

<https://doi.org/10.15407/frg2023.02.163>

УДК 577.1

## ВПЛИВ АЛЬГІНІТУ НА РІСТ ТА БІОАКТИВНІСТЬ РОСЛИН САЛАТУ В УМОВАХ IN VITRO

Н. МАТВЄЄВА<sup>1</sup>, В. ДУПЛІЙ<sup>1,2</sup>, Т. БОГДАНОВИЧ<sup>1</sup>, Л. ВОЗАР<sup>3</sup>, П. КОВАР<sup>3</sup>,  
П. ГРИЦ<sup>3</sup>, Я. БРІНДЗА<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Інститут клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії наук України

03143 Київ, вул. Академіка Заболотного, 148

e-mail: dupliyv@icbge.org.ua

<sup>2</sup>Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України

03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17

<sup>3</sup>Словацький аграрний університет у Нітрі

94976 Нітра, Трієда Андрея Глінку, 2, Словацька Республіка

Використання біостимуляторів, які покращують ріст рослин та підвищують їхню стійкість до несприятливих чинників середовища, є важливою стратегією виробників сільськогосподарської продукції. Гірська порода альгінит, що містить комплекс сполук природного походження, є одним з таких біостимуляторів. Продукт ALGEXr-2, екстракт із природного подрібненого альгініту, був створений в Інституті агрономічних наук факультету агробіології та харчових ресурсів Словацького аграрного університету в Нітрі. У нашій роботі використовували 1 %-й розчин ALGEXr-2, яким одноразово, по 10, 20 та 30 мкл, підживлювали рослини *Lactuca sativa* L. сорту Кучерявець одеський, що вирощували in vitro. Визначали масу коренів і пагонів, а також вміст флавоноїдів й антиоксидантну активність. Встановлено позитивний вплив добавляння екстракту з альгініту на ріст рослин салату в умовах in vitro, а також здатність цього розчину підвищувати вміст флавоноїдів у екстрактах з цих рослин та рівень антиоксидантної активності. Добавляння альгініту не впливало на ріст коренів, однак збільшувало масу пагонів у 1,5–1,9 раза. У рослинах, які культивували на середовищі з добавлянням екстракту з альгініту, вміст флавоноїдів був значно вищим, ніж у контролі. Зокрема, питомий вміст флавоноїдів у коренях і пагонах контрольних рослин становив  $3,08 \pm 0,37$  та  $3,04 \pm 0,05$  мг РЕ/г сирової речовини. Водночас вміст сполук у коренях дослідних рослин був у 2,04–2,12 раза більшим, ніж у контролі. Питомий вміст флавоноїдів у пагонах перевищував цей показник у контролі відповідно у 1,68–2,27 раза залежно від кількості доданого екстракту альгініту. Регресійно-кореляційний аналіз показав високий ступінь лінійної залежності ( $R^2 = 0,78$ ) антиоксидантної активності екстрактів салату за параметром еквівалентної концентрації ( $EC_{50}$ ) від питомого вмісту флавоноїдів у цих екстрактах. Проведення досліджень у стерильних умовах дало змогу уникнути впливу ґрунтової мікрофлори на ріст рослин і дії альгініту на мікроорганізми. Отримані результати можуть бути використані для роз-

Цитування: Матвєєва Н., Дуплій В., Богданович Т., Возар Л., Ковар П., Гриц П., Бріндза Я. Вплив альгініту на ріст та біоактивність рослин салату в умовах in vitro. *Фізіологія рослин і генетика*. 2023. 55, № 2. С. 163–176. <https://doi.org/10.15407/frg2023.02.163>

роблення технології обробки рослин салату екстрактом з альгінату як біостимулятором рослин з метою підвищення їхньої харчової цінності.

**Ключові слова:** *Lactuca sativa* L., альгінат, ріст, флавоноїди, антиоксидантна активність.

Використання засобів, які покращують ріст рослин та підвищують їхню стійкість до несприятливих чинників середовища, є важливою стратегією виробників сільськогосподарської продукції. Крім традиційних добрив, стимулювати ріст рослин можуть різні природні біостимулятори. Ці сполуки не постачають поживні речовини безпосередньо до рослин. У той самий час біостимулятори сприяють метаболічним процесам у рослинах внаслідок поліпшення засвоєння поживних речовин [1]. Регламент (ЄС) 2019/1009 Європейського парламенту та Ради навіть встановив правила надання послуг на ринку добрив у Євросоюзі, що включає і природні біостимулятори, підкреслюючи таким чином важливість та необхідність їх використання.

