диапазоне от 85 до 90% при концентрации биопрепарата 0,2–1,0%, тогда как при низких концентрациях (0,05–0,1%) энергия прорастания оказалась равна 81 и 83%, что на 6–8% превысило энергию прорастания семян льна в контроле и на 7–8% – энергию прорастания семян в варианте с ЖФБ в тех же концентрациях. При использовании наночастиц меди (Cu НЧ) энергия прорастания семян (см. рис. 2) варьировалась от 72 до 84% с максимальным значением 84% при концентрации Cu НЧ 0,3%. При этом энергия прорастания постепенно снижалась с увеличением концентрации от 0,5 до 1,0%, что также можно объяснить ингибированием прорастания семян большим количеством наночастиц меди в растворе.

Всхожесть семян льна при поливе различными препаратами представлена на рис. 3. Необходимо отметить, что в отличие от энергии прорастания всхожесть семян не зависела от их концентрации. Так, при поливе семян ЖФБ всхожесть при различных концентрациях была больше, чем в контроле на 1,5–8,0%, при этом максимум составил 90% при концентрации 0,2%. Добавление наночастиц железа в ЖФБ положительно повлияло на всхожесть семян, т.к. в данном варианте она варьировалась от 86 до 94%, что на 3–12% больше по сравнению с контролем и на 2–5% больше, чем при использовании ЖФБ. Применение для полива семян наночастиц железа (Fe НЧ) в диапазоне концентраций от 0,05 до 0,8% позволило получить всхожесть семян 83–91%, что на

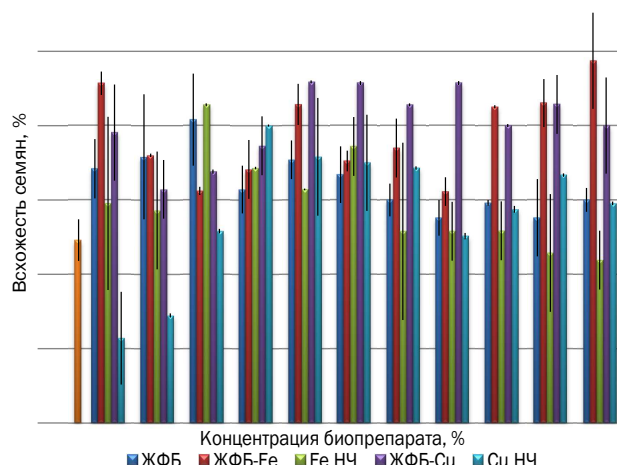


Рис. 3. Всхожесть семян льна при поливе различными препаратами

Fig. 3. Germination of flax seeds when watered with various preparations

1–9% больше, чем в контрольном варианте. Однако при концентрации Fe НЧ 0,9–1,0% всхожесть семян стала меньше, чем в контрольном варианте на 1%. Добавление наночастиц меди в ЖФБ так же, как и в варианте с наночастицами железа, положительно повлияло на всхожесть семян льна. В данном случае всхожесть семян варьировалась от 86 до 93%, что на 3–11% и на 2–5% превышало контроль и вариант с ЖФБ соответственно. Отметим, что использование наночастиц меди (Cu НЧ) в концентрациях 0,2–1,0% позволило получить всхожесть семян от 83 до 90%, тогда как при малых концентрациях наночастиц всхожесть вообще была ниже, чем в контрольном варианте, и составила 76–77%.

Средняя длина одного проростка при использовании различных препаратов представлена в табл. 2. Применение ЖФБ позволило получить максимальную среднюю длину одного проростка $14,5 \pm 0,7$ см при концентрации данного биопрепарата 0,6%, тогда как в целом она изменялась от 12,1 до 14,5 см в зависимости от концентрации, что на 1,0–3,4 см больше, чем в контрольном варианте ($11,1 \pm 0,2$ см). При использовании биопрепарата с наночастицами железа (ЖФБ-Fe) длина проростка практически такая же, как при использовании ЖФБ, максимальная средняя длина одного проростка ($14,7 \pm 1,1$ см) была получена при концентрации ЖФБ-Fe 0,1%, т.е. в шесть раз меньше, чем при поливе оригинальным биопрепаратом. Хотя при этом средняя длина одного проростка в данном варианте также варьировалась от 12,4 до 14,7 см и была на 1,3–3,6 см больше, чем в контроле. Как и в случае с ЖФБ, при поливе семян биопрепаратом ЖФБ-Cu наибольшая средняя длина одного проростка $14,8 \pm 1,1$ см выявлена при его концентрации 0,6%, при этом средняя длина одного проростка в данном варианте варьировалась от 12,3 до 14,8 см, что на 1,1–3,7 см больше, чем при поливе водой. При использовании для полива раствора, содержащего только наночастицы меди, средняя длина одного проростка изменялась от 13,1 до 14,7 см, что на 2,0–3,6 см больше по сравнению с контролем.

