ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК CeO_2 НА ПРОРОСТАННЯ НАСІННЯ ТА СИНТЕЗ ФЕНОЛІВ У ПРОРОСТКАХ ЯЛИНИ ЄВРОПЕЙСЬКОЇ

А. П. ПИНЧУК, кандидат сільськогосподарських наук, доцент
<https://orcid.org/0000-0003-1256-9838>, e-mail: a_pinchuk@nubip.edu.ua

А. Ф. ЛІХАНОВ, кандидат біологічних наук, доцент
<https://orcid.org/0000-0001-6580-7241>, e-mail: likhanov.bio@gmail.com

І. В. ІВАНЮК, кандидат сільськогосподарських наук, доцент
<https://orcid.org/0000-0002-1493-976X>, e-mail: i_ivanyuk@nubip.edu.ua
Національний університет біоресурсів і природокористування України

М. Я. СПІВАК, доктор біологічних наук, професор
<https://orcid.org/0000-0002-4394-7275>, e-mail: Spyvak@nas.gov.ua
Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України

Сучасні технології дають змогу отримувати наночастинки біогенних металів для їх використання як додаткового джерела мікроелементного живлення рослин. Складність масового застосування нанорозмірних частинок металів та їхніх оксидів зумовлено суттєвою різницею фізико-хімічних властивостей нанокристалічних структур залежно від технології отримання, розмірів наночастинок, поверхневого заряду (ζ-потенціалу), способів стабілізації. Від цього залежить біосумісність і характер дії наночастинок на живі організми.

Щодо ефективності й доцільності використання наночастинок діоксиду церію у практиці рослинництва немає однозначної думки. Зважаючи на актуальність проблеми підготовки садивного матеріалу сіянців хвойних рослин, недостатньою є вивченість впливу нанокристалічного діоксиду церію на рослини. Метою наших досліджень було вивчення впливу нанокристалічного золю діоксиду церію на процеси проростання насіння ялини європейської та оцінка його дії на синтез фенолів як компонентів антиоксидантної системи проростків.

При проведенні досліджень використано методи визначення енергії проростання та схожості насіння, методи визначення вмісту фенольних сполук, флавоноїдів і фенольних антиоксидантів.

Результати досліджень показали, що нанокристалічний діоксид церію у концентрації золю від 0,1 до 1,0 мг/мл стимулює процеси проростання насіння ялини європейської. Під впливом наночастинок за концентрації 0,1 мг/л у тканинах проростків ялини європейської збільшується вміст фенольних сполук. Підвищення антиоксидантної активності фенолів у тканинах проростків на тлі зменшення їхньої загальної кількості за концентрації нанокристалічного діоксиду церію від 0,5 до 1,0 мг/л, відбувається на тлі збільшення у загальному пулі частки флавоноїдів, які вирізняються високою антиоксидантною активністю.

Нанокристалічний діоксид церію є перспективним матеріалом для стимулювання енергії проростання та схожості насіння ялини європейської.

Ключові слова: наночастинки, ялина європейської, насіння, феноли, флавоноїди, антиоксиданти.

Актуальність та аналіз останніх досліджень. Сучасні технології дають змогу отримувати наночастинки біогенних

металів для їх використання як додаткового джерела мікроелементного живлення рослин (Talankova-Sereda, 2016;

Kalenska et al., 2012). Складність масового застосування нанорозмірних частинок металів та їхніх оксидів зумовлено суттєвою різницею фізико-хімічних властивостей нанокристалічних структур залежно від технології отримання, розмірів наночастинок, поверхневого заряду (ζ -потенціалу), способів стабілізації (Ivanov, Usatenko, & Shcherbakov, 2009) та pH розчину (Asati et al., 2009). Від цього залежить біосумісність і характер дії наночастинок на живі організми. Наночастинки кристалічного діоксиду церію (НДЦ) залежно від розміру та співвідношення іонів $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ на поверхні здатні виконувати функції різних ензимів (каталаз, оксидаз) (Shcherbakov et al., 2011). НДЦ за умов $\text{pH} < 6,0$ виконує оксидазні (Perez, Asati, Nath, & Kaittanis, 2008), а за $\text{pH} > 7,0$ – каталазні функції (Shcherbakov et al., 2011). Здатність НДЦ перехоплювати і знешкоджувати активні форми кисню (АФК) також залежить від показника pH (Perez, Asati, Nath, & Kaittanis, 2008).