Біостимулятори — речовини та мікроорганізми, які застосовують для обробки рослин або внесення у ґрунт з метою посилення росту та розвитку сільськогосподарських культур, покращення засвоєння поживних речовин і підвищення стресостійкості. До біостимуляторів природного походження належать речовини, отримані з екстрактів рослин, морських водоростей, гумінових кислот, амінокислот, а також мікроорганізмів, таких як мікоризні гриби і ризобактерії. Дослідження показали, що біостимулятори природного походження покращують ріст рослин, урожайність та якість, а також підвищують засвоєння поживних речовин і стійкість до абіотичного й біотичного стресу. Виявлено, що екстракти морських водоростей прискорюють ріст рослин, розвиток коренів і поглинання поживних речовин, підвищують стійкість до засолення і посухи [2, 3]. Зокрема Khan et al. [2] зазначали, що продукти, отримані з морських водоростей, можна широко використовувати як доповнення в системах рослинництва завдяки наявності низки сполук, які стимулюють ріст рослин. Дослідження були зосереджені на механізмі їхньої дії та особливих перевагах для здоров'я людей.

Іншим прикладом є гумінові кислоти, які є природними органічними сполуками, що містяться в ґрунті та рослинах. Доведено, що ці сполуки покращують ріст і розвиток рослин, збільшують поглинання поживних речовин і підвищують стресостійкість рослин [4–6]. Разом з тим досі остаточно не з'ясовані специфічні механізми дії цих сполук [7]. За обробки рослин спостерігалися зміни первинного та вторинного метаболізму, хоча вони дуже залежали від таких чинників, як умови середовища й вид рослини. Застосування новітніх методів дослідження, зокрема використання протеоміки та визначення активності генів, демонстрували дещо суперечливі моделі експресії генів у оброблених рослинах [4]. Водночас проведено серію аналізів, включно фенотипні й агрономічні спостереження, вимірювання фізіологічної, біохімічної та ферментативної активності, аналіз експресії генів, залучених до антиоксидантного захисту (*SICu/ZnSOD*,

*SIFeSOD*, *SICAT1*, *SlcAPX*), метаболізму азоту (*SINR*, *SINiR*, *SIGTS1*) і проліну (*p5CS*), транспортерів калію (*HKT1.1*, *HKT1.2*) і генів, активність яких індукуюється стресом (*SIWRKY8*, *SIWRKY31*), та встановлено стимулювальну роль комплексного біостимулятора [8]. Chen et al. [9] запропонували гіпотезу, яка припускає, що прискорення росту рослин є результатом покращення доступності мікроелементів, зокрема Fe.

Біостимулятори можуть посилювати у рослинах синтез флавоноїдів, які є вторинними метаболітами, що виробляються рослинами та відіграють важливу роль у рості й розвитку рослин, захисті від стресових чинників, таких як УФ-випромінювання, шкідники й хвороби. Флавоноїди, які синтезуються у рослинах, важливі також для здоров'я людини, оскільки мають антиоксидантні й протизапальні властивості, знижують ризик хронічних захворювань [10].

Показано, що за позакореневої обробки біостимулятором рослин календули їхня висота і вміст флавоноїдів збільшувалися [11]. Проведено дослідження дії біостимуляторів на основі амінокислот у поєднанні з фільтратом *Ascophyllum nodosum* на синтез поліфенолів у рослинах броколі [12]. Встановлено, що застосування біостимуляторів істотно збільшило загальний вміст поліфенолів, синапінової кислоти та флавоноїду кверцетину. Giordano et al. [13] оцінили ефективність дії біостимуляторів рослинного походження (гідролізат протеїну бобового походження Trainer® (PH) і екстракт з тропічних рослин Аухум®) на двох сортах салату за морфологічними й біохімічними ознаками. Таке застосування може підвищити врожайність і якість салату через стимуляцію фізіологічних процесів рослин, зокрема збільшення вмісту поліфенолів (кавова й інші феноксикислоти) та флавоноїдів (кверцетин-3-О-глюкуронід, кверцетин-3-О-глюкозид). Водночас Zuzunaga-Rosas et al. [14] не спостерігали істотних впливів застосування біостимуляторів на синтез фенольних сполук і флавоноїдів у рослинах томатів. Механізми, покладені в основу впливу біостимуляторів на синтез флавоноїдів, ще повністю не вивчені. Проте існує думка, що ці сполуки можуть діяти як стимулятори метаболізму рослин і поглинання поживних речовин та індуктори зміни в експресії генів і сигнальних шляхах. Загалом здатність біостимуляторів посилювати синтез флавоноїдів у рослинах має важливе значення як для росту рослин, так і для здоров'я людини.

