

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений

МИХАЙЛОВ
Денис Сергеевич

АНАЛИЗ ВОЗДЕЙСТВИЯ СЕРЕБРЯНЫХ НАНОЧАСТИЦ
НА ПОРАЖЕНИЕ ЗЛАКОВЫХ РАСТЕНИЙ ГРИБНЫМИ
ФИТОПАТОГЕНАМИ

Аннотация дипломной работы

Научный руководитель:
доцент, к.б.н.
И. И. Смолич

Допущен к защите

«___» _____ 2021 г.

Зав. кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений
доцент, к.б.н., И.И. Смолич

Минск, 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	4
РЕФЕРАТ	5
ВВЕДЕНИЕ	8
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	10
1.1 Синтез наночастиц.....	10
1.1.1 Получение НЧ с помощью химических реагентов	10
1.1.2 «Зеленый» синтез.....	12
1.1.2 Механизм восстановления НЧ растительным экстрактом	13
1.2 Способы идентификации наночастиц.....	14
1.3 Биологическая активность наночастиц	15
1.3.1 Окислительный стресс как общий ответ растений на действие наночастиц	15
1.3.2 Механизмы взаимодействия и продукции АФК наночастицами.....	17
1.3.3 Фунгицидное действие AgНЧ	17
1.3.4 Механизм фунгицидных и бактерицидных свойств AgНЧ.....	22
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	27
2.1 Объект исследования и список реагентов	27
2.1.1 «Зеленые» AgНЧ и AgНЧ на основе реакции ПВП + L-аскорбат.....	27
2.1.2 Фитопатогены <i>Fusarium culmorum</i> , <i>Phaeosphaeria nodorum</i> и <i>Pyrenophora tritici-repentis</i>	27
2.1.3 Пшеница мягкая яровая сорта «Дарья»	28
2.2 Получение наночастиц серебра.....	29
2.2.1 Получение AgНЧ ПВП + аскорбат	29
2.2.2 Получение AgНЧ на основе экстракта хвои ели европейской.....	30
2.3 Кружковый тест	30
2.4 Бензимидазольный тест	31
2.5 Характеризация полученных AgНЧ	33
2.5.1 Характеризация наночастиц методом спектрометрии в ультрафиолетовой и видимой областях спектра	33
2.5.2 Характеризация наночастиц методом сканирующей электронной микроскопии	33
2.6 Статистический анализ полученных данных	33
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	35
3.1 Оценка наличия наночастиц серебра, полученных в результате зеленого синтеза, при помощи спектрометрии в ультрафиолетовой и видимой областях спектра.....	35

3.2 Характеризация AgНЧ методом сканирующей электронной микроскопии	38
3.3 Фунгицидная активность AgНЧ, полученных с помощью «зеленого» синтеза и на основе реакции ПВП + L-аскорбат.	42
3.3.1 Тестирование фунгицидной активности AgНЧ, полученных с помощью «зеленого» синтеза и на основе реакции ПВП, при помощи кружкового теста.....	42
3.3.2 Тестирование фунгицидной активности AgНЧ, полученных с помощью «зеленого» синтеза и на основе реакции ПВП, при помощи бензимидазольного теста.....	43
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	47
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	48

РЕФЕРАТ

Дипломная работа: 52 страницы, 8 рисунков, 2 таблицы, 55 источников.

НАНОЧАСТИЦЫ, НАНОСЕРЕБРО, «ЗЕЛЕНЬ» СИНТЕЗ, БЕНЗИМИДАЗОЛЬНЫЙ ТЕСТ, КРУЖКОВЫЙ ТЕСТ, ФУНГИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ, фитопатогены

Целью работы является анализ воздействия серебряных наночастиц на грибные фитопатогены растений с использованием кружкового и бензимидазольного тестов.