Біологічна дія церію, як і інших лантаноїдів, також може відхилятися від звичайної монотонної залежності доза – відгук. Виявлено обернену залежність між швидкістю розчинення, біодоступністю – і розміром частинок НДЦ. Розчинення наночастинок НДЦ у різних субстратах – процес доволі повільний (Cornelis et al., 2011; Röhder, Brandt, Sigg, & Behra, 2014). Є повідомлення, що наночастинки НДЦ розміром понад 20 нм взагалі не транспортуються через корені в надземні органи рослин (Schwabe et al., 2013). Окрім того, надходження НДЦ у корені залежить від наявності у ґрунті або живильному середовищі органічних речовин (Trujillo-Reyes et al., 2013; Zhao et al., 2012). Вважають, що НДЦ взаємодіє із сіркою з утворенням сульфату церію, що також впливає на біодоступність цих елементів (Xu, He, & Yu, 2009). Також варто враховувати здатність НДЦ до авторегене-

рації та біотрансформації. Проте нині повідомлення щодо біотрансформації наночерію є достатньо суперечливими.

Щодо ефективності й доцільності використання наночастинок діоксиду церію у практиці рослинництва немає однозначної думки. Біологічна активність церію багато в чому визначається близькістю іонних радіусів Ce^{3+} і Ca^{2+} . Це дає змогу іонам церію частково заміщати іони кальцію у складі біомолекул. Разом з тим, біологічна дія церію може відхилятися від звичайної монотонної залежності доза – відгук. Показано, що CeO_2 значно пригнічує проростання насіння *Lactuca sativa*, *Cucumis sativus*, *Solanum lycopersicum*, *Spinacia oleracea* (Garcia et al., 2011). Також є відомості, що наночастинки pCeO_2 сповільнюють проростання насіння *Raphanus sativus* L., але при цьому не впливають на показники їхньої схожості. У польових умовах у рослин після оброблення pCeO_2 виявляли в коренеплодах, що вказує на їхню рухливість у тканинах рослин (Corral-Diaz et al., 2014). Застосування наночерію (розмір частинок 8 нм) у діапазоні концентрацій 0–400 мг/кг суттєво не вплинуло на біомасу та врожайність рослин пшениці. Транслокацію іонів церію від коренів до плодів показано на томатах (Wang, Ebbs, Chenc, & Ma, 2013). У експерименті з проростками *Cucumis sativus* L. частинки розміром 7 нм після входження у провідну зону кореня переносилися далі в усі вегетативні частини пагонів. Водночас екзогенне застосування наночерію достовірного впливу на проростання насіння в салаті спаржевий не показало. На думку Zhang зі співавторами (Zhang et al., 2011), інтенсивність латерального переносу насамперед залежить від розмірів частинок. Проте питання механізму транспортування наночастинок через тканинні бар'єри коренів залишається відкритим.

Зважаючи на актуальність проблеми підготовки садивного матеріалу сійців

хвойних рослин (Melnychuk et al., 2013), недостатньою є вивченість впливу нанокристалічного діоксиду церію (НДЦ) на рослини.

Метою досліджень було дослідження впливу нанокристалічного золю діоксиду церію на процеси проростання насіння ялини звичайної і оцінка його дії на синтез фенолів як компонентів антиоксидантної системи проростків.