Таблица 2. Средняя длина одного проростка при поливе препаратами различной концентрации
Table 2. Average length of one seedling when irrigated with preparations of various concentrations

Вариант	Концентрация препарата, %										
	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0
Средняя длина одного проростка, см											
Вода	11,1±0,2										
ЖФБ	12,1±0,7	12,9±0,7	13,3±0,7	13,7±0,7	13,1±0,8	14,3±1,1	14,5±0,7	13,8±1,0	13,4±0,8	13,7±0,9	13,0±1,2
ЖФБ-Fe	12,7±0,9	14,7±1,1	14,6±0,8	14,4±0,8	14,0±0,8	13,3±1,1	13,8±1,3	13,0±0,8	13,0±0,8	12,5±0,9	12,4±0,7
Fe НЧ	12,6±1,3	13,0±1,0	13,4±1,0	14,2±2,0	15,0±0,8	16,1±1,2	15,5±1,0	14,2±0,6	14,2±0,9	14,7±0,7	14,1±0,8
ЖФБ-Cu	13,3±0,7	13,4±0,9	13,1±0,8	12,6±0,6	12,7±1,7	12,1±1,4	14,8±1,1	12,3±0,8	13,2±1,2	13,4±0,9	13,1±0,8
Cu НЧ	14,3±0,8	14,3±2,1	14,6±2,3	14,7±0,9	14,0±1,0	13,4±1,2	13,7±1,1	14,1±0,7	13,2±1,0	13,1±0,9	13,1±0,7

Тогда как в варианте Fe НЧ средняя длина одного проростка составляет 12,6–16,1 см, что на 1,5–5 см больше по сравнению с контрольным значением. С одной стороны, вероятно, что практически одинаковые значения средней длины одного проростка в вариантах ЖФБ, ЖФБ-Fe и ЖФБ-Cu связаны с тем, что при добавлении наночастиц в ЖФБ снижаются его микробиологические и биохимические показатели (см. табл. 1), что в конечном итоге замедляет рост растений, несмотря на высокие показатели всхожести. Данный вопрос требует дальнейших исследований по влиянию наночастиц железа и меди на качество получаемых биопрепаратов и на подбор концентраций таким образом, чтобы сохранить полезную микрофлору ЖФБ, улучшив при этом его ростостимулирующие свойства. С другой стороны, наночастицы могли быть заблокированы для семян органическими веществами оригинального биопрепарата (ЖФБ) и быть недоступными для растений на начальном этапе органогенеза. В связи с этим также требуются дополнительные исследования, включающие более длительный период проращивания семян, т.к. наночастицы в этом случае могут повлиять на рост растений на более поздних этапах вегетации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Добавление в ЖФБ биогенных наночастиц железа или меди позволило получить два биопрепарата ЖФБ-Fe и ЖФБ-Cu. Несмотря на то, что в обоих ва-

