

УДК 635.9

АНТИМИКРОБНОЕ ДЕЙСТВИЕ НАНОБИОСЕРЕБРА НА СРЕЗАННЫЕ ЦВЕТЫ

Омельченко А. В.¹, Юркова И. Н.¹, Омельченко С. О.²

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
ГБОУ ДПО РК «Крымский республиканский институт постдипломного педагогического образования», Симферополь, Российская Федерация
E-mail: omelchenko_tnu@mail.ru*

В работе исследована возможность применения наноконпозиции серебра в матрице альгината натрия для получения протекторных растворов с целью сохранения декоративных качеств срезанных цветов. Антимикробное действие нанобиосеребра наблюдалось во всем интервале исследованных концентраций – от 5,0 до 25,0 мг/л. Полученные результаты коррелировали с данными влияния нанобиосеребра на продолжительность жизни, декоративность, водный баланс и биомассу цветков. Показано, что оптимальные протекторные свойства проявлялись при концентрации нанобиосеребра 5,0-10,0 мг/л.

Ключевые слова: наночастицы, серебро, срезанные цветы, антимикробное действие, протекторные свойства.

ВВЕДЕНИЕ

Сохранение декоративных качеств срезанных цветов является важнейшей задачей цветочной индустрии. Основной причиной увядания срезанных растений является нарушение водного обмена благодаря неконтролируемому развитию микроорганизмов в воде, в результате чего продукты их жизнедеятельности закупоривают сосуды ксилемы [1]. При срезке цветов нарушается функционирование системы цветков – листья – корень. В цветке и цветоносном побеге полностью нарушается подача воды и метаболитов в ткани цветка. После того как запас воды в срезанном цветоносе исчерпывается, наступает обезвоживание тканей, приводящее к гибели цветка. Цветы продолжают испарять воду без соответствующего восполнения потерь извне.

Для устранения этих явлений в протекторные растворы вводят бактерицидные и антиоксидантные вещества пролонгированного действия, подавляющие развитие микрофлоры и препятствующие закупорке сосудов ксилемы. Это позволяет воде и питательным веществам легко достигать цветка и обеспечивать достаточную водонасыщенность тканей [2].

Подобные препараты часто содержат салициловую или борную кислоты, перманганат калия, резорцин и другие вещества биоцидного действия. Однако большинство этих средств являются токсичными, а результаты от их применения не всегда оказываются высокими.

Значительной антимикробной активностью, в том числе к гнилостной микрофлоре, обладают препараты, содержащие серебро. В отличие от ионных форм наночастицы серебра обладают более выраженным бактерицидным действием [3]. При переходе от ионной формы серебра к металлическим нанокластерам снижается токсичность серебра, а антимикробная активность достигается при более низких концентрациях [4].

Как показано ранее, применение наносеребра в концентрации 5,0–10,0 мг/л значительно увеличивало продолжительность жизни срезанных цветов гвоздики и их декоративные качества [5]. Однако исследования влияния наночастиц серебра на гнилостную микрофлору, развивающуюся при сохранении срезанных цветов, не проводились.

В связи с этим целью нашей работы было изучение антимикробного действия нанобиосеребра на гнилостную микрофлору срезанных цветов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом для проведения исследований служили срезанные генеративные побеги гвоздики, хризантемы и астры и разработанная ранее водорастворимая бактерицидная композиция наночастиц серебра в матрице альгината натрия [6]. Срезанные побеги помещали в сосуды (500 мл) с протекторными растворами, содержащими нанобиосеребро с концентрацией 5,0; 10,0 и 25,0 мг/л. Контролем служил вариант без нанобиосеребра (дистиллированная вода). Опыты проводили в лабораторных условиях при температуре воздуха 20–22 °С. Продолжительность эксперимента составляла 10 дней.

Антибактериальное действие нанобиосеребра на гнилостную микрофлору срезанных цветов исследовали органолептическим и микробиологическим методами. Органолептически определяли характер и интенсивность запаха по 5-балльной шкале [7]. Мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы (МАФАМ) в исследуемом растворе определяли согласно ГОСТ 18963–73. Для этого 1 см³ раствора или его десятикратного разведения параллельно вносили в две чашки Петри. Затем в чашки Петри приливали 10–12 см³ агаризованной питательной среды. Инокулят перемешивали со средой и оставляли для застывания. Чашки Петри помещали в термостат для инкубации при температуре 37 °С на 24 ч. Через 24 часа подсчитывали выросшие колонии на поверхности и в глубине агара. За окончательный результат принимали среднеарифметическое значение измерений на двух параллельных чашках или разных разведений [8].