Матеріали і методи дослідження. В експерименті використовували насіння *Picea abies*. Для оброблення насіння використовували 0,1 М золь нанодисперсних частинок діоксиду церію. Від базового золю відбирали 0,1, 0,5, 1,0 і 1,5 мл розчину і розводили в 1 л дистильованої води. Намочування насіння проводили кілька секунд. Контрольну партію насіння замочували в дистильованій воді. Після замочування насіння відразу перенесли на спеціалізований апарат для пророщування насіння. Визначення показників енергії проростання і схожості здійснювали відповідно до державного стандарту України (SSU, 2015).

Сумарну концентрацію фенольних сполук визначали в метанольних екстрактах ($v/v = 1/10$) проростків із використанням реактиву Фолина–Ческольтеу. Калібрувальний графік будували по галовій кислоті (Sibgatullina et al., 2011).

Кількісний вміст флавоноїдів визначали спектрофотометрично за $\lambda = 419$ нм. Для цього до 300 мкл метанольного екстракту послідовно додавали 200 мкл 0,1 М розчину хлориду алюмінію ($AlCl_3$) і 300 мкл 1М ацетату натрію (CH_3COONa). Як стандарт для побудови калібрувального графіка використовували кверцетин (Sigma, Germany).

Визначення фенольних антиоксидантів (АОА) виконували методом, який базується на використанні вільного стабільного радикала 2,2-дифеніл-1-пікрілгідрозіла (ДФПГ). Як стандарт для побудови калібрувального графіка використовували водорозчинний вітамін Е

(Trolox). Для приготування стокового розчину 6 мг вітаміну (MTrolox = 250,29) розчиняли в 2,4 мл 80 % етанолу. Реакційна суміш містила 0,25 мл рослинного екстракту, 1,75 мл 80 % етанолу, 2 мл 0,2 мМ розчину ДФПГ. У контрольні пробірки замість фенольного екстракту додавали 80 % етанол. Реакція починалася після додавання розчину ДФПГ. Пробірки струшували і залишали на 30 хв у темряві за температури 25 °С. Оптичну густину реакційної суміші визначали за довжини хвилі 517 нм. Антиоксидантну активність екстрактів висловлювали в мкМ-екв Trolox (Sibgatullina et al., 2011).

Статистичне оброблення даних виконували за допомогою спеціалізованої програми Statistica 7.0. Регресійний аналіз і математичне моделювання динаміки вмісту фенольних сполук і антиоксидантної активності здійснювали за допомогою програми Sigma Plot 12.0.

Результати дослідження та їх обговорення. Після замочування насіння *Picea abies* у водному розчині наночастинок діоксиду церію показники енергії проростання і схожості поступово зростали в діапазоні концентрації нанопрепарату від 0,1 до 1,0 мг/л. Регресійний аналіз виявив ступеневу залежність між концентрацією НДЦ, енергією проростання ($R^2 = 0,9779$) і схожістю ($R^2 = 0,9778$), яка описувалася логнормальною функцією:

$$y = y_0 + \frac{a}{x} \exp \left[-0.5 \left(\frac{\ln(x/x_0)}{b} \right)^2 \right]. \quad (1)$$

Коефіцієнти в рівнянні мають певне фізіологічне пояснення: y_0 – базова енергія проростання або загальна схожість насіння *Picea abies* певного рівня якості; a , b – емпіричні коефіцієнти, з яких перший визначає енергетичний потенціал насіння, другий – характеризує динаміку зміни швидкості проростання насіння за дією НДЦ (певною мірою цей коефіцієнт визначає чутливість біологічної системи); x_0 ($x_0 \neq 0$) – концентрація НДЦ, за

Рис. 1. Вплив НДЦ на показники енергії проростання і схожості насіння *Picea abies*

якою показники проростання насіння виявляють максимальний фізіологічний ефект на екзогенний стимул; x – концентрація діючого агента (НДЦ).

Точність апроксимації емпіричних даних ($R^2 \sim 0,9779$) логнормальною функцією є достатньою для його використання як математичної моделі прогнозування впливу НДЦ на фізіологічний стан проростків ялини звичайної в межах певної концентрації (0,1–1,5 мг/л) наночастинок (рис. 1).