Одним із перспективних біостимуляторів, що містить комплекс сполук природного походження, є альгінат — органічно-бітумінозна порода з різними органічними й неорганічними компонентами, які відкладалися разом із глинами під час поствулканічних викидів упродовж давніх геологічних епох [15]. Альгінат був знайдений у Словаччині в Маарі поблизу с. Пінціна на північний схід від м. Лученець [16]. Дослідження альгінату та його впливу на ріст рослин проводили кілька дослідницьких груп [17—21], які встановили його позитивний вплив на ріст різних сільськогосподарських культур.

Метою нашої роботи було дослідити особливості впливу в умовах *in vitro* одноразового підживлення рослин салату розчином альгінату, що містив гумінові кислоти.

## Методика

*Вирощування рослин.* Продукт ALGEXr-2 із природного альгініту був створений дослідницькою групою з Інституту агрономічних наук факультету агробіології та харчових ресурсів Словацького аграрного університету в Нітрі. Використовували екстракт, отриманий вказаною групою з подрібненого альгініту з Пінціни (село у громаді округу Лученець Банськобистрицького краю, центральна Словаччина) за допомогою екстракційного розчину, що містив суміш декагідрату пірофосфату натрію та гідроксиду натрію з подальшим відновленням (5 : 1). Наданий екстракт розбавляли до концентрації 1 % деіонізованою водою та стерилізували крізь мембранний фільтр з діаметром пор 0,2 мкм (Sartorius, Minisart) для отримання тестового розчину.

Для проведення експериментів насіння салату сорту Кучерявець одеський (Елітсортнасіння, Україна) стерилізували 1 %-м розчином «Полідез» (ТОВ НТЦ «Вербена», Україна) упродовж 20 хв, промивали стерильною дистильованою водою і висаджували на агаризоване поживне середовище (1/2 МС) у чашки Петрі (100 мм діаметром). Після появи проростків на поверхню середовища під корінь вносили по 10, 20 та 30 мкл 1 %-го водного розчину екстракту з альгініту (відповідно зразки 2, 3, 4). Рослини культивували за температури 24 °С упродовж двох місяців.

Через 60 діб після добавляння розчину альгініту рослини виокремлювали з середовища, промивали дистильованою водою, зважували. Для оцінки впливу альгініту визначали масу сирої речовини коренів, масу сирої речовини надземної частини рослин, питомий вміст флавоноїдів; загальний вміст флавоноїдів, антиоксидантну активність (за DPPH-тестом).

Проводили також регресійно-кореляційний аналіз між вмістом флавоноїдів і антиоксидантною активністю (АОА).

*Визначення загального вмісту флавоноїдів.* Вміст флавоноїдів визначали за методикою, модифікованою нами раніше [22]. Пагони і корені рослин гомогенізували в 70 %-му етанолі. Отримані екстракти центрифугували упродовж 10 хв за 14000 об/хв (Eppendorf Centrifuge 5415C). Надосадову рідину використовували для визначення вмісту флавоноїдів. Оптичну густину зразків вимірювали за 510 нм спектрофлюориметром Fluorat-02 Рапогата. Вміст флавоноїдів розраховували за калібрувальним графіком:  $C = 2,193D$  ( $R^2 = 0,935$ ). Питомий вміст флавоноїдів виражали в міліграмах на грам сирої речовини в еквіваленті рутину (мг RE/г FW). Загальний вміст флавоноїдів виражали в міліграмах на загальну масу сирої речовини рослин у еквіваленті рутину (мг RE).

