

Оригинальная статья

DOI: <https://doi.org/10.34220/issn.2222-7962/2025.2/9>

УДК 630*631.53; 620.3



Использование нанопрепаратов оксида меди в качестве стерилизующих агентов на этапе введения древесных растений в культуру *in vitro*

Ольга А. Федорова¹✉, fed-olga78@mail.ru  <https://orcid.org/0000-0001-7581-6141>

Надежда А. Евтушенко¹, nadya.evtushenko.94@mail.ru  <https://orcid.org/0000-0003-0099-6779>

Петр М. Евлаков¹, peter.evlakov@yandex.ru  <https://orcid.org/0000-0003-0138-2410>

Ольга В. Захарова², olgazakharova1@mail.ru  <https://orcid.org/0000-0001-8590-2529>

Александр А. Гусев², nanosecurity@mail.ru  <https://orcid.org/0000-0002-8699-9112>

¹ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г. Ф. Морозова», ул. Тимирязева, 8, г. Воронеж, 394087, Российская Федерация

²НОЦ «Экологии и биотехнологий» ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный университет имени Г.Р. Державина», Защитный переулок, 7, г. Тамбов, 392020, Российская Федерация

Аннотация

Одной из основных трудностей, препятствующих повсеместному внедрению технологии клонального микроразмножения для получения качественного посадочного материала древесных растений, является сложность получения асептически чистой культуры с высокой регенерационной способностью. В статье обсуждаются эффекты воздействия растворов наночастиц CuO (75-100 нм), стабилизированных поверхностно активными веществами (Твин 20, Тритон X100 и Полигексаметиленбигуанид), на этапе введения в культуру *in vitro* гибрида Т. белый × осина и березы пушистой 15-1. Предполагается, что внесение наночастиц в состав питательной среды Мурасиге-Скуга позволит снизить микробную нагрузку эксплантов, а также усилит рост и морфогенез растений. Использование растворов наночастиц не отменяет использование традиционных методов стерилизации эксплантов, а служит дополнительной мерой. В ходе проведения исследований определена оптимальная концентрация наночастиц – 5 мг/л, использование которой в составе среды культивирования позволяет повысить выход стерильных жизнеспособных эксплантов тополя на 16,7-26,7%, березы 30,0-36,7%. Установлено, что наибольшим антагонистическим действием в отношении поверхностной (эпифитной) микрофлоры обладают наночастицы, стабилизированные Полигексаметиленбигуанидом – выход микропобегов тополя и березы, пригодных для проведения дальнейших этапов микроразмножения составляет 66,7%. Использование данной комбинации наночастиц позволяет получить минимальное количество нежизнеспособных культур. Повышение показателя асептически жизнеспособных эксплантов с применением растворов наночастиц оксида меди положительно сказывается на эффективности клонального микроразмножения за счет ускорения процесса микроклонирования, сокращения времени получения готового посадочного материала, улучшения качества продукта.

Ключевые слова: клональное микроразмножение, гибрид Т. белый × осина, береза пушистая 15-1, наночастицы, оксид меди, стабилизаторы, Твин 20, Тритон X100, полигексаметиленбигуанид (ПГМБ), экспланты.

Финансирование: Исследование проводилось в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 1023013000020-6-4.1.2 «Отбор хозяйственно ценных и устойчивых к изменению климата древесных культур, отличающихся высокой биологической продуктивностью и потенциалом секвестрации углерода с учетом региональных почвенно-климатическим особенностям для реализации лесоклиматических проектов (FZUR-2023-0002)».

Благодарности: авторы благодарят рецензентов за вклад в экспертную оценку статьи.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Использование нанопрепаратов оксида меди в качестве стерилизующих агентов на этапе введения древесных культур в культуру *in vitro*/ О. А. Федорова, Н. А. Евтушенко, П. М. Евлаков, О. В. Захарова, А. А. Гусев // Лесотехнический журнал. – 2025. – Т. 15. – № 2 (58). – С. 142-157. – Библиогр.: с. 152-156 (29 назв.). – DOI: <https://doi.org/10.34220/issn.2222-7962/2025.2/9>.

Поступила 19.02.2025. *Пересмотрена* 24.04.2025. *Принята* 05.06.2025. *Опубликована онлайн* 26.06.2025.

Article

Use of copper oxide nanopreparations as sterilizing agents at the stage of introducing woody plants into *in vitro* culture

Olga A. Fedorova¹ ✉, fed-olga78@mail.ru  <https://orcid.org/0000-0001-7581-6141>

Nadejda A. Evtushenko¹, nadya.evtushenko.94@mail.ru  <https://orcid.org/0000-0003-0099-6779>

Peter M. Evlakov¹, peter.evlakov@yandex.ru  <https://orcid.org/0000-0003-0138-2410>

Olga V. Zakharova², olgazakharova1@mail.ru  <https://orcid.org/0000-0001-8590-2529>

Alexander A. Gusev², nanosecurity@mail.ru  <https://orcid.org/0000-0002-8699-9112>

¹ *Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov, Timiryazeva str., 8, Voronezh, 394087, Russian Federation*

² *Scientific and Educational Center for Environmental Science and Biotechnology, Derzhavin Tambov State University, 7, Zashitny str., Tambov, 392020, Russian Federation*

Abstract

One of the main difficulties preventing the widespread introduction of clonal micropropagation technology to obtain high-quality planting material for woody plants is the difficulty of obtaining an aseptically pure culture with high regenerative capacity. The article discusses the effects of copper oxide nanoparticle solutions (75-100 nm) stabilized by nonionic surfactants (Tween 20, Triton X100 and Polyhexamethylenebiguanide) on the stage of introducing the Poplar × aspen hybrid and downy birch 15-1 into *in vitro* culture. It is assumed that the introduction of nanoparticles into the Murasige-Skoog nutrient medium will reduce the microbial load of explants, as well as enhance plant growth and morphogenesis. The use of nanoparticle solutions does not replace traditional methods of explant sterilization, but serves as an additional measure. In the course of the research, the optimal concentration of nanoparticles was determined – 5 mg/l, the use of which in the composition of the cultivation medium allows to increase the yield of sterile viable poplar explants by 16.7-26.7%, birch 30.0-36.7%. It was established that the greatest antagonistic effect on the surface (epiphytic) microflora is possessed by nanoparticles stabilized by Polyhexamethylenebiguanide – the yield of poplar and birch microshoots suitable for further stages of micropropagation is 66.7%. The use of this combination of nanoparticles allows to obtain a minimum number of non-viable cultures. Increasing the rate of aseptically viable explants using copper oxide nanoparticle solutions has a positive effect on the efficiency of clonal micropropagation by accelerating the microcloning process, reducing the time required to obtain finished planting material, and improving the quality of the product.

Keywords: clonal micropropagation, poplar × aspen hybrid, downy birch 15-1, nanoparticles, copper oxide, stabilizers, Tween 20, Triton X100, Polyhexamethylenebiguanide (PHMB), explants.

Funding: The study was conducted within the framework of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation No. 1023013000020-6-4.1.2 «Selection of economically valuable and

climate-resistant tree crops with high biological productivity and carbon sequestration potential, taking into account regional soil and climatic features for the implementation of forest climate projects (FZUR-2023-0002)».

Acknowledgments: authors thank the reviewers for their contribution to reviewing the article.

Conflict of interest: authors declare no conflict of interest.