Експериментально показано, що НДЦ стимулює проростання насіння ялини звичайної за концентрації в інтервалі від 0,1 до 1,0 мг/л. Найкраща емпірично визначена схожість насіння була за концентрації НДЦ – 1,0 мг/л. Утім математично обрхованою оптимальна концентрація була дещо нижчою – 0,8 мг/л. За умов збільшення концентрації НДЦ до 1,5 мг/л показники активності проростання насіння знижувалися.

Процеси проростання насіння супроводжуються активізацією окисно-відновних процесів, активізацією відповідних ферментних систем і синтезом біологічно активних сполук, зокрема вільних радикалів, АФК, що за високої концентрації є надзвичайно токсичними для рослинного організму. Для нейтралізації негативної дії радикалів, АФК, успішної адаптації проростків і забезпечення їхньої стійкості в рослинному організмі утворюються продукти вторинного синтезу з антиоксидантними властивостями, до яких належать фенольні сполуки.

Дослідження впливу наночастинок на вміст фенолів у тканинах проростків ялини звичайної показало, що НДЦ за концентрації 0,1 мг/л стимулює їхній синтез. Подальше збільшення концентрації наночастинок зумовлює незначне, але достовірне зменшення кількості фенольних сполук і фенольних антиоксидантів (АОА) (таблиця).

Фізіолого-біохімічні показники насіння і проростків *Picea abies* після оброблення препаратом НДЦ

Концентрація, мг/мл	Фн	Фл	АОА	Еп, %	Сх, %
0	57,1 ± 2,76	3,3 ± 0,17	84,5 ± 4,23	16,5 ± 0,90	36,2 ± 1,88
0,1	62,9 ± 3,15	4,4 ± 0,21	81,8 ± 5,09	36,2 ± 1,62	56,1 ± 2,34
0,5	58,1 ± 2,81	3,7 ± 0,23	77,8 ± 3,89	54,3 ± 2,74	74,4 ± 4,05
1,0	59,9 ± 3,05	6,2 ± 0,40	80,3 ± 4,02	60,2 ± 4,12	80,5 ± 3,65
1,5	55,0 ± 3,15	1,0 ± 0,08	73,9 ± 3,70	50,4 ± 2,38	70,3 ± 2,97

* Примітка: Фн – феноли, мг/г; Фл – флавоноїди, мг/г; АОА – антиоксиданти, мг/г; Еп – енергія проростання, %; Сх – схожість, %

Рис. 2. Залежність співвідношення загальних фенолів і кількості флавоноїдів у тканинах проростків ялини звичайної за умов збільшення концентрації НДЦ

Варто зазначити, що, на відміну від показників схожості, кількість загальних фенолів і флавоноїдів у тканинах проростків ялини європейської за дії НДЦ у дослідженому діапазоні концентрацій змінювалась немонотонно, що ми також показали раніше на проростках сосни звичайної (Pinchuk et al., 2017). Помітне пригнічення фенольного синтезу спостерігалось за концентрації наночастинок у золі понад 1,5 мг/л. Підвищення АОА у тканинах проростків на тлі загального зменшення кількості фенолів за концентрації НДЦ від 0,5 до 1,0 мг/л, на нашу думку, пов'язано з підвищенням у загальному пулі фенолів частки флавоноїдів, які вирізняються високою антиоксидантною активністю (рис. 2).

Той факт, що немає монотонності функції, яка описує активність фенольного синтезу за підвищення концентрації наночастинок, свідчить про складний характер їхнього впливу на клітини і тканини проростків. Такий ефект визначено за концентрації золю НДЦ від 0,5 до 1,0 мг/л. Питання щодо механізму впливу НДЦ на рослинний організм залишається відкритим.

