

УДК 630*232.5

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТОВ ВОЗДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА МЕДИ И СЕРЕБРА НА МИКРОКЛОНАЛЬНЫЕ ПРОРОСТКИ БЕРЕЗЫ ПУШИСТОЙ (*Betula pubescens* Ehrh.)

© 2020 г. П. М. Евлаков^{1,*}, О. А. Федорова¹, Т. А. Гродецкая¹, О. В. Захарова^{2,3,4},
А. А. Гусев^{1,2,3,4}, Ю. А. Крутяков⁵, О. Ю. Баранов⁶

¹ Воронежский государственный лесотехнический университет им. Г.Ф. Морозова, Воронеж, Россия

² Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина, Тамбов, Россия

³ Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», Москва, Россия

⁴ Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова, Москва, Россия

⁵ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

⁶ Институт леса НАН Беларуси, Гомель, Беларусь

*E-mail: peter.evlakov@yandex.ru

Поступила в редакцию 26.06.2020 г.

После доработки 17.08.2020 г.

Принята к публикации 19.08.2020 г.

Исследованы эффекты использования в процессе клонального микроразмножения березы пушистой наночастиц оксида меди (5–40 нм) и серебра (10–30 нм). Добавка наночастиц в состав среды WPM (*Woody plant medium*) на этапе введения эксплантов в культуру *in vitro* способствует снижению на 15–25% инфицированности эксплантов, а также повышению их морфогенного потенциала. Использование коллоидных растворов наночастиц CuO и Ag на стадии перевода микрорастений березы в закрытый грунт уменьшает количество инфицированных фитопатогенами растений, а также повышает их приживаемость на 25%. Снижение общей инфекционной нагрузки и повышение адаптационного потенциала за счет наночастиц способствует улучшению основных показателей роста и развития растений березы пушистой. При этом на стадиях мультипликации и укоренения микроклонов березы внесение в состав среды WPM наночастиц CuO и Ag способствовало снижению жизнеспособности, ухудшению внешнего вида, развитости побега и листьев, а также уменьшению коэффициента мультипликации микроклонов. Не было обнаружено положительного эффекта внесения наночастиц на количество укоренившихся микрорастений березы *in vitro*. Отметим, что под воздействием наночастиц CuO в отличие от наночастиц Ag корневая система березы становилась более разветвленной с большим количеством боковых корешков. Полученные результаты могут быть использованы при применении наночастиц CuO и Ag в биотехнологии клонального микроразмножения растений.

DOI: 10.1134/S1992722320040032

ВВЕДЕНИЕ

Сохранение и преумножение защитного и ресурсного потенциала лесов, предупреждение обезлесения и деградации — основная задача устойчивого управления лесами. Биотехнологические подходы, основанные на культивировании органов и тканей многолетних растений вне организма, на искусственных питательных средах, в регулируемых асептических условиях, позволяют в полной мере использовать селекционные достижения и проводить интенсивное выращивание качественного посадочного материала ценных генотипов древесных культур для плантационного лесовыращивания [1].

В современном сельском и лесном хозяйстве, а также биотехнологических процессах все большую популярность набирают препараты, содержащие наночастицы, обладающие огромным потенциалом [2]. Специфические свойства металлов в ультрадисперсном состоянии открывают широкие возможности для создания новых эффективных агентов с высокой биологической активностью для применения в различных областях [3]. Установлено, что наночастицы металлов при попадании в живые организмы вызывают биологический ответ, отличающийся от действия традиционной ионной формы элементов [4].

В исследованиях культуры тканей накоплен большой материал, демонстрирующий положи-

тельное влияние наночастиц на всех этапах культивирования *in vitro*. Показано положительное влияние внесения наночастиц Ag в питательную среду на снижение процента контаминированных эксплантов *Valeriana officinalis L.* [5], *Gerbera jamesonii* [6], *Arabidopsis thaliana* [7], *Vacopa monnieri* [8], *Nicotiana tabacum* [9] и др. Кроме того, было отмечено, что при обработке эксплантов *Rosa hybrida* в течение 20 мин в растворе, содержащем 200 мг/л Ag, происходило значительное снижение бактериальной инфекции [10]. В [11] отмечено улучшение ростовых характеристик растений *in vitro Brassica juncea* под воздействием 50 мг/л наночастиц Ag за счет снижения количества пероксида водорода, малондиальдегида и пролина.