For citation: Fedorova O. A., Evtushenko N. A., Evlakov P. M., Zakharova O. V., Gusev A. A. (2025). Use of copper oxide nanopreparations as sterilizing agents at the stage of introducing woody crops into *in vitro* culture. Forestry Engineering journal, Vol. 15, No. 2 (58), pp. 142-157 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.34220/issn.2222-7962/2025.2/9>.

Received 19.02.2025. *Revised* 24.04.2025. *Accepted* 05.06.2025. *Published online* 26.06.2025.

Введение

Клональное микроразмножение древесных культур в настоящее время остаётся важным инструментом для массового выращивания генетически стабильного посадочного материала, свободного от вредителей и болезней [1-3]. В некоторых случаях это единственный способ сохранить и повысить экономическую ценность определённых генетически ценных культур. Несмотря на то, что методика клонирования с помощью органов, клеток, тканей и клеточных культур нашла широкое применение, для многих видов растений она крайне затруднена. Одной из очевидных причин являются сложности получения хорошо растущей культуры, свободной от контаминирующих агентов - микроорганизмов. Поскольку питательная среда для *in vitro* выращивания растений содержит нутриенты, пригодные для роста и развития микроорганизмов, проблема стерильности сред и растительных эксплантов в биотехнологических лабораториях стоит достаточно остро [4]. Поверхностные ткани органов растений инфицированы бактериями, грибами и их спорами. В связи с этим первым шагом для получения изолированных клеток, тканей и органов растений является стерилизация растительного материала. Перед стерилизацией объекта его тщательно моют теплой водой с мылом, промывают дистиллированной водой. Для стерилизации используют широкий спектр разных стерилизующих веществ: хлорамин, коммерческий препарат «Белизна», перекись водорода, ртутные препараты (сулема), перманганат калия [5]. Правильный выбор стерилизующего вещества заключается в том, чтоб нейтрализовать микроорганизмы, которые обитают на поверхности надземных частей

растений (эпифитная микрофлора) и не повредить ткани растения. Кроме того, вещество не должно глубоко проникать в ткань и легко вымываться. Стерилизующие растворы необходимо применять в строго определенной концентрации, чтобы не вызвать некроза тканей у молодых побегов растений [6]. Применение стерилизующих агентов бывает порой недостаточной и действенной мерой по преодолению эндогенной инфекции. Многие специалисты широко используют антибиотики несмотря на то, что они не только губительно действуют на микроорганизмы, но и могут угнетать дифференциацию тканей растения [7]. Добавление в питательные среды антибиотиков зачастую приводит к резкому ухудшению приживаемости эксплантов, снижению показателей роста и развития размножаемых растений [8]. Кроме того, антибиотические вещества, активные в подавлении роста бактериальных культур, не действуют на грибную микрофлору. Поражение же грибковой инфекцией при введении в культуру *in vitro* встречается чаще, чем бактериальной. Это можно объяснить тем, что грибы менее требовательны к среде поскольку группы ферментов, которые они выделяют способствуют усвоению питательных веществ практически из любого субстрата, бактерии в этом отношении более требовательны и предпочитают расти на средах с большим содержанием органических веществ. Имеются работы [9] по использованию медицинских противогрибковых препаратов (нистатин, гризеофульвин и др.) в составе питательных сред, однако их эффективность была недостаточной.

В этой связи поиски средств, которые бы оказывали прямое антагонистическое воздействие на

процессы роста и развития микроорганизмов, составляющих основную эпифитную микрофлору вводимых культур являются актуальными.

В последнее десятилетие нанотехнологии и наноматериалы стали неотъемлемой частью современного агротехнологического процесса. Наночастицы (НЧ) металлов широко используются в сельском хозяйстве в виде микроудобрений, детекторов патогенов, фунгицидов [10, 11, 12] и пр. Металлы в форме НЧ обеспечивают более высокую проникающую способность по сравнению с более крупными частицами, обладают уникальными функциональными возможностями, электрическими и оптическими свойствами, высокой стабильностью и высокой адсорбционной способностью, что делает их перспективной формой для обеспечения растений микроэлементами [13]. Кроме того, некоторые НЧ, такие как НЧ серебра и меди обладают хорошими дезинфицирующими свойствами для эксплантов и питательных сред [14, 15].

Медь относится к группе тяжелых металлов и при этом является жизненно важным элементом, поскольку является неотъемлемой частью биохимических и физиологических процессов, протекающих в тканях растений, включая фотосинтез, дыхание, водный обмен, метаболизм белков и углеводов, а также влияет на устойчивость к грибным и бактериальным заболеваниям. Считается, что примерно 5-30 мг/кг меди является достаточным количеством в тканях растений для их правильного роста и развития [16, 17].

Из-за значительного фунгицидного потенциала наночастиц и наноматериалов исследования их возможного использования в устойчивом сельском хозяйстве в качестве альтернатив химическим фунгицидам быстро продвигаются вперед. Имеется ряд работ, показывающих, что НЧ CuO и Cu₂O могут применяться не только на стадии стерилизации эксплантов, но и в качестве фунгицидов для защиты от патогенов на разных стадиях роста и развития растений [18, 19, 20]. Так, было показано, что НЧ Cu₂O в концентрациях 10-100 мкг/л ингибировали рост мицелия *Fusarium solani* в лабораторных условиях, а также снижали заболеваемость корневой гнилью огурцов в тепличных и полевых условиях. Они

также улучшали рост и производственные характеристики огурцов, повышая активность защитных ферментов. Анатомические исследования выявили лизис мицелия, уменьшение спор и гибель *Fusarium solani*, а также увеличение толщины клеточной стенки тканей корня и мезофильной ткани растений огурцов [21]. Смеси НЧ Cu/Cu₂O в концентрациях 0,1-0,5 г/л показали высокую фунгицидную активность по отношению к *Fusarium oxysporum in vitro*, вызывая ингибирование радиального роста колонии. Наибольшая эффективность показана в смеси с высоким процентом Cu₂O [22]. Кроме того, применение НЧ Cu₂O/Cu в концентрации 0,1 г/л эффективно ингибирует рост колоний таких фитопатогенных грибов, как *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* и *Colletotrichum gloeosporioides*. Результаты показали ингибирование до 96% для *Fusarium oxysporum*, 74% для *Fusarium solani* и 89% для *Colletotrichum gloeosporioides*. В качестве механизма действия авторы предполагают выработку внутриклеточных активных форм кислорода, приводящих к низкой жизнеспособности спор [23].

Нао Y. И др. [24] в своей работе исследовали влияние сферических НЧ CuO размером 20-30 нм на возбудителя серой гнили многих растений – штамм *Botrytis cinerea* в экспериментах *in vitro*. Результаты показывают уменьшение диаметра мицелия гриба при добавлении НЧ CuO в концентрациях 50-200 мг/л. Причем наиболее эффективной оказалась концентрация 50 мг/л, обработка которой привела к уменьшению диаметра мицелия на 18%.

При разработке препаратов на основе металлических НЧ важным вопросом остается выбор стабилизатора, введение которого в процессе синтеза обеспечивает сохранение структур в наноразмерном диапазоне, а, следовательно, и их основных характеристик, в том числе антимикробных свойств.

Целью настоящего исследования является установление возможности использования НЧ CuO, стабилизированных поверхностно-активными веществами (ПАВ) (Твин 20, Тритон X100 и Полигексаметиленбигуанид (ПГМБ)), в составе питательной среды. Предполагается, что модификация питательной среды будет способствовать снижению уровня контаминирования эксплантов и повышению их морфогенного потенциала.