Через вплив НДЦ на синтез фенолів загалом змінюється функціонування ан-

тиоксидантної систему проростків ялини звичайної. Фенольні сполуки є акцепторами вільних радикалів, кількість яких зростає за умов інтенсивного дихання, і захищають клітинні компоненти від руйнування. Феноли у рослинному організмі утворюються переважно шикіматним шляхом (Zaprometov, 1993). У вищих рослин гени шикіматного шляху локалізовані в ядерному ДНК і містять N-термінальні сигнальні послідовності поліпептидів, необхідних для їх подальшого транспорту в пластиди. У хлоропластах, де відбувається утворення фенолів, транспортні пептиди відщеплюються спеціальними протеїназами. Ключовий етап фенілпропаноїдного синтезу у вищих рослин залежить від активності фенілаланін-аміакліази. Цей фермент бере участь в дезамінуванні L-фенілаланіну з утворенням транс-коричної кислоти. Для повноцінного функціонування ферментної системи шикіматного шляху як кофактори потрібні іони двовалентних металів, зокрема Mg^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} . Останній може частково замінюватися іонами церію і через це суттєво впливати на синтез фенольних речовин і на вторинний метаболізм у цілому.

Рис. 3. УФ-спектри поглинання кверцетину після його взаємодії з поверхніми наночастинок діоксиду церію: 1 – УФ-спектр кверцетину; 2 – УФ-спектр кверцетину після взаємодії з наночастинами НДЦ; 3 – УФ-спектр золю НДЦ

Значна кількість флавоноїдів насамперед у мезофілі сім'ядолей проростків ялини зумовлена наявністю пластид та їх функціональною активністю. Наночастинки НДЦ сприяють синтезу флавоноїдів у проростків ялини за концентрації 1,0 мг/л. Саме за цієї концентрації виявляються найкращі показники енергії проростання і схожості насіння. У тканинах ялини флавоноїдний комплекс представлений глікозидами кемпферолу і кверцетину, а виявлено ларіцитрін, ізорманетин, мірицетин, а також сірінгетин 3-О-(6"-ацетіл)- β -глюкопіранозид (Slimestad et al., 1995).

За наявності металів зі змінною валентністю флавоноїди за підвищеної концентрації супероксид-аніон-радикалів у внутрішньоклітинному середовищі здатні виявляти супероксиддисмутазну активність (Heckert, Karakoti, Seal, & Self, 2008). У результаті окисно-відновних реакцій, за участю іонів металів, утворюються хелати і перекис водню. З огляду на те, що у тканинах проростків ялини звичайної накопичуються кверце-

тин і його глікозильовані форми, імовірним сайтом зв'язування з іонами церію є катехольна група гидроксилів. Висока реакційна здатність 3', 4'-гидроксилів В-кільця кверцетину щодо поверхні нанодисперсних частинок підтверджується зміною його УФ-спектра. Для кверцетину характерні два максимуми поглинання в метанолі: за 370 нм (пік I) і за 255 нм (пік II). Пік I зумовлений електронними переходами В-кільця, а пік II – А-кільця. За наявності нанодисперсних частинок діоксиду церію у флавоноїду спектр поглинання змінювався: спостерігалось зменшення інтенсивності абсорбції УФ із гіпсохромним зсувом максимуму піка I; довжина хвилі піка II не змінювалася, однак на спектрограмі дещо збільшувалась його висота (рис. 3).

Відомо, що наночастинки діоксиду церію за тривалого контакту з водою поступово змінюють значення ζ -потенціалу за рахунок заміни сорбованих на їхній поверхні протонів на ОН-групи (Vincent, Inerbaev, & Babu, 2010). За умови високого вмісту гідроксильних груп на по-

верхні наночастинок полегшується процес депротоїнізації катехольних гідроксилів флавонолів і, як наслідок, утворення його комплексів з іонами металів (зокрема церію), що впливає на антиоксидантні властивості поліфенолів (Valgimigli, Ingold, & Luszyk, 1996). При цьому змінюється активність вільних 3,5,7-гідроксильних і 4-карбонільних груп А і С кілець флавоноїдів, а також ліпофільність флавоноїдів і хелатованих поверхонь наночастинок. Наприклад, хелатування церію (IV) підвищує антирадикальну здатність флавоноїдів (Jabbari, & Gharib, 2012). Вважають, що міжмолекулярні водневі зв'язки фенольних гідроксильних груп з акцептором водневих зв'язків розчинника знижують їхню антиоксидантну активність (Valgimigli, Ingold, & Luszyk, 1996). Зокрема, за $\text{pH} < 6$ частинки НДЦ прискорюють розкладання поліфенолів незалежно від наявності АФК (Shcherbakov et al., 2011).