*Визначення антиоксидантної активності.* Рослинні екстракти, отримані для визначення вмісту флавоноїдів, використовували для аналізу антиоксидантної активності з використанням 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразил радикалу (ДФПГ, Sigma) за методом, описаним раніше [23]. Оптичну густину суміші визначали за 515 нм на спектрофотометрі «Рапогата Fluorate-2». Здатність відновлювати ДФПГ-радикал визначали за формулою:

$$RSA = 100 (A_0 - A_1)/A_0$$

де  $A_0$  — абсорбція ДФПГ;  $A_1$  — абсорбція зразка в реакції.

Еквівалентну концентрацію ( $EC_{50}$ ) розраховували як відповідну масу рослинного матеріалу, необхідну для отримання екстракту з 50 %-м рівнем інгібування ДФПГ.

*Статистичний аналіз.* Усі аналізи проводили в трьох повтореннях. Дані були проаналізовані на статистичну значущість за допомогою багатофакторного та однофакторного дисперсійного аналізів з наступним тестом Тьюкі. Значення вважалися значущими за  $p < 0,05$ . Метод лінійної регресії застосовували для розрахунку калібрувальної залежності концентрації рутину від оптичної густини та визначення антиоксидантної активності встановленням співвідношення між RSA та масою екстракту на лінійних інтервалах кривих (для даних, де  $RSA < 75\%$ ). Результати були представлені як середнє та стандартна похибка (SE).

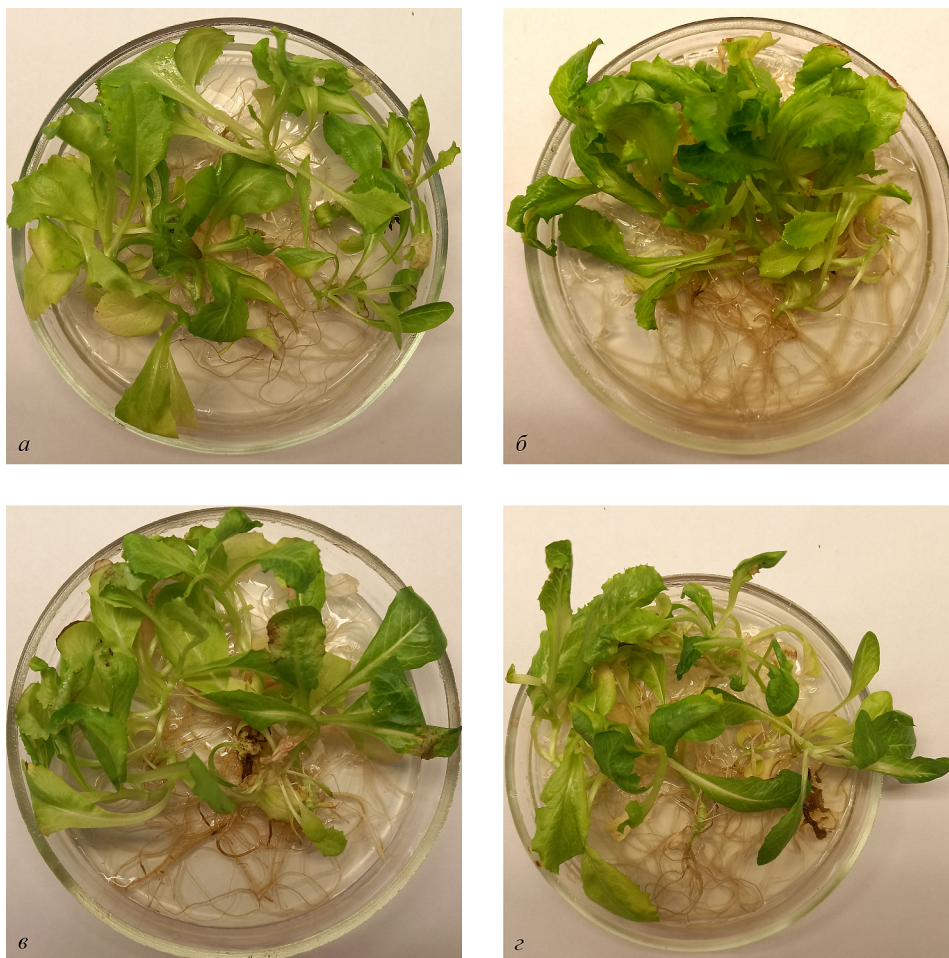
### Результати та обговорення

Встановлено, що додавання альгініту не впливало на ріст коренів, однак сприяло росту пагонів рослин салату, що позначалося на збільшенні маси пагонів рослин, особливо за використання більшої концентрації альгініту (рис. 1, 2). Це було підтверджено однофакторним дисперсійним аналізом, проведеним окремо для пагонів та коренів: вплив альгініту на приріст маси сирової речовини пагонів був значущим ( $p < 0,01$ ).