Материалы и методы

НЧ и суспензии НЧ. Для получения нанопрепаратов использовались НЧ CuO, произведенные компании Sigma-Aldrich, США. Размер частиц, согласно данным производителя, составляет 75 – 100 нм. Анализ морфологии и элементного состава наночастиц проводили на сканирующем электронном микроскопе (СЭМ) высокого разрешения Merlin (Carl Zeiss, Германия) с энергодисперсионным анализатором «10mm² SDD Detector - X-Act» на базе НОЦ «Экологии и биотехнологий» ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный университет имени Г. Р. Державина».

Диспергирование и агрегация НЧ в водных растворах являются важными факторами для их безопасного и эффективного применения в различных приложениях. Говоря про биологическое использование, обязательным требованием является гидрофильность и стабильность НЧ в биологических средах. Для получения стабильных нанопрепаратов были использованы различные стабилизаторы: неионогенные ПАВ - Твин 20 (VWR International Ltd, США) и Тритон X100 (Sigma-Aldrich, США), а также катионный ПАВ - ПГМБ (20% раствор, Arch Chemicals, Inc., США), который обычно используют в качестве биоцидного дезинфектанта. Данные виды ПАВ широко применяются в пищевой, фармацевтической промышленности и биохимических исследованиях благодаря своим эмульгирующим и мицеллообразующим свойствам и характеризуются низкой токсичностью и быстрой биodeградацией в окружающей среде. Они практически не диссоциируют в воде на ионы, что снижает их раздражающее действие.

В ходе работы готовили концентрированные препараты НЧ, содержащие 0,1; 1 и 5 мг CuO в 10 мл 0,005 % раствора стабилизатора (Рис. 1), а также растворы без стабилизатора, которые впоследствии вносили в состав питательной среды Мурасиге-Скуга (МС) [25], заменяя 10 мл воды в прописи на 10 мл препарата.

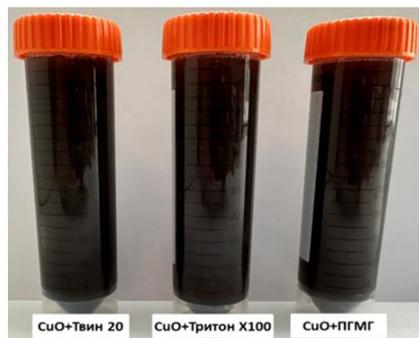


Рисунок 1. Образцы нанопрепаратов
Figure 1. Samples of nanosuspensions

Таким образом, конечные концентрации НЧ в питательной среде составляли 0,1, 1 и 5 мг/л. Анализ стабильности полученных препаратов проводили путем измерения дзета-потенциала на приборе ZetasizerNanoZS (Malvern, Великобритания).

Клональное микроразмножение. Исследования выполняли в лаборатории анализа ПЦР НИИ ИТЛК «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г. Ф. Морозова». Сбор материала для введения в культуру *in vitro* проводили из природных популяций изучаемых объектов в Воронежской области. В качестве эксплантов использовали неодревесневшие сегменты гибрида Т. белый × осина и березы пушистой 15-1 текущего года, 1,5–2,0 см длиной с 2–3 междоузлиями, срезанные с верхней части ветвей. Экспланты отбирали с середины июня до середины августа. Побеги промывали проточной водой с ПАВ и разрезали на сегменты 3-5 см, после чего и стерилизовали в течение 35 минут в растворе, состоящем из 200 мл дистиллированной воды и 200 мкл 5%-го раствора гипохлорита натрия (средства «Белизна», Россия) с последующей однократной промывкой в дистиллированной воде. Основную стерилизацию побегов проводили в ламинар-боксе в растворе, включающем 15 мл 5%-го раствора гипохлорита натрия и 85 мл стерильной дистиллированной воды в течение 15 мин. Промывку проводили также стерильной водой. Стерильные побеги разрезали в асептических условиях на сегменты величиной 1,5-2,0 см с одной пазушной почкой – экспланты, которые впоследствии были высажены на агаризованную питательную среду с добавлением препаратов НЧ CuO. Каждый эксплант

помещали в отдельную пробирку. В качестве контрольных использовали классический вариант питательной среды МС без дополнительных нутриентов, а также питательную среду с НЧ CuO без стабилизаторов. Для анализа возможного влияния ПАВ на микропобеги гибрида Т. белый × осина и березы пушистой 15-1 отдельно тестировали растворы Твин 20, Тритон X100 и ПГМБ, заменяя 10 мл воды в питательной среде на 10 мл 0,005 % раствора стабилизатора.

Пробирки с эксплантами помещали на стеллажи, где поддерживали следующие условия климатического режима: 16-ти часовой фотопериод при освещенности 2-3 клк, температура 24-26°C. На протяжении 3 недель фиксировали число инфицированных эксплантов, стерильных эксплантов, сформировавших основной побег (асептических жизнеспособных) и стерильных нежизнеспособных (асептически нежизнеспособных). Исследования проводили в 3-х кратной повторности, в каждом варианте опыта брали по 30 эксплантов (10 эксплантов × 3 повтора). Статистическую обработку полученных экспериментальных данных осуществляли с помощью определения средней арифметической (М) и ошибки репрезентативности (m) с использованием программного обеспечения Microsoft Excel 2010. Результаты считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Характеризация НЧ и их растворов. Электронно-микроскопическое исследование показало, что порошок CuO состоит из агрегатов палочковидных структур размером 12×70 нм. Как видно из рисунка 2, в состав образца входит только медь и кислород, т.е. отсутствуют какие-либо примеси.

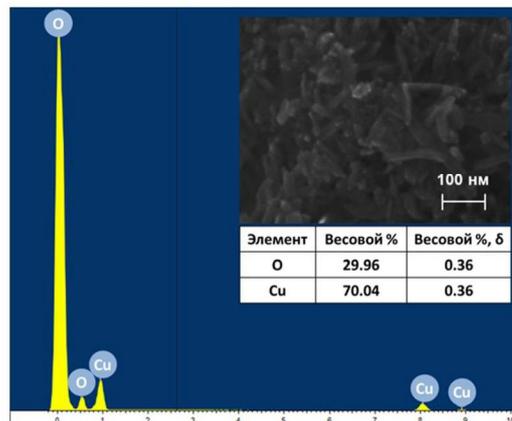


Рисунок 2. СЭМ изображение и элементный состав образца CuO

Figure 2. SEM image and elemental composition of the CuO sample

Источник: собственные экспериментальные данные

Source: Own experimental data

Анализ стабильности дисперсных систем НЧ показал, что все полученные дисперсии наночастиц обладали достаточно высокой стабильностью (Рис 3).