Наночастицы меди, как и наносеребро, проявляют ярко выраженное противомикробное действие. Они часто применяются вместо наночастиц благородных металлов [12]. Так, было показано увеличение числа побегов, количества и длины корней, массы растения *Verbena bipinnatifida* при добавлении в среду для культивирования 5–15 мг/л наночастиц меди [13]. Растения перца *Capsicum annuum*, культивируемые на среде Мурасиге–Скуга (MS), содержащей наночастицы металлов, в том числе меди, имели улучшенные морфометрические и физиологические показатели: длину корня и его активность, увеличенное содержание хлорофилла в листьях [14]. Добавление 0.5 мг/л наночастиц меди и 0.8 мг/л наночастиц кобальта к модифицированной среде MS увеличивало количество побегов, длину побегов и укоренение *Mentha longifolia* [15]. Использование наночастиц CuO в концентрации 20 мг/л стимулировало ризогенез *Stevia rebaudiana* [16], количество укорененных эксплантов увеличилось почти на 20%.

Однако наряду с описанием положительных эффектов имеются данные, указывающие на негативное действие наночастиц на растения [17, 18]. Основной механизм токсичности наночастиц связан с поглощением, их устойчивостью на клеточном уровне и способностью высвобождать свободные радикалы, вызывая окислительный стресс. Кроме того, в зависимости от их транспорта, свойств и реакционной способности наночастицы могут влиять на различную метаболическую активность и оказывать воздействие на растения [17].

В то же время информация об эффектах наночастиц CuO и Ag на древесные породы в условиях культуры тканей практически отсутствует. Поэтому данная работа посвящена оценке влияния наночастиц оксида меди и серебра в составе питательных сред на растения березы пушистой на разных этапах клонального микроразмножения.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Получение и исследование наночастиц. Наночастицы оксида меди получали золь-гель-методом [19]. К 0.2 М водного раствора $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($\geq 99\%$, Sigma-Aldrich) добавляли 1 мл ледяной уксусной кислоты ($\geq 99\%$, Sigma-Aldrich) и нагревали до 100°C при постоянном перемешивании. При помощи 8 М NaOH ($\geq 98\%$, Sigma-Aldrich) раствор доводили до $\text{pH} = 7 \pm 0.2$. Раствор изменял цвет с зеленого на черный, и наблюдалось выпадение осадка, который доосаждали центрифугированием и промывали 3–4 раза деионизированной водой. Полученный осадок сушили на воздухе в течение 24 ч. Коллоидный раствор готовили путем ультразвукового диспергирования 20 мг порошка в 100 мл дистиллированной воды ($\text{pH} = 7 \pm 0.2$) в течение 5 мин. Таким образом получали суспензию с концентрацией наночастиц 200 мг/л.

Наночастицы серебра получали методом химического восстановления [20]. Для этого 50 мл водного раствора, содержащего 0.062 г ($3.8 \cdot 10^{-4}$ моль) нитрата серебра ($\geq 99\%$, Sigma-Aldrich), по каплям и при интенсивном перемешивании добавляли к 50 мл водного раствора, содержащего 0.2 г ($5.2 \cdot 10^{-4}$ моль) натриевой соли сульфэтоксилата додеканола (SLES, 70%-ный водный раствор Hansa). Через 15 мин после смешения растворов к реакционной системе по каплям при интенсивном перемешивании добавляли 100 мл раствора, содержащего 0.028 г ($7.4 \cdot 10^{-4}$ моль) боргидрида натрия (99%, AcrosOrganics). Концентрация серебра в полученной дисперсии составляла 200 мг/л.

Исследование наноматериалов проводили методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) на микроскопе Leo 912 AB Omega (LeoLtd., Германия) и динамического рассеяния света на анализаторе ZetasizerNano ZS (Malvern-InstrumentsLtd., Великобритания).