Статистическую обработку полученных результатов проводили по Г. Ф. Лакину [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты органолептических исследований показали, что в протекторных растворах, содержащих нанобиосеребро в концентрации 5,0–25,0 мг/л, после 10-дневной экспозиции срезанных побегов гвоздики наблюдалось полное отсутствие запаха. Для побегов хризантемы и астры интенсивность запаха при концентрации

нанобиосеребра 5,0 мг/л была очень слабая или слабая и по 5-бальной шкале соответствовала 1 и 2 баллам соответственно. В контрольном варианте интенсивность запаха была отчетливая или очень сильная и составляла 4–5 баллов в зависимости от вида культуры (табл. 1).

Таблица 1

Влияние нанобиосеребра на органолептические показатели воды после 10-дневной экспозиции побегов срезанных цветов

Вариант опыта	Органолептические показатели	
	Интенсивность запаха	Оценка интенсивности запаха, балл
<i>Гвоздики</i>		
контроль	Отчетливая	4
5,0 мг/л Ag ⁰	Нет	0
10,0 мг/л Ag ⁰	Нет	0
25,0 мг/л Ag ⁰	Нет	0
<i>Хризантемы</i>		
контроль	Очень сильная	5
5,0 мг/л Ag ⁰	Очень слабая	1
10,0 мг/л Ag ⁰	Нет	0
25,0 мг/л Ag ⁰	Нет	0
<i>Астры</i>		
контроль	Очень сильная	5
5,0 мг/л Ag ⁰	Слабая	2
10,0 мг/л Ag ⁰	Нет	0
25,0 мг/л Ag ⁰	Нет	0

Исследование влияния различных концентраций нанобиосеребра на гнилостную микрофлору, развивающуюся в протекторных растворах, было проведено на побегах гвоздики. Установлено, что максимальное развитие мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов наблюдалось только в контрольном варианте и составляло $4,1 \cdot 10^5$, тогда как во всем интервале концентраций нанобиосеребра отмечено подавление роста МАФАМ (табл. 2, рис. 1).

Таблица 2

Влияние нанобиосеребра на микрофлору воды после 10-дневной экспозиции побегов гвоздики

Вариант опыта	МАФАМ, КОЕ/см ³
контроль	410000 ($4,1 \cdot 10^5$)
5,0 мг/л Ag ⁰	4
10,0 мг/л Ag ⁰	не выявлено
25,0 мг/л Ag ⁰	не выявлено