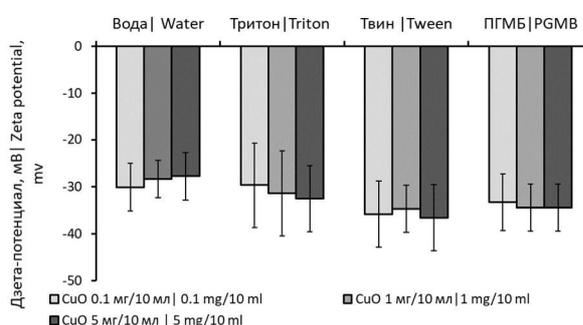


Рисунок 3. Дзета-потенциал препаратов CuO

Figure 3. Zeta potential of CuO preparation

Источник: собственные экспериментальные данные

Source: Own experimental data

Как видно из рисунка 3, показатель дзета-потенциала для всех дисперсий с ПАВ составил более 30 мВ, что свидетельствует о стабильности полученных растворов. Значение дзета-потенциала равное 30 мВ (по модулю) принято рассматривать как характерное значение, для условного разделения низко-заряженных поверхностей и высоко-заряженных поверхностей [26, 27]. Максимальные показатели отмечены в вариантах с Твин 20 (средние значения около -35 мВ) и ПГМБ (средние значения

около -33 мВ). В водных коллоидных системах значения дзета-потенциала немного снижались с повышением концентрации НЧ – с -30 до -28 мВ.

Клональное микроразмножение растений. Стадия введения в культуру *in vitro* – первый этап клонального микроразмножения, начинающийся с отбора растительного материала и завершающийся получением стерильной культуры в состоянии активного роста. Небольшой размер экспланта, применяемого для клонального микроразмножения, его поверхностная стерилизация, асептический перенос на питательную среду и субкультивирование в условиях, исключающих инфицирование, приводят к оздоровлению полученных растений от нематод, грибных и бактериальных патогенов. На данном этапе необходимо получить стерильную культуру с высокой регенерационной способностью. Успех проведения данного этапа определяется правильностью подбора стерилизующего агента и среды для проведения процесса регенерации, а также сроков введения. Исследованиями предыдущих лет было установлено оптимальное время введения в культуру тканей древесных пород растений – июнь-июль, когда активность ростовых процессов максимальна [28]. Одной из трудностей работы со взрослыми растениями лесных древесных растений является сильная обсемененность тканей и органов культуральных эксплантов. Результаты показали, что исходный материал древесных растений имел низкий процент зараженности бактериальной инфекцией, больше грибной. В этой связи описанный в литературных источниках [8] прием подавления посторонней микрофлоры с использованием антибиотиков, вносимых в состав питательной среды, оказался малоэффективным при получении стерильных эксплантов.

В таблице 1 представлены результаты этапа введения в культуру *in vitro* гибрида Т. белый ×

осина. Снижение числа инфицированных эксплантов при использовании дисперсий НЧ CuO позволило установить их антимикробное действие. Наибольшим действием в подавлении микрофлоры обладали НЧ без стабилизаторов (варианты 2, 3, 4). Вероятно, это связано с созданием защитного органического покрытия стабилизатора, которое экранирует неорганическое ядро НЧ CuO от контакта с водной средой и микроорганизмами, что снижает их антагонистическую активность. Данный факт описан в ряде литературных источниках [11, 29]. Средние значения по показателю инфицированности эксплантов без стабилизатора составляли 32,2%; при использовании НЧ, стабилизированных Тритон X100, Твин 20 и ПГМБ – 40,0%. Однако, главной проблемой при использовании препаратов НЧ является их хранение: НЧ благодаря большой поверхности способны к быстрой агломерации наноструктур и утрате наноразмерных характеристик, что диктует необходимость использования их сочетания со стабилизаторами.

Как показали результаты исследований, применение стабилизаторов хотя и повышало число инфицированных эксплантов (26,7-53,3), однако все равно этот показатель был ниже контрольного варианта без НЧ (вариант 1) (60,0%). Установлено снижение показателя инфицированности эксплантов при возрастании концентрации наночастиц в среде МС от 0,1-5 мг/л. Минимальный выход инфицированных культур наблюдался в варианте без стабилизаторов – 13,3 % (вариант 4) при 5 мг/л CuO. В случае использования НЧ CuO с Тритон X100 (вариант 7) и ПГМБ (вариант 15) число инфицированных эксплантов при максимальной концентрации CuO составляло 26,7%. Использование Твин 20 в качестве стабилизатора позволяло снизить инфицированность до 33,3 (вариант 11).

Влияние НЧ CuO на процесс введения гибрида Т. белый х осина в культуру *in vitro*

Table 1

The influence of NPs CuO on the process of introducing the poplar × aspen hybrid into culture *in vitro*

Стабилизатор Stabilizer	Номер варианта Variant number	Концентрация НЧ, мг/л Concentration NP, mg/l	Число культур, % Number of culture, %		
			Инфицированные Infected	Асептических нежизнеспособные Aseptically unviable	Асептических жизнеспособные Aseptically viable
Контроль Control	1	0	60,0±5,8	0	40,0±5,8
Без стабилизатора Without stabilizer	2	0,1	46,7±8,8	3,3±3,3	50,0±5,8
	3	1	36,7±3,3	6,7±3,3	56,7±6,7
	4	5	13,3±3,3	10,0	76,7±3,3
Тритон X 100 Triton X100	5	0,1	53,3±6,7	0	46,7±6,7
	6	1	40,0±5,8	6,6±3,3	53,3±5,8
	7	5	26,7±6,7	16,7±6,7	56,7±3,3
Твин 20 Tween 20	8	0	56,7±3,3	0	43,3±3,3
	9	0,1	46,7±3,3	3,3±3,3	50,0±5,8
	10	1	40,0±5,8	6,7±3,3	53,3±3,3
ПГМБ PGMB	11	5	33,3±6,7	6,7±3,3	60,0±5,8
	12	0	53,3±3,3	0	46,7±3,3
	13	0,1	50,0±5,8	3,3±3,3	46,7±3,3
ПГМБ PGMB	14	1	43,3±3,3	3,3±3,3	53,3±3,3
	15	5	26,7±6,7	6,7±3,3	66,7±3,3
	16	0	56,7±8,8	0	43,3±8,8

Источник: собственные экспериментальные данные

Source: Own experimental data

При исследовании действия на клетки стабилизированных растворов НЧ необходимо ставить контрольный опыт на собственную токсичность водного раствора этих стабилизаторов, поскольку стабилизаторы сами могут обладать антимикробной активностью. Результаты проведенных нами исследований показали, что стабилизаторы не оказывали достоверного противомикробного влияния в анализируемых концентрациях (вариант 8, 12, 16). Число инфицированных культур при добавлении стабилизаторов в состав питательных сред составляло 53,3-56,7%, в контроле данный показатель составлял 60,0%.

При введении в культуру *in vitro* необходимо учитывать и токсическое действие НЧ, которое проявляется не только в угнетении роста и развития представителей эпифитной микрофлоры, но и в снижении жизнеспособности растений, о чем имеется большое количество экспериментальных статей [12, 16, 26]. В ходе проведения исследований установлено повышение показателя нежизнеспособных культур при возрастании концентрации НЧ в среде. Сравнивая средние значения исследуемого параметра для различных вариантов применения НЧ отмечено снижение их токсического действия при использовании НЧ CuO в комбинации со стабилизаторами. Так, средний показатель нежизнеспособных эксплантов на среде с НЧ без стабилизатора составлял 6,7%. (в контроле 0). НЧ CuO, стабилизированные Твин 20 и ПГМБ, обладали меньшим токсическим действием – средний показатель нежизнеспособных культур составлял 5,6 и 4,4%, соответственно. Использование Тритон X100 в качестве стабилизатора не оказало подобного эффекта.