Клональное микроразмножение. В качестве эксплантов при введении в культуру использовали апикальные и пазушные меристемы молодых побегов березы пушистой *Betula pubescens*. Побеги промывали проточной водой с поверхностно-активными веществами и разрезали на сегменты 3–5 см, после чего стерилизовали в течение 35 мин в растворе, состоящем из 200 мл дистиллированной воды и 200 мкл 5%-ного раствора гипохлорита натрия, с последующей однократной промывкой в дистиллированной воде. Основную стерилизацию побегов проводили в ламинар-боксе в растворе, состоящем из 15 мл 5%-ного 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 см с одной пазушной

почкой – экспланты, которые впоследствии были высажены на агаризованную питательную среду WPM (*Woody plant medium*) [21] с добавлением растворов наночастиц. На этапе предварительных исследований на стадии введения в культуру *in vitro* было установлено, что наилучшие результаты получены при использовании наночастиц CuO и Ag в концентрации 5 мг/л. Данную концентрацию наночастиц использовали на всех этапах отработки технологии. В качестве контроля использовали среду без добавления наночастиц. Условия климатического режима: 16-часовой фотопериод при освещенности 2–3 клк и температуре 24–26°C. На протяжении трех недель фиксировали число стерильных эксплантов и эксплантов, сформировавших основной побег. Антифунгальную активность наночастиц CuO и Ag по отношению к фитопатогенам *Fusarium oxysporum*, *Fusarium avenaceum*, *Alternaria alternata* определяли в чашках Петри методом лунок (колодцев) [22]. Степень антагонистической активности оценивали по зонам подавления роста тест-культуры вокруг лунок с исследуемыми наночастицами.

Оценку влияния растворов наночастиц на регенерационные процессы и коэффициент размножения микроклонов березы проводили на среде WPM с добавлением наночастиц и регуляторов роста – 300 мкг/л 6-бензиламинопурина (6-БАП) и 200 мкг/л гибберелловой кислоты (ГК) ($\geq 99\%$, Sigma-Aldrich). По истечении трех недель оценивали жизнеспособность, внешний вид, развитость побега и листьев, а также коэффициент мультипликации микроклонов. Состояние микроклонов оценивали по внешнему виду по пятибалльной шкале. Коэффициент мультипликации рассчитывали как среднее количество микропобегов, полученных с одного конгломерата [23].

Процесс укоренения микроклонов под влиянием растворов наночастиц проводили на 1/2 WPM без применения регуляторов роста (безгормональной среде) и на среде 1/2 WPM, дополненной 300 мкг/л индолил-3-масляной кислотой (ИМК). Учитывали число укоренившихся микрорастений через 21 день наблюдения, а также количество корней на одно растение.

Влияние растворов наночастиц на приживаемость и наличие инфекции после перевода микроклонов березы пушистой в условия закрытого грунта изучали в условиях теплицы в субстрате, состоящем из торфа и перлита в соотношении 3:1, обработанном раствором наночастиц (5 мг/л). Почвосмесью заполняли пикировочные контейнеры объемом 150 см³, в которые высаживали растения. На протяжении 21 дня оценивали приживаемость, жизнеспособность и инфицированность исследуемых растений березы.

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием программы Microsoft Excel

2010 (пакет “Описательная статистика”) с применением однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) при 5%-ном уровне значимости.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование наночастиц. ПЭМ-анализ морфологии полученных наночастиц показал (рис. 1), что частицы оксида меди и серебра имеют близкую к сферической форму. Средний размер наночастиц CuO составлял 5–20 нм (рис. 1а), диаметр частиц Ag находился в диапазоне 10–30 нм (рис. 1б). Как видно из микрофотографий, серебро находилось в виде индивидуальных наночастиц, в то время как оксид меди – в скоагулированном состоянии. Исследование дисперсионного состава коллоидных систем наночастиц методом динамического светорассеяния также подтвердило, что коллоидный раствор наночастиц CuO характеризуется полимодальным распределением частиц, отмечен пик при 2–6 нм и второй в диапазоне 10–40 нм (рис. 2а), что говорит о некоторой склонности к агрегации частиц в растворе. Для наночастиц серебра наблюдалось более узкое распределение по размерам 10–25 нм (рис. 2б). Таким образом, диапазон распределений по размерам частиц и агрегатов CuO равнялся 5–40 нм, наночастиц Ag – 10–30 нм.

Получение асептических жизнеспособных культур березы пушистой. Результаты влияния дисперсий наночастиц CuO и Ag на инфицированность эксплантов и их морфогенный потенциал в процессе введения в культуру *in vitro* березы представлены в табл. 1. Как показал анализ данных, приведенных в таблице, использование наночастиц CuO и Ag в составе питательной среды способствует снижению количества инфицированных эксплантов березы на 15 и 25% соответственно по сравнению с контролем. При этом максимальный эффект наблюдался с наночастицами Ag. Низкий показатель инфицированности введенных эксплантов березы на питательных средах с наночастицами может быть связан с антибактериальным и антифунгальным действием растворов наночастиц [24, 25].