риантах при добавлении наночастиц снизилось содержание полезной микрофлоры и ферментативная активность, эффективность данных биопрепаратов была такой же, как и оригинального ЖФБ. Наибольший эффект от добавления наночастиц был отмечен при учете энергии прорастания и всхожести семян. При использовании ЖФБ-Fe и ЖФБ-Cu максимальная энергия прорастания составила 91 и 90% соответственно, что на 16 и 15% больше, чем в контроле, и на 6–7% больше, чем при поливе ЖФБ. Всхожесть семян в варианте ЖФБ-Fe составила 86–91%, что на 3–12% выше контроля и на 2–5% больше, чем при использовании чистого ЖФБ, а в случае использования ЖФБ-Cu всхожесть семян варьировалась от 86 до 93%, что на 3–11% и на 2–5% больше по сравнению с контролем и ЖФБ соответственно. При этом максимальная средняя длина одного проростка в данных вариантах составила 14,5–14,8 см. Однако на среднюю длину одного проростка существенно повлиял полив семян раствором, содержащим только наночастицы железа, т.к. в данном варианте было отмечено максимальное значение данного параметра 16,1±1,2 см. Таким образом, добавление наночастиц железа или меди в биопрепарат ЖФБ является весьма успешным направлением работы, однако требует дополнительных исследований по оптимизации концентрации данных металлов в ЖФБ с целью сохранения его ростостимулирующих свойств.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Bhagat M., Anand R., Sharma P., Rajput P., Sharma N., Singh K. Review – multifunctional copper nanoparticles: synthesis and applications // ECS Journal of Solid State Science and Technology. 2021. Vol. 10, no. 6. P. 063011–06321. <http://doi.org/10.1149/2162-8777/ac07f8>.
2. Siddiqi K.S., Husen A. Current status of plant metabolite-based fabrication of copper/copper oxide nanoparticles and their applications: a review // Biomaterials Research. 2020. Vol. 24. P. 11–25. <http://doi.org/10.1186/s40824-020-00188-1>.
3. Iqbal A., Iqbal K., Li B., Gong D., Qin W. Recent advances in iron nanoparticles: preparation, properties, biological and environmental application // Journal of Nanoscience and Nanotechnology. 2017. Vol. 17. P. 4386–4409. <http://doi.org/10.1166/jnn.2017.14196>.
4. Wee J.L., Law M.C., Chan Y.S., Choy S.Y., Tiong A.N.T. The potential of Fe-based magnetic nanomaterials for the agriculture sector // Chemistry Select. 2022. Vol. 7, no. 17. P. e202104603–e202104633. <http://doi.org/10.1002/slct.202104603>.
5. Satdev, Mandal N. A review on effect of copper and iron nanoparticle on agricultural crop // International Journal of Inclusive Development. 2020. Vol. 6, no. 1. P. 31–36. <http://doi.org/10.30954/2454-4132.1.2020.6>.
6. Laporte D., Rodríguez F., González A., Zuniga A., Casto-Nallar E., Saez C.A., et al. Copper-induced concomitant increases in photosynthesis, respiration, and C, N and S assimilation revealed by transcriptomic analyses in *Ulva compressa* (Chlorophyta) // BMC Plant Biology. 2020. Vol. 20. P. 25–41. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-2229-5>.