Интегральным показателем проведения стадии введения является число асептических жизнеспособных эксплантов. Этот параметр показывает какое количество из стерильных эксплантов сформировали основной побег. Применение НЧ CuO (5 мг/л) без стабилизаторов (вариант 4) повышало анализируемый показатель на 36,7% по сравнению с контролем (вариант 1). Модификация среды МС путем внесения стабилизированных НЧ CuO (варианты 7, 11, 15), позволило повысить на 16,7 – 26,6% число асептических жизнеспособных эксплантов. В

вариантах со стабилизаторами наибольшее количество стерильных жизнеспособных эксплантов – 66,7%, пригодных для дальнейшего прохождения стадий микроразмножения, получено на среде МС, дополненной НЧ CuO с ПГМБ (вариант 15).

При исследовании процесса введения в культуру *in vitro* березы пушистой 15-1 отмечен более высокий уровень инфицированности эксплантов в контрольном варианте 1 (70,0%) по сравнению с аналогичным показателем у тополя (60,0%) (Таблица 1, 2). Данный факт может быть связан с анатомическими особенностями растений. У березы пушистой (*Betula pubescens*) поверхность побегов имеет опушение, которое создает механические препятствия для равномерного нанесения стерилизующих растворов. Кроме того, опушение служит резервуаром для микроорганизмов – ворсинки удерживают споры грибов и бактерии, увеличивая риск повторного заражения после обработки. У гибридных форм тополя (например, Т. белый х осина) поверхность побегов более гладкая, что облегчает контакт стерилизующих агентов с поверхностью эксплантов и снижает вероятность сохранения патогенов в микроскладках и порах [5, 6]. На модифицированных средах с НЧ CuO также как и в случае с эксплантами гибрида тополя отмечено уменьшение числа инфицированных культур при возрастании концентрации НЧ. Так, в контрольном варианте их количество составляло 70,0% (вариант 1), внесение растворов НЧ без стабилизаторов снижало данный показатель до 23,3-43,3% (варианты 2, 3, 4), в зависимости от концентрации НЧ. Использование стабилизированных НЧ позволяло снизить показатель инфицированности до 30,0 – 56,7%. Среднее значение данного параметра у нестабилизированных НЧ CuO составляло 35,5 %, у НЧ, стабилизированных Тритон X100, Твин 20 и ПГМБ, – 38,8, 43,3 и 40,0 %, соответственно. О проявлении токсического действия НЧ, введенных в среду для культивирования березы пушистой 15-1, можно судить по числу асептических нежизнеспособных эксплантов. Для НЧ, стабилизированных ПГМБ установлено наименьшее значение асептических нежизнеспособных культур – 3,3% при максимальной концентрации НЧ 5 мг/л (вариант 15). Наиболее угнетающим действием на экспланты березы оказывали НЧ без стабилизаторов (вариант

Естественные науки и лес

5) и НЧ, стабилизированные Тритоном X100 – число асептических нежизнеспособных культур составляет 10,0% (вариант 7). Максимальные значения числа асептических жизнеспособных эксплантов березы - 66,7%, получено с использованием НЧ в концентрации 5 мг/л без стабилизаторов, а также с НЧ,

стабилизированными ПГМБ (в контроле 30,0%). Для НЧ, стабилизированных Твин 20 и Тритон X100 при той же концентрации НЧ число эксплантов, пригодных для прохождения дальнейших стадий микроразмножения, составляет 60%

. Таблица 2

Влияние НЧ CuO на процесс введения в культуру *in vitro* березы пушистой 15-1

Table 2

The influence of NPs CuO on the process of introduction into *in vitro* culture of downy birch 15-1

Стабилизатор Stabilizer	Номер варианта Variant number	Концентрация НЧ, мг/л Concentration NP, mg/l	Число культур, %		
			Инфицированные Infected	Асептических нежизнеспособные Aseptically unviable	Асептических жизнеспособные Aseptically viable
Контроль Control	1	0	70,0±5,8	0	30,0±5,8
Без стабилизатора Without stabilizer	2	0,1	43,3±6,7	6,7±3,3	53,3±3,3
	3	1	40,0±5,8	6,7±3,3	60,0±5,8
	4	5	23,3±6,7	10,0	66,7±6,7
Тритон X100 Triton X100	5	0,1	53,3±3,3	0	46,7±3,3
	6	1	33,3±3,3	10,0	56,7±3,3
	7	5	30,0±5,8	10,0±5,8	60,0
	8	0	63,3±3,3	0	36,7±3,3
Твин 20 Tween 20	9	0,1	56,7±8,8	3,3±3,3	40,0±10,0
	10	1	40,0±5,8	6,7±3,3	53,3±8,8
	11	5	33,3±6,7	6,7±3,3	60,0±5,8
	12	0	63,3±3,3	0	33,3±3,3
ПГМБ PGMB	13	0,1	46,7±6,7	0	53,3±6,7
	14	1	43,3±6,7	0	56,7±6,7
	15	5	30,0±5,8	3,3±3,3	66,7±6,7
	16	0	70,0±5,8	0	30,0±5,8

Источник: собственные экспериментальные данные

Source: Own experimental data

Заключение

1. Растворы НЧ оксида меди, стабилизированные ПАВ (Твин 20, Тритон X100 и ПГМБ), можно рассматривать в качестве перспективных антимикробных агентов для снижения уровня инфицированности эксплантов древесных растений на этапе введения в культуру *in vitro*.

2. В ходе работы были опробованы концентрированные препараты НЧ, содержащие 0,1; 1 и 5 мг CuO в 10 мл 0,005 % раствора стабилизатора.

Анализ стабильности дисперсных систем НЧ показал, что все полученные дисперсии наночастиц обладали достаточно высокой стабильностью – показатель дзета-потенциала для всех дисперсий с ПАВ составил более 30 мВ.

3. При сравнении средних показателей инфицированности эксплантов тополя Т. белый × осина и березы 15-1 на средах с НЧ установлено, что наибольшим антисептическим действием обладают НЧ без стабилизаторов. Вероятно, это связано со

стерическими препятствиями, которые создаются стабилизаторами вокруг каждой НЧ, что снижает их антагонистическую активность в отношении представителей эпифитной микрофлоры. Средние значения по показателю инфицированности эксплантов тополя без стабилизатора составляли 32,2%; при использовании НЧ, стабилизированных, Тритон X100, Твин 20 и ПГМБ – 40,0% (в контроле 60,0%). Для березы исследуемый показатель составлял в контрольном варианте 70,0%, в варианте опыта с нестабилизированными НЧ – 35,5%, при использовании стабилизаторов Тритон X100, Твин 20, ПГМБ – 38,9; 43,3; 40,0%, соответственно. Более высокие показатели инфицированности эксплантов березы по сравнению с эксплантами гибрида тополя в контрольном варианте связаны, по-видимому, с анатомическими особенностями растений – опушенные побеги березы затрудняют проведение процесса стерилизации.

4. Определена оптимальная концентрация НЧ – 5 мг/л, использование которой позволяет повысить выход стерильных жизнеспособных эксплантов тополя на 16,7-26,7%, березы 30-36,7%. Наибольшим

антагонистическим действием в отношении поверхностной (эпифитной) микрофлоры среди стабилизированных НЧ обладают НЧ CuO с ПГМБ – выход асептических жизнеспособных эксплантов тополя и березы составляет 66,7%.