Анализ влияния наночастиц в концентрации 5 мг/л на фитопатогены (рис. 3) показал значительный антифунгальный эффект CuO в отношении *Fusarium oxysporum* (диаметр зоны подавления роста гриба $d = 16$ мм), *Alternaria alternata* ($d = 13$ мм) и Ag в отношении *Fusarium avenaceum* ($d = 20$ мм) и *Alternaria alternata* ($d = 12$ мм).

Внесение в состав питательной среды наночастиц CuO и Ag также положительно сказывалось на морфогенном потенциале (формировании хорошо развитого основного побега) введенных эксплантов березы. Так, число эксплантов с хорошо развитым основным побегом при использо-

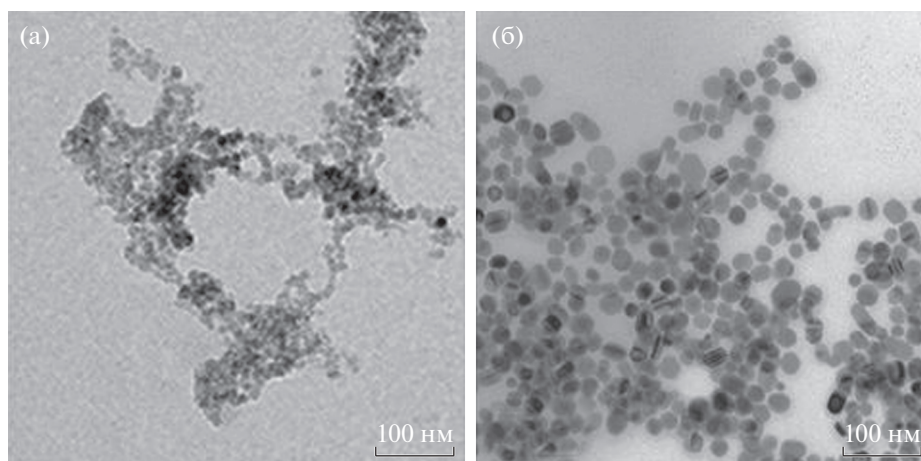


Рис. 1. ПЭМ-изображения наночастиц CuO (а) и Ag (б).

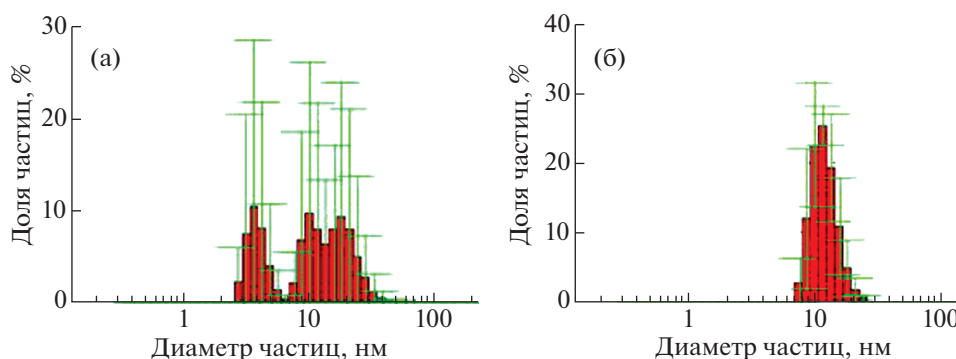


Рис. 2. Дисперсионный состав образцов наночастиц CuO (а) и Ag (б).

вании наночастиц CuO и Ag составило 85 и 95% соответственно, в контроле – 65% (табл. 1). Таким образом, положительный эффект от использования растворов наночастиц CuO и Ag на стадии введения березы в культуру *in vitro* свидетельствует о возможности использования наночастиц на данном этапе технологического процесса микрореклонального размножения.

Мультипликация микрорклонов березы пушистой. Для оценки влияния наночастиц на проростки березы на этапе мультипликации были отобраны растения-регенеранты, выращенные на питательной среде с наночастицами. Результаты показали, что добавление в среду наночастиц CuO на стадии мультипликации растений березы

in vitro действовало угнетающе на ростовые и регенерационные процессы: уменьшались прирост растений, число листьев и коэффициент мультипликации по сравнению с контрольными растениями (табл. 2). По пятибалльной шкале вид растений оценивался на три балла. Использование в составе питательной среды наночастиц Ag увеличивало высоту растений на 10%, однако количество листьев и коэффициент мультипликации уменьшались. Визуальные наблюдения показали, что растения выглядели слабыми, с тонкими побегами, удлинёнными междоузлиями, по пятибалльной шкале их состояние оценивалось на 3.7 балла.