7. Иванищев В.В. Роль железа в биохимии растений // Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. 2019. N 3. С. 149–159.
8. Nguyen D.V., Nguyen H.M., Le N.T., Nguyen K.N., Le H.M., Nguyen A.T., et al. Copper nanoparticle application enhances plant growth and grain yield in maize under drought stress conditions // Journal of Plant Growth Regulation. 2022. Vol. 41. P. 364–375. <http://doi.org/10.1007/s00344-021-10301-w>.
9. Lopez-Vargas E.R., Ortega-Ortiz H., Cadenas-Pliego G., Romenus K.A., de la Fuente M.C., Benavides-Mendoza A., et al. Foliar application of copper nanoparticles increases the fruit quality and the content of bioactive compounds in tomatoes // Applied Sciences. 2018. Vol. 8, no. 7. P. 1020–1035. <http://doi.org/10.3390/app8071020>.
10. Thiruvengadam S., Ganesan M., Varadharajaperumal P. Impact on foliar application of copper nanoparticles for the growth in *Zea mays* // Bioscience Biotechnology Research Communications. 2021. Vol. 14, no. 3. P. 1248–1255. <http://dx.doi.org/10.21786/bbrc/14.3.50>.
11. Shende S., Rathod D., Gade A., Rai M. Biogenic copper nanoparticles promote the growth of pigeon pea (*Cajanus cajan* L.) // IET Nanobiotechnology. 2017. Vol. 11, no. 7. P. 773–781. <http://doi.org/10.1049/iet-nbt.2016.0179>.
12. Sheykhabaglou R., Sedghi M., Fathi-Achachlouie B. The effect of ferrous nano-oxide particles on physiological traits and nutritional compounds of soybean (*Glycine max* L.) seed // Anais da Academia Brasileira de Ciências (Annals of the Brazilian Academy of Sciences). 2018. Vol. 90, no. 1. P. 485–494. <http://doi.org/10.1590/0001-3765201820160251>.
13. Yoon H., Kang Y.-G., Chang Y.-S., Kim J.-H. Effects of zerovalent iron nanoparticles on photosynthesis and biochemical adaptation of soil-grown *Arabidopsis thaliana* // Nanomaterials. 2019. Vol. 9, no. 11. P. 1543–1545. <http://doi.org/10.3390/nano9111543>.
14. Haydar M.S., Ghosh S., Manda I.P. Application of iron oxide nanoparticles as micronutrient fertilizer in mulberry propagation // Journal of Plant Growth Regulation. 2022. Vol. 41. P. 1726–1746. <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10413-3>.
15. Rui M., Ma C., Hao Y., Guo J., Rui Yu., Tang X., et al. Iron oxide nanoparticles as a potential iron fertilizer for peanut (*Arachis hypogaea*) // Frontiers in Plant Science. 2016. Vol. 7. P. 1–10. <http://doi.org/10.3389/fpls.2016.00815>.
16. Муродова С.С., Давранов К.Д. Комплексные микробные препараты. Применение в сельскохозяйственной практике // Biotechnologia Acta. 2014. Т. 7. N 6. С. 92–101.
17. Петрова С.Н., Парахин Н.В. Микробные препараты как способ формирования эффективных растительно-микробных систем // Зернобобовые и крупяные культуры. 2013. N 2. С. 86–91.
18. Пат. N 2428405, Российская Федерация, СО5F 11/02. Способ получения жидкофазного биосредства для растениеводства и земледелия / Г.Ю. Рабинович, Н.В. Фомичева, Ю.Д. Смирнова; заявитель и патентообладатель Государственное научно-исследовательское учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственного использования мелиорированных земель. Заявл. 10.02.2010; опубл. 10.09.2011. Бюл. N 25.
19. Любимова Н.А., Рабинович Г.Ю. Влияние магнийсодержащего биосредства на всхожесть и биометрические параметры проростков льна-долгунца // Достижения науки и техники АПК. 2022. Т. 36. N 9. С. 37–42. http://doi.org/10.53859/02352451_2022_36_9_37.
20. Kuang Y., Wang Q., Chen Z., Megharaj M., Naidu R. Heterogeneous Fenton-like oxidation of monochlorobenzene using green synthesis of iron nanoparticles // Journal of Colloid and Interface Science. 2013. Vol. 410. P. 67–73. <http://doi.org/10.1016/j.jcis.2013.08.020>.
21. Anu Y., Vijay M.D. Camellia sinensis mediated synthesis of iron nanoparticles and its encapsulation for decolorization of dyes // BioChemistry: An Indian Journal. 2016. Vol. 10, no. 1. P. 20–29.
22. Asghar M.A., Zahir E., Shahid S.M., Khan M.N., Asghar M.A., Iqbal J., et al. Iron, copper and silver nanoparticles: green synthesis using green and black tea leaves extracts and evaluation of antibacterial, antifungal and aflatoxin B1 adsorption activity // LWT – Food Science and Technology. 2018. Vol. 90. P. 98–107. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.009>.
23. Преч Э., Бюльман Ф., Аффольтер К. Определение строения органических соединений. Таблицы спектральных данных: монография / пер. с англ. М.: Мир, 2006. 439 с.
24. Сильверстейн Р., Вебстер Ф., Кимл Д. Спектрометрическая идентификация органических соединений: монография / пер. с англ. М.: Лаборатория знаний, 2011. 557 с.