5. Наиболее угнетающим действием на экспланты оказывали НЧ CuO без стабилизаторов и НЧ, стабилизированные Тритон X100. Число асептических нежизнеспособных культур при максимальной концентрации НЧ 5 мг/л составляет 10,0 и 16,7 % у тополя, 10,0 и 10,0% у березы, соответственно. Менее токсичное действие оказывают НЧ, стабилизированные ПГМБ – среднее число асептических нежизнеспособных эксплантов тополя и березы составляет 1,1 и 4,4% соответственно. Различные значения показателя у эксплантов тополя и березы, вероятно, связаны с особенностями их анатомического строения и иммунного ответа системы растений.

Таким образом, в ходе проведения исследований была доказана целесообразность использования на стадии введения в культуру тканей в составе питательных сред нанопрепаратов CuO, стабилизированными ПАВ (Тритон X100, Твин 20, ПГМБ).

Список литературы

1. Самарская В.О., Малаева Е.В., Постнова М.В. Аспекты клонального микроразмножения и сохранения растений *in vitro*. Природные системы и ресурсы. – 2019. – №9(3). – С. 13-22. – DOI: <https://doi.org/10.15688/nsr.jvolsu.2019.3.2>.
2. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе. – Москва: МГУ, 1999. –160 с.
3. Jones O.P., Welander M., Waller B.J., Ridout M.S. Micropropagation of adult birch trees: production and field performance. *Tree Physiol.* 1996; 16(5): 521-525. – DOI:10.1093/treephys/16.5.521.
4. Зонтиков Д.Н., Марамохин Э.В. Проблемы стерильности сред и растительных эксплантов культуры *in vitro* лаборатории клонального микроразмножения растений. Молодой ученый. – 2014. – №8. – С. 317-320. – URL: <https://m.eruditor.one/file/1485858/>
5. Ветчинникова Л.В. Клональное микроразмножение редких представителей рода *Betula* L. – Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2022. –51 с. URI: <http://elibrary.krc.karelia.ru/id/eprint/818>.
6. Шабанова Е.А., Машкина О.С. Клональное микроразмножение хозяйственно-ценных форм тополя. Лесохозяйственная информация. – 2015. – №4. – С. 74-81. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=24957211&ysclid=m6t0ztj0a7226659632>.
7. Бунцевич Л.Л., Палецкая Е.Н., Костюк М.А., Медведева Н.И. Исследование эффективности антибиотиков и стерилизаторов нового поколения для подавления бактериальной и грибной контаминации среды и эксплантов. Плодоводство и виноградарство юга России. – 2012. – №16. – С. 44-53. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=17843925&ysclid=m6t155n3qw755448990>.

8. Митрофанова И.В. Соматический эмбриогенез и органогенез как основа биотехнологии получения и сохранения многолетних садовых культур. – Киев: Аграрная наука, 2011. – 344с. – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=28943713&ysclid=m6t1q3n48z463306112>.

9. Патент №255387 Российская Федерация, МПК А01Н 4/00. (2006.01). Способ клонального микроразмножения и оздоровления подвоев яблони *in vitro* с использованием антибиотика Гризеофульвин: № 2014124424/10: заявл. 16. 06. 2014: опубл. 20. 07. 2015 / Бунцевич Л.Л., Беседина Е.Н., Костюк М.А., Макаркина М.В.; заявитель ФГБНУ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства, ООО «Здоровый сад», ООО «Демерта». – 4с.

10. Abboud M.A novel biological approach to copper nanoparticles synthesis: characterization and its application against phytopathogenic fungi. Research square. 2020; 15. – DOI: 10.21203/rs.3.rs-125001/v1.

11. Pařil P., Baar J., řermák P., Rademacher P., Pucek R., Sivera M., Panáček A. Antifungal effects of copper and silver nanoparticles against white and brown-rot fungi. J. Mater. Sci. 2017; 52: 2720–2729. DOI: 10.1007/s10853-016-0565-5.

12. Al-Khayri J.M., Alnaddaf L.M., Jain S.M. Nanomaterial interactions with plant cellular mechanisms and macromolecules and agricultural implications. Springer Nature Switzerland AG, 2023; 507.

13. Hayat S., Pichtel J., Faizan M., Fariduddin Q. Sustainable Agriculture Reviews 41: Nanotechnology for Plant Growth and Development. Springer Nature Switzerland AG. 2020; 216. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-33996-8>.

14. Tung H.T., Bao H.G., Buu N.Q., Chau N.H., Nhut D.T. The use of silver nanoparticles as a disinfectant and media additive in plant micropropagation. Plant Tissue Culture: New Techniques and Application in Horticultural Species of Tropical Region. Springer: Singapore. 2022; 287-302. – DOI: 10.1007/978-981-16-6498-4_14.

15. Aleksandrowicz-Trzcinska M, Szaniawski A, Studnicki M, Bederska-Blaszczyk M, Olchowik J, Urban A. The effect of silver and copper nanoparticles on the growth and mycorrhizal colonisation of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in a container nursery experiment. iForest. 2018; 11: 690-697. DOI: 10.3832/ifer2855-01.

16. Chibber S, Ansari SA, Satar R. New vision to CuO, ZnO, and TiO2 nanoparticles: their outcome and effects. J. Nanopart. Res. 2013; 15: 1–13. – DOI: <https://doi.org/10.1007/s11051-013-1492-x>.

17. Gaba, S., Varma, A. & Goel, A. Protective and curative activity of biogenic copper oxide nanoparticles against *Alternaria* blight disease in oilseed crops: a review. J Plant Dis Prot 129. 2022; 215–229. DOI: <https://doi.org/10.1007/s41348-021-00555-7>.

18. Anderson A.J., McLean J.E., Jacobson A.R., Britt D.W. CuO and ZnO nanoparticles modify interkingdom cell signaling processes relevant to crop production. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2018; 66 (26): 6513-6524. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b01302.

19. Elmer W., Ma C., White J. Nanoparticles for plant disease management. Current Opinion in Environmental Science & Health. 2018; 6: 66–70. – DOI: 10.1016/j.coesh.2018.08.002.

20. Cuong H.N., Pansambal S., Ghotekar S., Oza R., Hai N.T.T., Viet N.M., Nguyen V.-H. New frontiers in the plant extract mediated biosynthesis of copper oxide (CuO) nanoparticles and their potential applications: A review. Environmental Research. 2022; 203. DOI: 10.1016/j.envres.2021.111858.

21. Kamel S.M., Elgobashy S.F., Omara R.I., Derbalah A.S., Abdelfatah M., El-Shaer A., Al-Askar A.A., Abdelkhalek A., Abd-Elsalam K.A., Essa T., et al. Antifungal Activity of Copper Oxide Nanoparticles against Root Rot Disease in Cucumber. J. Fungi. 2022; 8(9): 911. – DOI:10.3390/jof8090911.

22. Hermida-Montero L.A., Pariona N., Mtz-Enriquez A.I., Carrión G., Paraguay-Delgado F., Rosas-Saito G. Aqueous-phase synthesis of nanoparticles of copper/copper oxides and their antifungal effect against *Fusarium oxysporum*. J Hazard Mater. 2019; 380. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2019.120850.

23. Pariona N., Cereceda S.B., Mondaca F., Carrión G., Mtz-Enriquez A.I. Antifungal activity and degradation of methylene blue by ZnO, Cu, and Cu₂O/Cu nanoparticles, a comparative study // Mater. Lett. 2021; 301: 130182 DOI: 10.1016/j.matlet.2021.130182.