Таблица 1. Влияние наночастиц на экспланты березы пушистой на стадии введения в культуру *in vitro*

Вариант	Число инфицированных эксплантов, %	Число эксплантов, сформировавших основной побег, %
CuO	15.0 ± 1.9	85.0 ± 3.2
Ag	5.0 ± 1.1	95.0 ± 3.8
Контроль	30.0 ± 3.5	65.0 ± 6.3



Рис. 3. Антифунгальная активность растворов наночастиц CuO и Ag.

Таким образом, внесение в состав среды WPM наночастиц CuO и Ag на стадии мультипликации березы *in vitro* способствует снижению жизнеспособности, ухудшению внешнего вида, развитости побега и листьев, а также уменьшению коэффициента мультипликации микроклонов. В качестве одного из возможных механизмов токсического действия наночастиц, как говорилось выше, может рассматриваться генерация активных форм кислорода, что приводит к окислительному стрессу [17].

Укоренение микропобегов березы пушистой. Результаты исследований показали, что введение наночастиц негативно сказывалось на количестве укорененных побегов как на гормональной, так и на безгормональной средах (табл. 3). Так, на среде, содержащей только наночастицы CuO и Ag, количество укоренившихся растений березы составило 35 и 45% соответственно, тогда как в контрольном варианте – 60%. Добавление в среду для выращивания стимулятора корнеобразования – ИМК, увеличило количество укоренившихся растений до 35 и 60% соответственно, однако этот показатель в контрольном варианте был выше – 75%. В то же время было отмечено, что добавление в среду для укоренения наночастиц CuO изменяло характер роста корневой системы. Опытные растения березы имели более сильную корневую систему с большим количеством боковых корешков по сравнению с контрольными, корни которых были тонкими и нитевидными (рис. 4). Кроме того, число корней на одно растение было

выше для растений, выращенных на среде с наночастицами CuO (табл. 4). Наличие более развитой корневой системы позволяет растениям лучше закрепляться в субстрате, а также проводить воду и питательные элементы среды.

Таким образом, не было обнаружено положительного эффекта внесения наночастиц на количество укоренившихся микропобегов березы *in vitro*, однако под воздействием наночастиц CuO корневая система становилась более разветвленной, с большим количеством боковых корешков. Различные эффекты воздействия наночастиц на развитие корневой системы можно, с одной стороны, связать с ингибированием накопления ростового фитогормона ауксина в корнях и снижением экспрессии генов, связанных с рецепторами ауксина [26], а с другой стороны, с индукцией ризогенеза под действием наночастиц оксида меди [27], которая может быть связана с действием меди как микроэлемента, входящего в состав различных растительных ферментов. Являясь компонентом ряда окислительных ферментов, медь повышает интенсивность дыхания, влияет на углеводный и белковый обмен растений [28, 29].

Влияние наночастиц на этапе адаптации к почвенным условиям. Исследовано влияние растворов наночастиц CuO и Ag на приживаемость и наличие инфекции у микроклонов древесных пород после перевода их в условия закрытого грунта. Результаты представлены в табл. 4 и на рис. 5.

Таблица 2. Влияние наночастиц на показатели роста и развития микроклонов березы пушистой через 21 день культивирования

Вариант	Высота побега, мм	Число листьев, шт.	Процент прироста	Коэффициент мультипликации	Общее состояние микроклонов по пятибалльной шкале
CuO	21.3 ± 2.0	6.4 ± 0.7	26.4 ± 3.3	1.7 ± 0.1	3.0 ± 0.2
Ag	27.1 ± 2.8	3.6 ± 0.4	56.3 ± 8.6	1.8 ± 0.2	3.7 ± 0.2
Контроль	25.9 ± 2.2	6.9 ± 0.9	31.3 ± 3.6	2.45 ± 0.3	4.5 ± 0.1

Таблица 3. Влияние наночастиц на процесс укоренения микрорастений березы пушистой