Объектом данного исследования являлась фунгицидная активность наночастиц серебра, полученных с помощью «зеленого» синтеза и на основе реакции ПВП + L- аскорбат. Фунгицидные свойства наносеребра тестировались по отношению к грибным фитопатогенам растений – *Fusarium culmorum*, *Phaeosphaeria nodorum* и *Pyrenophora tritici-repentis*.

В ходе выполнения дипломной работы с использованием методов «зеленого» и химического синтеза получены серебряные наночастицы. Наносеребро охарактеризовали при помощи спектрометрии в ультрафиолетовой и видимой областях спектра, и сканирующей электронной микроскопии. Также провели оценку их фунгицидной активности методами кружкового и бензимидазольного тестов по отношению к фитопатогенам – *Fusarium culmorum*, *Phaeosphaeria nodorum* и *Pyrenophora tritici-repentis*.

Экстракт хвои ели европейской пригоден для одностадийного процесса синтеза наносеребра. Использование экстрактов растений для синтеза НЧ является экологичным и безопасным способом, более простым в исполнении, чем методы химического синтеза. Концентрации исходных веществ и растительных экстрактов влияют на итоговый выход наночастиц серебра, а также на их качественные и количественные характеристики. Серебряные наночастицы полученные химическим восстановлением имели преимущественно цилиндрическую и сферическую форму, а по размерам разделились на 2 фракции: больше 10 нм и меньше 10 нм. В ходе тестирования AgНЧ методами кружкового и бензимидазольного тестов была установлена фунгицидная активность наносеребра в отношении *Fusarium culmorum*, *Phaeosphaeria nodorum* и *Pyrenophora tritici-repentis*. Во всех трех вариантах бензимидазольного теста наибольшие фунгицидные свойства показали «зеленые» AgНЧ. AgНЧ ПВП + L-аскорбат также проявляли фунгицидные свойства, но выраженность этих свойств была меньше, чем у «зеленых» AgНЧ. Фунгицидные свойства AgНЧ являются продуктом синергии самих AgНЧ и ионов серебра, которые образуются из AgНЧ при попадании в живую клетку.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа: 52 старонак, 8 малюнкаў, 2 табліцы, 55 крыніц.

НАНАЧАСЦІЦЫ, НАНАСРЭБРА, «ЗЯЛЁНЫ» СІНТЭЗ, БЕНЗІМІДАЗОЛЬНЫ ТЭСТ, КРУЖКОВЫ ТЭСТ, ФУНГІЦЫДНАЯ АКТЫЎНАСЦЬ, ФІТАПАТАГЕНЫ

Мэтай работы з'яўляецца аналіз уздзеяння срэбраных наначасціц на грыбныя фітапатагены раслін з выкарыстаннем кружковага і бензімідазольнага тэстаў.

Аб'ектам даследавання з'яўлялася фунгіцідная актыўнасць наначасціц срэбра, атрыманых з дапамогай «зялёнага» сінтэзу і на аснове рэакцыі ПВП + L-аскарбат. Фунгіцыдныя ўласцівасці нанасрэбра тэставаліся ў адносінах да грыбным фітапатагенаў раслін – *Fusarium culmorum*, *Phaeosphaeria nodorum* і *Pyrenophora tritici-repentis*.

У ходзе выканання дыпломнай работы з выкарыстаннем метадаў «зялёнага» і хімічнага сінтэзу былі атрыманыя срэбраныя наначасціцы. Нанасрэбра ахарактарызавалі пры дапамозе спектраметрыі ў ультрафіялетавай і бачнай абласцях спектру, і сканавальнай электроннай мікраскапіі. Таксама правялі ацэнку іх фунгіцыднай актыўнасці метадамі кружковага і бензімідзольнага тэстаў па адносінах да фітапатагенаў – *Fusarium culmorum*, *Phaeosphaeria nodorum* і *Pyrenophora tritici-repentis*.