24. Hao Y., Cao X., Ma C., Zhang Z., Zhao N., Ali A., Hou T., Xiang Z., Zhuang J., Wu S., Xing B., Zhao Z., Rui Y. Potential applications and antifungal activities of engineered nanomaterials against gray mold disease agent *Botrytis cinerea* on rose petals. *Front. Plant Sci.* 2017; 8: 1332. DOI: 10.3389/fpls.2017.01332.
25. Murashige T., Skoog F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum.* 1962; 15: 473 – 497. DOI:10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
26. Liu J., Tu, L., Cheng M., Feng, J., Jin Y. Mechanisms for oral absorption enhancement of drugs by nanocrystals. *Journal of Drug Delivery Science and Technology.* 2020; 56: 101607. DOI:10.1016/j.jddst.2020.101607.
27. Krstić M., Medarević, Đ., Đuriš J., Ibrić S. *Lipid Nanocarriers for Drug Targeting / William Andrew Publishing, Norwich NY.* 2018; 12: 473-508.
28. Федорова О.А., Евлаков П.М., Гродецкая Т.А. Клональное микроразмножение гибридов тополя, перспективных для выращивания в воронежской области. *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация.* 2023. – №4. – С. 48-54. – URL: <https://elibrary.ru/item.asp?ysclid=m6t720r6oz578521598&id=55925561>.
29. Шульгина Т.А., Нечаева О.В., Глинская Е.В., Дарьин Н.И., Торгашова А.С., Теслюк Д.А., Бабайлова А.В., Панфилова Е.А. Антимикотическая активность наночастиц серебра в зависимости от используемого стабилизатора. *Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология.* -2017. – Т. 17 (4). – С. 465–468. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-465-468

References

1. Samarskaya V.O., Malaeva E.V., Postnova M.V. *Aspekty klonalnogo mikrorazmnozheniya i soxraneniya rastenij in vitro.* [Aspects of clonal micropropagation and plant conservation in vitro]. *Prirodnye sistemy i resursy = Natural systems and resources.* 2019; 9(3): 13-22. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.15688/nsr.jvolsu.2019.3.2>.
2. Butenko R.G. *Biologiya kletok vysshix rastenij in vitro i biotekhnologiya na ix osnove* [Biology of higher plant cells in vitro and biotechnology based on them]. Moskva: MGU = Moscow: MSU. 1999. 160. (In Russ.).
3. Jones O.P., Welander M., Waller B.J., Ridout M.S. *Micropropagation of adult birch trees: production and field performance.* *Tree Physiol.* 1996; 16(5): 521-525. DOI:10.1093/treephys/16.5.521. URL: <https://doi.org/10.1093/treephys/16.5.521>.
4. Zontikov, D.N., Maramoxin E.V. *Problemy`sterilnosti sred i rastitelnyx eksplantov kultury in vitro laboratorii klonalnogo mikrorazmnozheniya rastenij.* [Problems of sterility of media and plant explants of in vitro culture of the laboratory of clonal micropropagation of plants]. *Molodoj uchenyj = Young scientist.* 2014; 8: 317-320. (In Russ.).–URL: <https://m.eruditor.one/file/1485858/>
5. Vetchinnikova L.V. *Klonalnoe mikrorazmnozhenie redkix predstavitelej roda Betula L.* [Clonal micropropagation of rare representatives of the genus *Betula L.*]. Petrozavodsk: KarNC RAN = Petrozavodsk KarSC of RAS. 2022. 51 c. (In Russ.). – URI: <http://elibrary.krc.karelia.ru/id/eprint/818>.
6. Shabanova E.A., Mashkina O.S. *Klonalnoe mikrorazmnozhenie xozyajstvenno-cennyx form topolya.* [Clonal micropropagation of economically valuable forms of poplar]. *Lesoxozyajstvennaya informaciya = Forestry information.* 2015; (4): 74-81. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=24957211&ysclid=m6t0ztj0a7226659632>.
7. Buncevic L.L., Paleczkaya E.N., Kostyuk M.A., Medvedeva N.I. *Issledovanie effektivnosti antibiotikov i sterilizatorov novogo pokoleniya dlya podavleniya bakterialnoj i gribnoj kontaminacii sredy i eksplantov.* [Study of the effectiveness of new generation antibiotics and sterilizers for suppressing bacterial and fungal contamination of the environment and explants]. *Plodovodstvo i vinogradarstvo yuga Rossii = Fruit growing and viticulture in the south of Russia.* 2012; 16: 44-53. (In Russ.). – URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=17843925&ysclid=m6t155n3qw755448990>.
8. Mitrofanova I.V. *Somaticeskij embriogenez i organogenez kak osnova biotekhnologii polucheniya i soxraneniya mnogoletnix sadovyx kultur.* [Somatic embryogenesis and organogenesis as a basis for biotechnology of obtaining and preserving perennial garden crops]. *Agrarnaya nauka | = Agrarian science.* 2011;344. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=28943713&ysclid=m6t1q3n48z463306112>.
9. Patent №255387 Russian Federation, МПК А01Н 4/00. (2006.01). *Sposob klonalnogo mikrorazmnozheniya i ozdorovleniya podvoev yabloni in vitro s ispol'zovaniem antibiotika grizeofulvin.* [Method of clonal micropropagation

and healthier of apple rootstocks in vitro using the antibiotic griseofulvin]: 2014124424/10: declared 16. 06. 2014: published 20. 07. 2015 / Buncevich L.L., Besedina E.N., Kostyuk M.A., Makarkina M.V.; The applicant FSBSI North Caucasus Zonal Research Institute of Horticulture and Viticulture, LLC “Healthy Garden”, LLC “Demerta”: 4. (In Russ.).

10. Abboud M. *A novel biological approach to copper nanoparticles synthesis: characterization and its application against phytopathogenic fungi*. Research square. 2020; 15. DOI: 10.21203/rs.3.rs-125001/v1.

11. Pařil P., Baar J., Āermák P., Rademacher P., Prucek R., Sivera M., Panáček A. *Antifungal effects of copper and silver nanoparticles against white and brown-rot fungi*. J. Mater. Sci. 2017; 52: 2720–2729. DOI: 10.1007/s10853-016-0565-5.

12. Al-Khayri J.M., Alnaddaf L.M., Jain S.M. *Nanomaterial interactions with plant cellular mechanisms and macromolecules and agricultural implications*. Springer Nature Switzerland AG. 2023; 507.

13. Hayat S., Pichtel J., Faizan M., Fariduddin Q. *Sustainable Agriculture Reviews 41: Nanotechnology for Plant Growth and Development*. Springer Nature Switzerland AG. 2020; 216. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-33996-8>.

14. Tung H.T., Bao H.G., Buu N.Q., Chau N.H., Nhut D.T. *The use of silver nanoparticles as a disinfectant and media additive in plant micropropagation*. Plant Tissue Culture: New Techniques and Application in Horticultural Species of Tropical Region. Springer: Singapore. 2022; 287-302. –DOI: 10.1007/978-981-16-6498-4_14.

15. Aleksandrowicz-Trzcinska M, Szaniawski A, Studnicki M, Bederska-Blaszczyk M, Olchowik J, Urban A. *The effect of silver and copper nanoparticles on the growth and mycorrhizal colonisation of Scots pine (Pinus sylvestris L.) in a container nursery experiment*. iForest. 2018; 11: 690-697. DOI: 10.3832/ifor2855-01.