REFERENCES

1. Bhagat M., Anand R., Sharma P., Rajput P., Sharma N., Singh K. Review – multifunctional copper nanoparticles: synthesis and applications. *ECS Journal of Solid State Science and Technology*. 2021;10(6):063011-06321. <http://doi.org/10.1149/2162-8777/ac07f8>.
2. Siddiqi K.S., Husen A. Current status of plant metabolite-based fabrication of copper/copper oxide nanoparticles and their applications: a review. *Biomaterials Research*. 2020;24:11-25. <http://doi.org/10.1186/s40824-020-00188-1>.
3. Iqbal A., Iqbal K., Li B., Gong D., Qin W. Recent advances in iron nanoparticles: preparation, properties, biological and environmental application. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2017;17:4386-4409. <http://doi.org/10.1166/jnn.2017.14196>.
4. Wee J.L., Law M.C., Chan Y.S., Choy S.Y., Tiong A.N.T. The potential of Fe-based magnetic nanomaterials for the agriculture sector. *Chemistry Select*. 2022;7(17):e202104603-e202104633. <http://doi.org/10.1002/slct.202104603>.
5. Satdev, Mandal N. A review on effect of copper and iron nanoparticle on agricultural crop. *International Journal of Inclusive Development*. 2020;6(1):31-36. <http://doi.org/10.30954/2454-4132.1.2020.6>.
6. Laporte D., Rodríguez F., González A., Zuniga A., Casto-Nallar E., Saez C.A., et al. Copper-induced concomitant increases in photosynthesis, respiration, and

C, N and S assimilation revealed by transcriptomic analyses in *Ulva compressa* (Chlorophyta). *BMC Plant Biology*. 2020;20:25-41. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-2229-5>.

7. Ivanishchev V.V. Role of iron in plant biochemistry. *Izvestiya Tul'skogo gosudarstvennogo universiteta. Estestvennye nauki = Izvestiya Tula State University*. 2019;(3):149-159. (In Russian).

8. Nguyen D.V., Nguyen H.M., Le N.T., Nguyen K.N., Le H.M., Nguyen A.T., et al. Copper nanoparticle application enhances plant growth and grain yield in maize under drought stress conditions. *Journal of Plant Growth Regulation*. 2022;41:364-375. <http://doi.org/10.1007/s00344-021-10301-w>.

9. Lopez-Vargas E.R., Ortega-Ortiz H., Cadenas-Piiego G., Romenus K.A., de la Fuente M.C., Benavides-Mendoza A., et al. Foliar application of copper nanoparticles increases the fruit quality and the content of bioactive compounds in tomatoes. *Applied Sciences*. 2018;8(7):1020-1035. <http://doi.org/10.3390/app8071020>.

10. Thiruvengadam S., Ganesan M., Varadharajaperumal P. Impact on foliar application of copper nanoparticles for the growth in *Zea mays*. *Bioscience Biotechnology Research Communications*. 2021;14(3):1248-1255. <http://dx.doi.org/10.21786/bbrc/14.3.50>.

11. Shende S., Rathod D., Gade A., Rai M. Biogenic copper nanoparticles promote the growth of pigeon pea (*Cajanus cajan* L.). *IET Nanobiotechnology*. 2017;11(7):773-781. <http://doi.org/10.1049/iet-nbt.2016.0179>.

12. Sheykhabaglou R., Sedghi M., Fathi-Achachlouie B. The effect of ferrous nano-oxide particles on physiological traits and nutritional compounds of soybean (*Glycine max* L.) seed. *Anais da Academia Brasileira de Ciências (Annals of the Brazilian Academy of Sciences)*. 2018;90(1):485-494. <http://doi.org/10.1590/0001-3765201820160251>.

13. Yoon H., Kang Y.-G., Chang Y.-S., Kim J.-H. Effects of zerovalent iron nanoparticles on photosynthesis and biochemical adaptation of soil-grown *Arabidopsis thaliana*. *Nanomaterials*. 2019;9(11):1543-1545. <http://doi.org/10.3390/nano9111543>.

14. Haydar M.S., Ghosh S., Manda I.P. Application of iron oxide nanoparticles as micronutrient fertilizer in mulberry propagation. *Journal of Plant Growth Regulation*. 2022;41:1726-1746. <https://doi.org/10.1007/s00344-021-10413-3>.

15. Rui M., Ma C., Hao Y., Guo J., Rui Yu., Tanget X., et al. Iron oxide nanoparticles as a potential iron fertilizer for peanut (*Arachis hypogaea*). *Frontiers in*

Plant Science. 2016;7:1-10. <http://doi.org/10.3389/fpls.2016.00815>.