НДЦ після поглинання корінням рослин проникає у тканини, де може взаємодіяти з ендометаболітами. Наприклад, результати рентгенівської електронної мікроскопії показали, що наночастинок НДЦ розміром 6–9 нм перетворюються у коренях огірка на фосфат церію, а в пагонах – на карбоксилат церію (Zhang et al., 2011). Окрім того, є повідомлення про утворення у тканинах кореня пергідроксиду церію. Підтверджено транслокацію іонів Се тканинами ксилеми коренів (Rico et al., 2013). Показано, що катіони Се накопичуються у коренях і провідних тканинах рослин після оброблення наночастинами церію, водночас транслокацію Се вище у тканинах пагонів не підтверджено (Majumdar et al., 2014). Токсичність максимальних концентрацій НДЦ у

експерименті частково зменшують клітинні стінки перисперму насіння ялини європейської, які представлені первинними і вторинними оболонками. Ці клітинні компоненти створюють тканинний бар'єр, який перешкоджає вільному переміщенню НДЦ, його проникненню у клітини, накопиченню у протопластах клітин зародка і ендосперму.

Висновки і перспективи. Нанокристалічний діоксид церію, після намочування насіння ялини європейської, у концентрації золю від 0,1 до 1,0 мг/мл стимулює процеси його проростання. Залежність ефекту підвищення енергії проростання і схожості насіння від концентрації золю (0,1 – 1,5 мг/мл) описується логнормальною функцією.

За концентрації золю нанокристалічного діоксиду церію понад 1,5 мг/л у тканинах проростків ялини європейської відбувається пригнічення показників схожості насіння і синтезу фенольних сполук.

Вміст фенольних сполук у тканинах проростків після оброблення насіння у золі НДЦ за відповідними концентраціями змінюється немонотонно, що вказує на складний і, можливо, ступінчастий характер проникнення наночастинок у тканини і клітини рослинного організму.

Підвищення АОА у тканинах проростків на тлі загального зменшення кількості фенолів за концентрації НДЦ від 0,5 до 1,0 мг/л відбувається на тлі збільшення у загальному пулі фенолів частки флавоноїдів, які вирізняються високою антиоксидантною активністю.

НДЦ є перспективним препаратом для підвищення енергії проростання та схожості насіння ялини звичайної за концентрації 1,0 мг/мл.

Список літератури

Asati, A., et al. (2009). Oxidase-Like Activity of Polymer-Coated Cerium Oxide Nanoparticles. *Angewandte Chemie*, 121 (13), 2344–2348. <https://doi.org/10.1002/ange.200805279>

Cornelis, G., et al. (2011). Solubility and batch retention of CeO_2 nanoparticles in soils. *Environmental Science & Technology*, 45, 2777–2782.