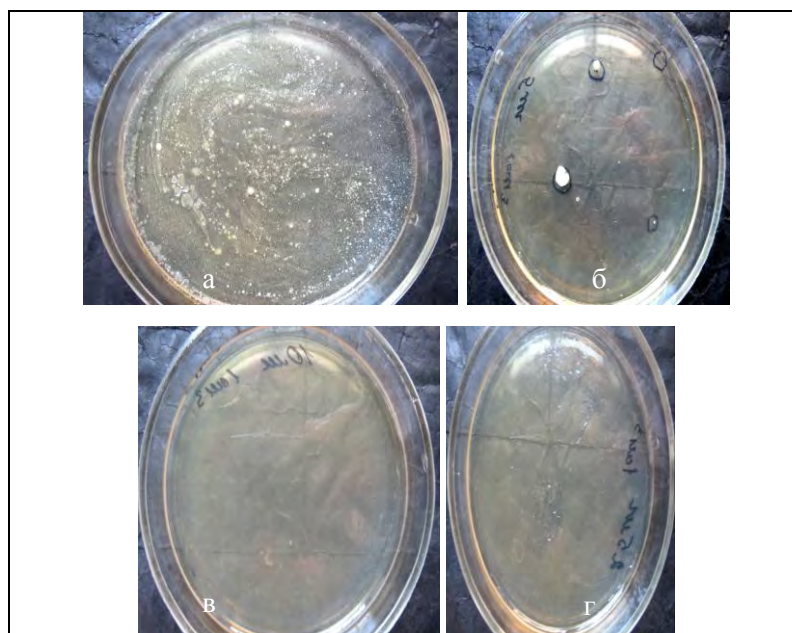


Рис. 1. Степень заражения воды и протекторных растворов, содержащих нанобиосеребро, микроорганизмами после 10-дневной экспозиции побегов гвоздики: а) контроль (дистиллированная вода); б) 5,0 мг/л Ag⁰; в) 10,0 мг/л Ag⁰; г) 25,0 мг/л Ag⁰.

Биоцидное действие наночастиц серебра, полученных различными методами, отмечалось многочисленными авторами на различных культурах микроорганизмов, в том числе и фитопатогенных [10–12]. Наиболее распространенная гипотеза механизма действия наночастиц серебра на микробную клетку связана с сорбцией ионов серебра, генерируемых наночастицей, клеточной оболочкой и образованием комплексов с основным ее компонентом – пептидогликанами. В результате этого

пептидогликаны теряют способность к транспорту кислорода внутри клетки с последующей ее гибелью [5].

Одним из главных факторов продолжительности жизни срезанных цветов является водный баланс в растениях, который напрямую связан с закупоркой проводящих сосудов стебля в результате деятельности микроорганизмов [13].

Протекторные растворы, содержащие нанобиосеребро, обеспечивают целостность транспортирующих потоков ксилемы. В результате этого происходит беспрепятственное поступление воды и метаболитов в ткани цветка. Это подтверждается увеличением поглощения воды цветами гвоздики на 20,7–41,5 % по сравнению с контролем. Изменение поглощения воды под влиянием нанобиосеребра сопровождалось увеличением сырой массы цветка в среднем на 30 %, что значительно определяет насыщенность водой и тургор лепестков. При этом сухая биомасса цветков изменялась незначительно – на 5,3–6,5 %, что свидетельствует об увеличении водонасыщенности цветка и, как следствие, сохранении декоративных качеств и продолжительности жизни. Увеличение сырой биомассы цветков во всех вариантах опыта коррелировало с поглощением воды побегами и содержанием воды в цветке. Однако при концентрации нанобиосеребра 25,0 мг/л декоративность, продолжительность жизни, поглощение и содержание воды в цветке незначительно снижались по сравнению с концентрацией 10,0 мг/л [5].

Увеличение продолжительности жизни и сохранение декоративных качеств срезанных цветов также наблюдалось на цветах астры и хризантемы. На рисунке 2 показан внешний вид срезанных побегов хризантемы после экспозиции в протекторных растворах с нанобиосеребром.



Рис. 2. Внешний вид срезанных побегов хризантемы в дистиллированной воде (а) и растворах нанобиосеребра: б – 5,0 мг/л, в – 10,0 мг/л, г – 25,0 мг/л на 10-е сутки.

Сравнение результатов антимикробного действия нанобиосеребра на срезанные цветы с ранее полученными данными его влияния на продолжительность жизни,

декоративность, водный баланс и биомассу цветков позволяет сделать вывод о том, что одним из основных факторов влияния наносеребра на сохранение декоративных качеств срезанных цветов являются его биоцидные свойства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, наноконпозиция серебра в матрице альгината натрия может быть рекомендована для получения протекторных растворов при сохранении срезанных цветов как антимикробное средство.

Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках базовой части государственного задания № 2015/701 Минобрнауки России в сфере научной деятельности темы «Обоснование применения оздоровительно-превентивных технологий на основе действия низкоинтенсивных факторов различной природы».