16. Murodova S.S., Davranov K.D. Complex microbial preparations. The application in agricultural practice. *Biotechnologia Acta*. 2014;7(6):92-101.

17. Petrova S.N., Parakhin N.V. Microbial biofertilizers – the way of formation of effective plant-microbial systems. *Zernobobovye i krupyanye kul'tury = Legumes and Groat Crops*. 2013;2:86-91. (In Russian).

18. Rabinovich G.J., Fomicheva N.V., Tikhomirova D.V. Method of producing liquid-phase biological agent for crop growing and agriculture. Patent RF, no. 2428405; 2011. (In Russian).

19. Lyubimova N.A., Rabinovich G.Yu. Influence of a magnesium-containing biological product on the germination and biometric parameters of fibre flax seedlings. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK = Achievements of Science and Technology in Agro-Industrial Complex*. 2022;36(9):37-42. (In Russian). http://doi.org/10.53859/02352451_2022_36_9_37.

20. Kuang Y., Wang Q., Chen Z., Megharaj M., Naidu R. Heterogeneous Fenton-like oxidation of monochlorobenzene using green synthesis of iron nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2013;410:67-73. <http://doi.org/10.1016/j.jcis.2013.08.020>.

21. Anu Y., Vijay M.D. Camellia sinensis mediated synthesis of iron nanoparticles and its encapsulation for decolorization of dyes. *BioChemistry: An Indian Journal*. 2016;10(1):20-29.

22. Asghar M.A., Zahir E., Shahid S.M., Khan M.N., Asghar M.A., Iqbal J., et al. Iron, copper and silver nanoparticles: green synthesis using green and black tea leaves extracts and evaluation of antibacterial, antifungal and aflatoxin B1 adsorption activity. *LWT – Food Science and Technology*. 2018;90:98-107. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.009>.

23. Pretsch E., Bühlmann P., Affolter Ch. Structure determination of organic compounds. Tables of spectral data; 2000. 421 p. (Russ. ed.: Prech E., Byul'man F., Affol'ter K. *Opredelenie stroeniya organicheskikh soedinenii. Tablitsy spektral'nykh dannykh: monografiya*. Moscow: Mir; 2006. 439 p.).

24. Silverstein R., Webster F., Kiml D. Spectrometric identification of organic compounds; 1996. 482 p. (Russ. ed.: Sil'verstein R., Vebster F., Kiml D. *Spektrometricheskaya identifikatsiya organicheskikh soedinenii: monografiya*. Moscow: Laboratoriya znanii; 2011. 557 p.).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Любимова Надежда Андреевна,
к.х.н., научный сотрудник,
Всероссийский НИИ мелиорированных
земель – филиал ФИЦ «Почвенный институт
им. В.В. Докучаева»,
170530, Тверская обл., п. Эммаусс, 27,
Российская Федерация,
✉n.nemygina@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-5831-5000>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Nadezhda A. Lyubimova,
Cand. Sci. (Chemistry), Researcher,
All-Russian Research Institute of Reclaimed Lands –
branch of FRC V.V. Dokuchaev Soil Science Institute,
27, Emmauss Village, Tver Region, 170530,
Russian Federation,
✉n.nemygina@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-5831-5000>

Рабинович Галина Юрьевна,
д.б.н., профессор,
заведующая отделом биотехнологий,
Всероссийский НИИ мелиорированных
земель – филиал ФИЦ «Почвенный институт
им. В.В. Докучаева»,
170530, Тверская обл., п. Эммаусс, 27,
Российская Федерация,
2016vniimz-noo@list.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5060-6241>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили окончательный
вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 30.01.2023.
Одобрена после рецензирования 23.03.2023.
Принята к публикации 30.05.2023.

Galina Yu. Rabinovich,
Dr. Sci. (Biology), Professor, Director,
All-Russian Research Institute of Reclaimed Lands –
branch of FRC V.V. Dokuchaev Soil Science Institute,
27, Emmauss Village, Tver Region, 170530,
Russian Federation,
e-mail: 2016vniimz-noo@list.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5060-6241>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests regarding
the publication of this article.

*The final manuscript has been read and approved by all
the co-authors.*

Information about the article

The article was submitted 30.01.2023.
Approved after reviewing 23.03.2023.
Accepted for publication 30.05.2023.