Показатели	Питательная среда 1/2 WPM					
	Безгормональная			300 мкг/л ИМК		
	CuO	Ag	Контроль	CuO	Ag	Контроль
Число укорененных микрорастений, %	35.0 ± 3.2	45.0 ± 4.1	60.0 ± 8.5	35.0 ± 5.2	60.0 ± 7.1	75.0 ± 9.2
Количество корней (шт. /раст.)	2.3 ± 0.6	2.2 ± 0.3	2.2 ± 0.3	3.6 ± 0.6	2.5 ± 0.4	3.1 ± 0.4

Таблица 4. Влияние наночастиц на растения березы пушистой на этапе адаптации к нестерильным условиям теплицы через 21 день культивирования

Вариант	Высота стебля, мм	Число листьев, шт.	Приживаемость, %	Количество инфицированных растений, %	Общее состояние растений по пятибалльной шкале
CuO	47.8 ± 3.3	5.9 ± 0.2	95.0 ± 2.7	5.0 ± 1.1	4.6 ± 0.1
Ag	50.7 ± 5.4	6.4 ± 0.4	95.0 ± 3.9	10.0 ± 1.6	4.6 ± 0.2
Контроль	45.0 ± 3.9	4.4 ± 0.3	70.0 ± 5.7	15.0 ± 2.2	4.1 ± 0.3

Как видно из представленных данных, использование наночастиц CuO и Ag повышает приживаемость растений на 25%. Кроме того, отмечено улучшение основных показателей роста и развития растений. Так, у опытных растений увеличивается высота стебля на 6–12%, количество листьев – 34–45% соответственно по отношению к

контрольным растениям. Состояние клонов по пятибалльной шкале оценивалось на 4.6 балла. Данный факт положительного влияния свидетельствует о повышении адаптационных свойств микрорастений березы под влиянием растворов наночастиц, что согласуется с литературными данными. Согласно мнению многих исследователей, применение наночастиц снижает воздействие стрессовых факторов, к которым относится перевод растений в условия закрытого грунта. При этом наночастицы воздействуют на биологические объекты на клеточном уровне, повышая эффективность протекающих в растениях процессов, и обладают пролонгированным действием [30].

Применение наночастиц CuO и Ag способствует также снижению количества инфицированных фитопатогенами растений на 5–10%. Это объясняется наличием у исследуемых растворов наночастиц антагонистической активности в отношении основных возбудителей болезней растений, находящихся в стадии покоящихся спор в почве. Бактерицидное и фунгицидное действие наночастиц CuO и Ag продемонстрировано в ряде работ [31–34].

Таким образом, анализ результатов применения наночастиц на стадии перевода растений в условия тепличного доращивания свидетельствует о возможности повышения приживаемости древесных растений и снижении инфекционной нагрузки путем введения в технологический процесс использования растворов наночастиц CuO и Ag.