Список литературы

1. Van Doorn W. G. Water relations of cut flowers / W. G. Van Doorn // Hort Rev. – 1997. – V. 18. – P. 1–85.
2. Кондратьева В. В. Сохранение декоративных качеств срезанных роз в вазе / В. В. Кондратьева, М. В. Семенова, А. В. Дружинин // Гавриш. – 2011. – №2. – С. 40–43.
3. Баранова Е. К. Сравнение действия ионов и наночастиц серебра на клетки дрожжей и кишечной палочки (*E. coli*) / Е. К. Баранова, А. А. Ревина, Л. И. Войно [и др.] // Наночастицы в природе. Нанотехнологии их создания в приложении к биологическим системам: материалы 1-го Российского научно-методологического семинара (4 июня 2003 года). – Москва, 2003. – С. 53–60.
4. Нежинская Г. И. Иммуотропные свойства высокодисперсного металлического серебра / Г. И. Нежинская Г. И., В. В. Копейкин, В. Е. Гмиро // Серебро в медицине, биологии и технике. – Новосибирск, 1995. – 184 с.
5. Юркова И. Н. Влияние нанобиосеребра на декоративные качества срезанных цветов гвоздики / И. Н. Юркова, А. В. Омельченко // Молодой ученый. – 2015. – № 22 (102). – С. 59–63.
6. Патент UA № 10539 Способ получения водорастворимой бактерицидной композиции, содержащей наночастицы серебра / Юркова И. Н., Эстрела-Льопис В. Р., Рябушко В. И., Рябушко Л. И.; заявитель и патентообладатель Таврический национальный университет; – № u2001128682; заявл. 13.05.05; опубл. 15.11.05. Бюл. № 11.
7. ГОСТ 3351-74. Вода питьевая. Методы определения вкуса, запаха, цветности и мутности. – Введ. 1975-01-07. – Москва: Государственный стандарт Союза ССР, 1990. – 17 с.
8. ГОСТ 18963-73. Вода питьевая. Методы санитарно-бактериологического анализа. – Введ. 1974-01-07. – Москва: Стандартиформ, 2008. – 17 с.
9. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
10. Пархоменко Н. А. Антибактериальное и противогрибковое действие водорастворимой нанобиоконпозиции на основе серебра и морских биополимеров / Н. А. Пархоменко, И. Н. Юркова, В. М. Рябушко // Ученые записки Таврического национального университета В. И. Вернадского. Сер. «Биология, химия». – 2008. – Т. 21(60), № 2. – С. 106–112.
11. Омельченко А. В. Влияние обработки семян нанобиосеребром на фитопатогены и ростовые процессы проростков озимой пшеницы / А. В. Омельченко, И. Н. Юркова, М. Н. Жижина // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2015. – № 3. – С. 74–77.
12. Егорова Е. М. Бактерицидные и каталитические свойства стабильных металлических наночастиц в обратных мицеллах / Е. М. Егорова, А. А. Ревина, Т. Н. Ростовщикова [и др.] // Вестник МГУ. Сер. 2. Химия. – 2001. – Т. 42. – С. 332–337.
13. Zagory D. Role of Vase Solution Microorganisms in the Life of Cut Flowers / D. Zagory, M. S. Reid // J. Amer. Soc. Hort. Sci. – 1986. – Vol. 111. – P. 154–158.

ANTIMICROBIAL ACTION OF NANOBIOSILVER FOR CUT FLOWERS

Omelchenko A. V.¹, Jurkova I. N.¹, Omelchenko S. O.²

¹*V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation*

²*Crimean Republican Institute of Post-diploma Pedagogical Education, Simferopol, Russian Federation*

E-mail: 5612178@ukr.net

Storage of decorative qualities of cut flowers is the most important task of the flower industry. The main cause of wilting of cut plants is a violation of the water exchange through the uncontrolled development of microorganisms in the water. As a result, their metabolic products clog the xylem vessels.

The aim of this study was to investigate the antimicrobial action of nanobiosilver on putrid microflora of cut flowers.

The object for research was cut generative shoots of carnations, chrysanthemums and asters and water-soluble bactericidal composition of silver nanoparticles in a matrix of sodium alginate. The cut shoots were placed in vessels filled with protective solutions containing nanobiosilver in a concentration of 5.0, 10.0 and 25.0 mg/L. As a control we used distilled water. Duration of experiment was 10 days. Antibacterial action of nanobiosilver on putrid microflora of cut flowers was investigated using the organoleptic and microbiological methods. The organoleptic method determined the nature and intensity of the odor based on 5-point scale according to GOST 3351-74. Number of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms was determined by the number of colony forming units in 1 cm³ of test solution (GOST 18963-73).