Экстракт ігліцы елкі еўрапейскай прыдатны для аднастадыйнага працэсу сінтэзу нанасрэбра. Выкарыстанне экстрактаў раслін для сінтэзу НЧ з'яўляецца экалагічным і бяспечным спосабам, больш простым у выкананні, чым метады хімічнага сінтэзу. Канцэнтрацыі зыходных рэчываў і раслінных экстрактаў ўплываюць на выніковы выхад наначасціц срэбра, а таксама на іх якасныя і колькасныя характарыстыкі. Срэбраныя наначасціцы, якія былі атрыманы хімічным аднаўленнем, мелі пераважна цыліндрычную і сферычную форму, а па памерах падзяліліся на 2 фракцыі: больш за 10 нм і менш 10 нм. У ходзе тэсціравання AgНЧ метадамі кружковага і бензімідазольнага тэстаў была ўсталяваная фунгіцыдныя актыўнасць нанасрэбра ў дачыненні да *Fusarium culmorum*, *Phaeosphaeria nodorum* і *Pyrenophora tritici-repentis*. Ва ўсіх трох варыянтах бензімідазольнага тэсту найбольшыя фунгіцыдныя ўласцівасці паказалі «зялёныя» AgНЧ. AgНЧ ПВП + L-аскарбат таксама выяўлялі фунгіцыдныя ўласцівасці, але выяўленасць гэтых уласцівасцяў была меншай, чым у «зялёных» AgНЧ. Фунгіцыдныя ўласцівасці AgНЧ з'яўляюцца прадуктам сінэргіі саміх AgНЧ і іёнаў срэбра, якія ўтвараюцца з AgНЧ пры трапленні ў жывую клетку.

ABSTRACT

Thesis: 52 pages, 8 figures, 2 tables, 55 sources.

NANOPARTICLES, NANOSILVER, "GREEN" SYNTHESIS, BENZIMIDAZOLE TEST, CIRCULAR TEST, FUNGICIDAL ACTIVITY, PHYTOPATOGENS

The aim of this work is to analyze the effect of silver nanoparticles on fungal plant pathogens using circle and benzimidazole tests.

The object of this study was the fungicidal activity of silver nanoparticles obtained using the "green" synthesis and based on the reaction PVP + L-ascorbate. The fungicidal properties of nanosilver were tested against fungal plant pathogens – *Fusarium culmorum*, *Phaeosphaeria nodorum*, and *Pyrenophora tritici-repentis*.

Silver nanoparticles were obtained in the course of the diploma work using the methods of "green" and chemical synthesis. Nanosilver was characterized using ultraviolet and visible spectrometry and scanning electron microscopy. Also, their fungicidal activity was assessed by the methods of circular and benzimidazole tests in relation to fungal phytopathogens – *Fusarium culmorum*, *Phaeosphaeria nodorum*, and *Pyrenophora tritici-repentis*.

The spruce needle extract is suitable for a one-step process for the synthesis of nanosilver. The use of plant extracts for the synthesis of NPs is an environmentally friendly and safe method, which is easier to implement than methods of chemical synthesis. The concentrations of the starting substances and plant extracts affect the final yield of silver nanoparticles, as well as their qualitative and quantitative characteristics. Silver nanoparticles obtained by chemical reduction had a predominantly cylindrical and spherical shape, and were divided in size into 2 fractions: more than 10 nm and less than 10 nm. In the course of testing AgNPs by the circular and benzimidazole tests, the fungicidal activity of nanosilver against *Fusarium culmorum*, *Phaeosphaeria nodorum*, and *Pyrenophora tritici-repentis* was established. In all three variants of the benzimidazole test, "green" AgNPs showed the highest fungicidal properties. AgNP PVP + L-ascorbate also exhibited fungicidal properties, but the severity of these properties was less than that of "green" AgNPs. The fungicidal properties of AgNPs are a product of synergy between AgNPs themselves and silver ions, which are formed from AgNPs when they enter a living cell.