**Рис. 4.** Развитие корневой системы березы в питательной среде 1/2 WPM, содержащей наночастицы CuO и Ag.



Рис. 5. Микрорастения березы через 21 день после перевода в условия закрытого грунта.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали возможность использования в технологическом процессе клонального микроразмножения березы пушистой наночастиц CuO и Ag на стадиях введения эксплантов в культуру *in vitro*, а также при переводе растений в условия закрытого грунта. Эффект биологического воздействия наночастиц обусловлен как их антифунгальным действием, так и способностью влиять на рост и развитие растений. Не выявлено положительного эффекта применения наночастиц CuO и Ag на стадиях мультипликации и укоренения микроклонов. Отмечено, что под воздействием наночастиц оксида меди корневая система микрорастений березы пушистой формировалась более разветвленной, с большим количеством боковых корешков. Полученные результаты могут быть полезны в биотехнологической практике при использовании наночастиц CuO и Ag в ходе клонального микроразмножения растений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. <http://www.fao.org/forestry/5537-3f6038e30b29058bff460521b6ea0267.pdf>
2. Nanomaterials for Agriculture and Forestry Applications / Eds. Husen A., Jawaid M. Amsterdam: Elsevier, 2020. 560 p.
3. Егорова Е.М., Ревина А.А., Ростовщикова Т.Н. и др. // Вестн. МГУ. Сер. Хим. 2001. Т. 42. № 5. С. 332.
4. Kagan V., Tyurina Y., Konduru N. et al. // Toxicol. Lett. 2006. V. 165. № 1. P. 88.
5. Abdi G.H., Salehiand H., Khosh-Khui M. // Acta Physiol. Plant. 2008. V. 30. P. 709.
6. Fakhrfeshani M., Bagheri A., Sharifi A. // J. Biol. Environ. Sci. 2012. V. 6. P. 121.
7. Mahna N., Vahed S.Z., Khani S. // J. Nanomed. Nanotechnol. 2013. V. 4. P. 161.
8. Kalsaitkar P., Tanna J., Kumbhare A. et al. // Asian J. Biol. Life Sci. 2014. V. 3. P. 167.
9. Bansod S., Bawskar M., Rai M. // IET Nanobiotechnol. 2015. V. 9. P. 239.
10. Shokri S., Babaei A., Ahmadian M. et al. // Int. J. Farming Allied Sci. 2014. V. 3. P. 50.
11. Sharma P., Bhatt D., Zaidi M.G.H. et al. // Appl. Biochem. Biotechnol. 2012. V. 167. P. 2225.
12. Андрусишина И.Н., Голуб И.А., Дидикин Г.Г. и др. // Биотехнология. 2011. Т. 4. № 6. С. 51.
13. Genady E.A., Qaid E.A., Fahmy A.H. // Int. J. Pharm. Res. Allied Sci. 2016. V. 5. P. 196.
14. Нечитайло Г.С., Богословская О.А., Ольховская И.П. и др. // Российские нанотехнологии. 2018. Т. 13. № 3–4. С. 57.
15. Talankova-Sereda T.E., Liapina K.V., Shkopinskij E.A. et al. // Nanoscience and Nanoengineering. V. 4. № 2. P. 31.
16. Ahmad M.A., Javed R., Adeel M. et al. // Molecules. 2020. V. 25. № 6. P. 1356.
17. Rastogi A., Zivcak M., Sytar O. et al. // Front Chem. 2017. V. 5. P. 78.
18. Cox A., Venkatachalam P., Sahi S. et al. // Plant Physiol. Biochem. 2016. V. 107. P. 147.
19. Kshirsagar J.M., Shrivastava R., Adwani P.S. // Thermal Sci. 2017. V. 21. № 1A. P. 233.
20. Iravani S., Korbekandi H., Mirmohammadi S.V., Zolfaghari B. // Res. Pharm. Sci. 2014. V. 9. № 6. P. 385.
21. Lloyd G., McCown B. // Comb. Proc. Int. Plant Prop. Soc. 1980. V. 30. P. 421.
22. Wellington B., Figueiredo J.E.F. // Eur. J. Plant Pathol. 2008. V. 120. № 3. P. 311.

23. Азарова А.Б., Лебедев В.Г., Шестибратов К.А. Способ микрклонального размножения алычи *in vitro*. Патент РФ № 0002652953. 03.05.2018.
24. Зарубина А.П., Деев Л.И., Пархоменко И.М. и др. // Российские нанотехнологии. 2015. Т. 10. № 5–6. С. 115.
25. Sánchez-López E., Gomes D., Esteruelas G. et al. // Nanomaterials (Basel). 2020. V. 10. № 2. P. 292.
26. Sun J., Wang L., Li S. et al. // Environ. Toxicol. Chem. 2017. V. 36. № 10. P. 2773.
27. Margenot A.J., Rippner D.A., Dumlao M.R. et al. // Plant Soil. 2018. V. 431. P. 333.
28. Бородулин В.Б., Матасов А.Д., Горошинская И.А. и др. // Российские нанотехнологии. 2019. Т. 14. № 1–2. С. 76.
29. Копач О.В., Кузовкова А.А., Азизбекян С.Г., Решетников В.Н. // Труды БГУ. 2013. Т. 8. № 2. С. 20.
30. Sarmast M., Salehi H. // Mol. Biotech. 2016. V. 58. № 7. P. 441.
31. Das R., Gang S., Nath S.S., Bhattacharjee R. // J. Bionanosci. 2010. V. 4. №1–2. P. 82.
32. Oussou-Azo A.F., Nakama T., Nakamura M. et al. // Nanomaterials (Basel). 2020. V. 10. № 5. P. 1003.
33. Kim J.S., Kuk E., Yu K.N. et al. // Nanomedicine. 2007. V. 3. № 95. P. 101.
34. Nasrollahi A., Pourshamsian K., Mansourkiaee P. // Int. J. Nano Dim. 2011. № 1. P. 233.