The results of organoleptic studies showed that 10 days after exposure of shoots of cut carnations, asters and chrysanthemums to protective solutions of nanobiosilver in a concentration of 5.0 mg/L there was a complete absence or weak intensity of odor compared to the control. By increasing the concentration of nanobiosilver odor completely disappeared. Also we noticed the suppression of growth of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms in all tested solutions containing nanobiosilver. Their development was only observed in the control variant and was $4.1 \cdot 10^5$. A comparison of the results of antimicrobial action of nanobiosilver on cut flowers with the earlier data on its impact on life expectancy, decorative properties, water balance and biomass of flowers was made. It was concluded that one of the main factors influencing the preservation of decorative qualities of cut flowers is antimicrobial action of nanobiosilver.

It was shown that silver nanobiocomposition in a matrix of sodium alginate can be recommended for protective solutions maintaining cut flowers as an antimicrobial agent.

Keywords: nanobiosilver, cut flowers, antimicrobial action, protective properties.

References

1. Van Doorn W. G. Water relations of cut flowers, *Hort Rev.* **18**, 1 (1997).
2. Kondrat'eva V. V., Semenova M. V., Druzhinin A. V. Sokhranenie dekorativnykh kachestv srezannykh roz v vaze, *Gavrish.* **2**, 40 (2011).

3. Baranova E. K., Revina A. A., Voyno L. I. Sravnenie deystviya ionov i nanochastits serebra na kletki drozhzhey i kishhechnoy palochki (*E. coli*), *Materialy 1-go Rossiyskogo nauchno-metodologicheskogo seminara "Nanochastitsy v prirode. Nanotekhnologii ikh sozdaniya v prilozhenii k biologicheskim sistemam"*, 53 (Moskva, 2003).
4. Nezhinskaya G. I., Kopeykin V. V., Gmiro V. E. Immunotropnye svoystva vysokodispersnogo metallicheskog serebra, *Srebro v meditsine, biologii i tekhnike* (Novosibirsk, 1995).
5. Yurkova I. N., Omel'chenko A. V. Vliyanie nanobioserebra na dekorativnye kachestva srezannykh tsvetov гвозdiki, *Molodoy uchenyy*. **22** (102), 59 (2015).
6. Patent UA № 10539 Sposob polucheniya vodorastvorimoy bakteritsidnoy kompozitsii, soderzhashchey nanochastitsy serebra / Yurkova I. N., Estrela-L'opis V. R., Ryabushko V. I., Ryabushko L. I.; zayavitel' i patentoobladatel' Tavricheskiy natsional'nyy universitet; – № u2001128682; zayavl. 13.05.05; opubl. 15.11.05. Byul. № 11.
7. GOST 3351-74. Voda pit'evaya. Metody opredeleniya vkusa, zapakha, tsvetnosti i mutnosti. Vved. 1975-01-07 (Moskva: Gosudarstvennyy standart Soyuz SSR, 1990).
8. GOST 18963-73. Voda pit'evaya. Metody sanitarno-bakteriologicheskogo analiza. Vved. 1974-01-07 (Moskva: Standartinform, 2008).
9. Lakin G. F. *Biometriya*, 352 p. (M.: Vysshaya shkola, 1990).
10. Parkhomenko N. A., Yurkova I. N., Ryabushko V. M. Antibakterial'noe i protivogribkovoe deystvie vodorastvorimoy nanobiokompozitsii na osnove serebra i morskikh biopolimerov, *Uchenye zapiski Tavricheskogo natsional'nogo universiteta V.I. Vernadskogo. Ser. «Biologiya, khimiya»*. **21(60)**, **2**, 106 (2008).
11. Omel'chenko A. V., Yurkova I. N., Zhizhina M. N. Vliyanie obrabotki semyan nanobioserebrom na fitopatogeny i rostovye protsessy prorostkov ozimoy pshenitsy, *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*. **3**, 74 (2015).
12. Egorova E. M., Revina A. A., Rostovshchikova T. N. Bakteritsidnye i kataliticheskie svoystva stabil'nykh metallicheskikh nanochastits v obratnykh mitsellakh, *Vestnik MGU. Ser. 2. Khimiya*. **42**, 332 (2001).
13. Zagory D., Reid M. S. Role of Vase Solution Microorganisms in the Life of Cut Flowers, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **111**, 154 (1986).