16. Chibber S, Ansari SA, Satar R. *New vision to CuO, ZnO, and TiO2 nanoparticles: their outcome and effects*. J. Nanopart. Res. 2013; 15: 1–13. – DOI: <https://doi.org/10.1007/s11051-013-1492-x>.

17. Gaba, S., Varma, A. & Goel, A. *Protective and curative activity of biogenic copper oxide nanoparticles against Alternaria blight disease in oilseed crops: a review*. J Plant Dis Prot 129. 2022; 215–229. DOI: <https://doi.org/10.1007/s41348-021-00555-7>.

18. Anderson A.J., McLean J.E., Jacobson A.R., Britt D.W. *CuO and ZnO nanoparticles modify interkingdom cell signaling processes relevant to crop production*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2018; 66 (26): 6513-6524. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b01302.

19. Elmer W., Ma C., White J. *Nanoparticles for plant disease management*. Current Opinion in Environmental Science & Health. 2018; 6: 66–70. – DOI: 10.1016/j.coesh.2018.08.002.

20. Cuong H.N., Pansambal S., Ghotekar S., Oza R., Hai N.T.T., Viet N.M., Nguyen V.-H. *New frontiers in the plant extract mediated biosynthesis of copper oxide (CuO) nanoparticles and their potential applications: A review*. Environmental Research. 2022; 203. DOI: 10.1016/j.envres.2021.111858.

21. Kamel S.M., Elgobashy S.F., Omara R.I., Derbalah A.S., Abdelfatah M., El-Shaer A., Al-Askar A.A., Abdelkhalek A., Abd-Elsalam K.A., Essa T., et al. *Antifungal Activity of Copper Oxide Nanoparticles against Root Rot Disease in Cucumber*. J. Fungi. 2022; 8(9):911. – DOI:10.3390/jof8090911.

22. Hermida-Montero L.A., Pariona N., Mtz-Enriquez A.I., Carrión G., Paraguay-Delgado F., Rosas-Saito G. *Aqueous-phase synthesis of nanoparticles of copper/copper oxides and their antifungal effect against Fusarium oxysporum*. J Hazard Mater. 2019; 380. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2019.120850.

23. Pariona N., Cereceda S.B., Mondaca F., Carrión G., Mtz-Enriquez A.I. *Antifungal activity and degradation of methylene blue by ZnO, Cu, and Cu2O/Cu nanoparticles, a comparative study*. Mater. Lett. 2021; 301: 130182 DOI: 10.1016/j.matlet.2021.130182.

24. Hao Y., Cao X., Ma C., Zhang Z., Zhao N., Ali A., Hou T., Xiang Z., Zhuang J., Wu S., Xing B., Zhao Z., Rui Y. *Potential applications and antifungal activities of engineered nanomaterials against gray mold disease agent Botrytis cinerea on rose petals*. Front. Plant Sci. 2017; 8: 1332. DOI: 10.3389/fpls.2017.01332.

25. Murashige T., Skoog F. *A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures*. Physiologia Plantarum. 1962; 15: 473 – 497. DOI:10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.

26. Liu, J., Tu, L., Cheng, M., Feng, J., Jin, Y. *Mechanisms for oral absorption enhancement of drugs by nano-crystals*. Journal of Drug Delivery Science and Technology. 2020; 56: 101607. DOI:10.1016/j.jddst.2020.101607.

27. Krstić, M., Medarević, Đ., Đuriš, J., Ibrić, S. *Lipid Nanocarriers for Drug Targeting* / William Andrew Publishing, Norwich NY. 2018; 12: 473-508.

28. Fedorova O.A., Evlakov P.M., Grodeczkaya T.A. *Klonalnoe mikrorazmnozhenie gibridov topolya, perspektivnyx dlya vyrashhivaniya v voronezhskoj oblasti*. [Clonal micropropagation of poplar hybrids promising for cultivation in the Voronezh region.]. Vestnik VGU. Seriya: Ximiya. Biologiya. Farmaciya.= VSU Bulletin. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy. 2023; 4: 48-54. (In Russ.). – URL: <https://elibrary.ru/item.asp?ysclid=m6t720r6oz578521598&id=55925561>.

29. Shulgina T.A., Nechaeva O.V., Glinskaya E.V., Daryin N.I., Torgashova A S., Teslyuk D A., Babailova A. V., Panfilova E.A. *Antimikoticheskaya aktivnost nanochasticz serebra v zavisimosti ot ispolzuemogo stabilizatora* [Antifungal activity of silver nanoparticles depending on the stabilizer used]. Izv. Saratov Univ. (N.S.), Seriya: Ximiya. Biologiya. Ekologiya = SU Bulletin. (N. S.) Series: Chemistry. Biology. Ecology. 2017; 17(4): 465–468 (In Russ.). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-4-465-468

Сведения об авторах

✉ Федорова Ольга Анатольевна — кандидат биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории анализа ПЦР, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова», ул. Тимирязева, 8, г. Воронеж, Российская Федерация, 394087, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7581-6141>, e-mail: fed-olga78@mail.ru.

Евтушенко Надежда Александровна — кандидат биол. наук, младший научный сотрудник лаборатории анализа ПЦР, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова», ул. Тимирязева, 8, г. Воронеж, Российская Федерация, 394087, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0099-6779>, e-mail: nadya.evtushenko.94@mail.ru.

Евлаков Петр Михайлович — кандидат биол. наук, заведующий лабораторией анализа ПЦР, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова», ул. Тимирязева, 8, г. Воронеж, Российская Федерация, 394087, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0138-2410>, e-mail: peter.evlakov@yandex.ru.

Захарова Ольга Владимировна — кандидат биол. наук, директор НОЦ «Экологии и биотехнологий» ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный университет имени Г. Р. Державина», Защитный переулок, 7, г. Тамбов, Российская Федерация 392020, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8590-2529>, e-mail: olgazakharova1@mail.ru.

Гусев Александр Анатольевич — доктор биол. наук, проректор по научной работе ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный университет имени Г. Р. Державина», Защитный переулок, 7, г. Тамбов, Российская Федерация 392008, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8699-9112>, e-mail: nanosecurity@mail.ru

Information about the authors

✉ Olga A. Fedorova — PhD, Senior Researcher of the Laboratory of PCR analysis, Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov, 8, Timiryazev str., Voronezh, 394087, Russian Federation, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7581-6141>, e-mail: fed-olga78@mail.ru.

Nadejda A. Evtushenko — PhD, Junior Researcher of the Laboratory of PCR analysis, Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov, 8, Timiryazev str., Voronezh, 394087, Russian Federation, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0099-6779>, e-mail: nadya.evtushenko.94@mail.ru.

Естественные науки и лес

Peter M. Evlakov – PhD, Head of the Laboratory of PCR analysis, Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov, 8, Timiryazev str., Voronezh, 394087, Russian Federation, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0138-2410>, e-mail: peter.evlakov@yandex.ru.

Olga V. Zakharova — PhD, Head of the Scientific and Educational Center for Environmental Science and Biotechnology, Derzhavin Tambov State University, 7, Zashitny str., Tambov, 392020, Russian federation, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8590-2529>, e-mail: olgazakharoval@mail.ru.

Alexander A. Gusev — Dr. Sci. (Biology), Vice Rector for Science, Derzhavin Tambov State University, 7, Zashitny str., Tambov, 392020, Russian Federation, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8699-9112>, e-mail: nanosecurity@mail.ru.

✉ Для контактов | Corresponding author