- Corral-Diaz, B., et al. (2014). Cerium oxide nanoparticles alter the antioxidant capacity but do not impact tuber ionome in *Raphanus sativus* (L.). *Plant Physiol. Biochem.*, 84, 277–285.
- Garcia, A., et al. (2011). Acute toxicity of cerium oxide, titanium oxide and iron oxide nanoparticles using standardized tests. *Desalination*, 269, 136–141.
- Heckert, E. G., Karakoti, A. S., Seal, S., & Self, W. T. (2008). The role of cerium redox state in the SOD mimetic activity of nanoceria. *Biomaterials*, 29 (18), 2705–2709.
- Ivanov, V. K., Usatenko, A. V., & Shcherbakov, A. B. (2009). Antioxidant activity of nanocrystalline ceria to anthocyanins. *Journal of Inorganic Chemistry*, 54 (10), 1522–1527 [in Russian].
- Jabbari, M., & Gharib, F. (2012). Solvent dependence on antioxidant activity of some water-insoluble flavonoids and their cerium (IV) complexes. *Journal of Molecular Liquids*, 168, 36–41. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2012.02.001>
- Kalenska, S. M., et al. (2012). *Scientific substantiation of the use of nanosized biogenic metals in the system of fertilizers for field crops: scientific and practical recommendations*. Kyiv [in Ukrainian].
- Likhanov, A. F., Sereda, O. V., Klyachenko, O. L., Melnychuk, M. D. (2018). Influence of oxycoric and oxybenzoic acids on synthesis of plastid pigments and fenolic compounds in the leaves of common grape vine (*Vitis vinifera*) *in vitro*. *Plant physiology and genetics*, 50 (4), 331–343 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15407/frg.2018.04.331>
- Majumdar, S., et al. (2014). Exposure of cerium oxide nanoparticles to kidney bean shows disturbance in the plant defense mechanisms. *J. Hazard. Mater.*, 278, 279–287.
- Melnichuk, M. D., et al. (2013). Impact of pre-appearing plant materials on the adaptative potential of scots *Pinus sylvestris* L. *Biological Resources and Nature Management*, 5 (5–6), 92–98 [in Ukrainian].
- Perez, J. M., Asati, A., Nath, S., & Kaittanis, A. (2008). Synthesis of biocompatible dextran coated nanoceria with pH dependent antioxidant properties. *Small*, 4, 552–556.
- Pinchuk, A. P., et al. (2017). The influence of cerium dioxide nanoparticles on germination of seeds and plastic exchange of pine seedlings (*Pinus sylvestris* L.). *Biotechnologia Acta*, 10 (5), 63–71 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15407/biotech.10.05.063>.
- Rico, C. M., et al. (2013). Effect of cerium oxide nanoparticles on rice: a study involving the antioxidant defense system and *in vivo* fluorescence imaging. *Environ. Sci. Technol.*, 47, 5635–5642. <https://doi.org/10.1039/C3MT00033H>
- Röhder, L. A., Brandt, T., Sigg, L., & Behra, R. (2014). Influence of agglomeration of cerium oxide nanoparticles and speciation of cerium (III) on short term effects to the green algae *Chlamydomonas reinhardtii*. *Aquatic Toxicology*, 152, 121–130.
- Schwabe, F., et al. (2013). Influence of two types of organic matter on interaction of CeO₂ nanoparticles with plants in hydroponic culture. *Chemosphere*, 91, 512–520.
- Shcherbakov, A. B., et al. (2011). Nanomaterials based on the nanocrystalline ceria: properties and use perspectives in biology and medicine. *Biotechnology*, 4 (1), 9–28 [in Ukrainian].
- Sibgatullina, G. V., et al. (2011). *Methods for determining the redox status of cultured plant cells*. Kazan: Kazan Federal University [in Russian].
- Slimestad, R., et al. (1995). Syringetin 3-O-(6'-acetyl)-β-glucopyranoside and other flavonols from needles of norway spruce, *Picea abies*. *Phytochemistry*, 40 (5), 1537–1542. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00383-i](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00383-i)
- SSU 8558:2015 (2015). Seeds of trees and shrubs. Methods for seed testing (germination, viability, benign). Kyiv [in Ukrainian].
- Talankova-Sereda, T. Ye. (2016). The influence of silicon nanoparticles on *Mentha piperita* rhizogenesis under *in vitro* conditions. *Taurida Scientific Herald*, 96, 112–119 [in Ukrainian].
- Trujillo-Reyes, J., et al. (2013). Citric acid modifies surface properties of commercial CeO₂ nanoparticles reducing their toxicity and cerium uptake in radish (*Raphanus sativus*) seedlings. *Journal of Hazardous Materials*, 263, 677–684.
- Valgimigli, L., Ingold, K. U., & Lusztyk, J. (1996). Antioxidant Activities of Vitamin E Analogues in Water and a Kamlet-Taft β-Value for Water. *Journal of the American Chemical Society*, 118 (15), 3545–3549. <https://doi.org/10.1021/ja954030r>
- Vincent, A., Inerbaev, T. M., & Babu, S. (2010). Tuning Hydrated Nanoceria Surfaces: Experimental/Theoretical Investigations of Ion Exchange and Implications in Organic and Inorganic Interactions. *Langmuir*, 26, 7188–7198. <https://doi.org/10.1021/la904285g>
- Wang, Q., Ebbs, S. D., Chenc, Y., & Ma, X. (2013). Transgenerational impact of cerium oxide nanoparticles on tomato plants. *Metallomics*, 5, 753–759. <https://doi.org/10.1039/C3MT00033H>
- Wang, Q., et al. (2012). The impact of cerium oxide nanoparticles on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and its implications for food safety. *Metallomics*, 4, 1105–1112. <https://doi.org/10.1039/C2MT20149F>
- Xu, W., He, H., & Yu, Y., (2009). Deactivation of a Ce/TiO₂ catalyst by SO₂ in the selective

- catalytic reduction of NO by NH_3 . *The Journal of Physical Chemistry*, 113, 4426–4432.
- Zaprometov, M. N. (1993). *Phenolic compounds. Distribution, metabolism and function in plants*. Moskva: Nauka [in Russian].
- Zhang Z., et al. (2011). Uptake and distribution of ceria nanoparticles in cucumber plants. *Metallomics*, 3 (8), 816–822. <https://doi.org/10.1039/C1MT00049G>.
- Zhao, L., et al. (2012). Effect of surface coating and organic matter on the uptake of CeO_2 NPs by corn plants grown in soil: Insight into the uptake mechanism. *Journal of Hazardous Materials*, 225, 131–138.
-

Pinchuk, A. P., Likhanov, A. F., Ivanyuk, I. V., Spivak, M. Ya. (2020). Influence of CeO_2 nanoparticles on seed germination and synthesis of phenols in spruce seedlings. *Ukrainian Journal of Forest and Wood Science*, 11 (3), 36–44. <https://doi.org/10.31548/forest2020.03.004>

Modern technologies make it possible to obtain nanoparticles of biogenic metals for use as an additional source of micronutrient for plants. However, the complexity of mass application of nanosized metal particles and their oxides is due to the significant differences in physicochemical properties of nanocrystalline structures which are dependent on production technology, nanoparticle size, surface charge (ζ -potential), and stabilization methods. The biocompatibility and nature of nanoparticles has an impact on living organisms.

Regarding the effectiveness and feasibility of using cerium dioxide nanoparticles in crop practice, there is no definitive conclusion. Due to difficulty in the preparation of planting material for seedlings of conifers, the study of the effect of nanocrystalline cerium dioxide on plants is not well researched. The aim of our research was to study the effect of nanocrystalline cerium dioxide solution on the germination of spruce seeds and then to evaluate its effect on the synthesis of phenols as components of the antioxidant system within seedlings.

The research used methods for determining the germination energy and seed similarities. Other methods used in this research were determining the content of phenolic compounds, flavonoids, and phenolic antioxidants.

The results showed that nanocrystalline cerium dioxide in a concentration of solution from 0.1 to 1.0 mg/mL stimulates the germination of spruce seeds. Under the influence of nanoparticles at a concentration of 0.1 mg/L in the tissues of spruce seedlings increases the content of phenolic compounds. The increase in antioxidant activity of phenols in seedling tissues while decreasing their total amount at a concentration of nanocrystalline cerium dioxide from 0.5 to 1.0 mg/L occurs when increasing the total pool of flavonoids, which are determined by high antioxidant activity.

Nanocrystalline cerium dioxide is a promising material for stimulating germination energy and on the overall germination of spruce seeds.

Keywords: nanoparticles, spruce, seeds, phenols, flavonoids, antioxidants.

Отримано: 2020-09-20