Так, маса коренів однієї рослини у контролі (1) та дослідних зразках (2, 3 і 4) становила відповідно  $0,11 \pm 0,01$ ,  $0,14$ ,  $0,13$  та  $0,13$  г. У тих самих варіантах маса пагонів становила у контролі (1) та дослідних варіантах (2, 3 та 4) відповідно  $0,41 \pm 0,04$ ,  $0,63 \pm 0,02$ ,  $0,62 \pm 0,04$  та  $0,78 \pm 0,09$  г. Як видно на рис. 2, маса пагонів рослин, особливо у варіанті 3, значно перевищувала такий параметр контрольних рослин, що засвідчує наявність стимулювального впливу тестового розчину на ріст рослин салату.

Багатофакторний дисперсійний аналіз показав значущий вплив добавляння альгініту ( $p < 10^{-5}$ ) на питомий вміст флавоноїдів в органах рослин салату та відсутність значущих розбіжностей у вмісті цих сполук у коренях і пагонах контрольних рослин ( $p < 0,2$ ). Однофакторний дисперсійний аналіз, проведений окремо для пагонів і коренів, показав, що позитивний вплив альгініту на вміст флавоноїдів є значущим ( $p < 10^{-4}$  та  $p < 0,01$  відповідно) у коренях і пагонах рослин салату.

Як видно на рис. 3, у рослинах, які культивували на середовищі з додаванням альгініту, вміст флавоноїдів був значно вищий, ніж у контролі. Зокрема, питомий вміст флавоноїдів у коренях і пагонах контрольних рослин становив  $3,08 \pm 0,37$  та  $3,04 \pm 0,05$  мг РЕ/г. Вміст сполук у коренях дослідних рослин варіантів 2, 3 і 4 був у 2,12, 2,04 та 2,08 рази більший, ніж у контрольних коренях. Питомий вміст флавоноїдів у пагонах перевищував цей показник у контролі відповідно в 1,81, 2,27 і 1,68 рази.

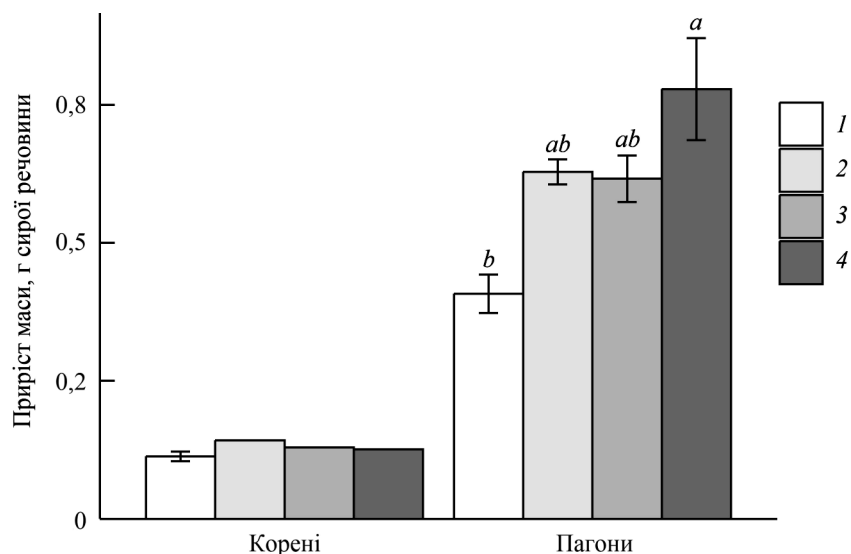


**Рис. 1.** Ріст рослин салату на середовищі ( $\frac{1}{2}$  MS) з додаванням 1 %-го розчину ALGEXr-2 з альгінату:

*a* — контроль (без альгінату), *б* — 10 мкл на рослину, *в* — 20 мкл, *г* — 30 мкл

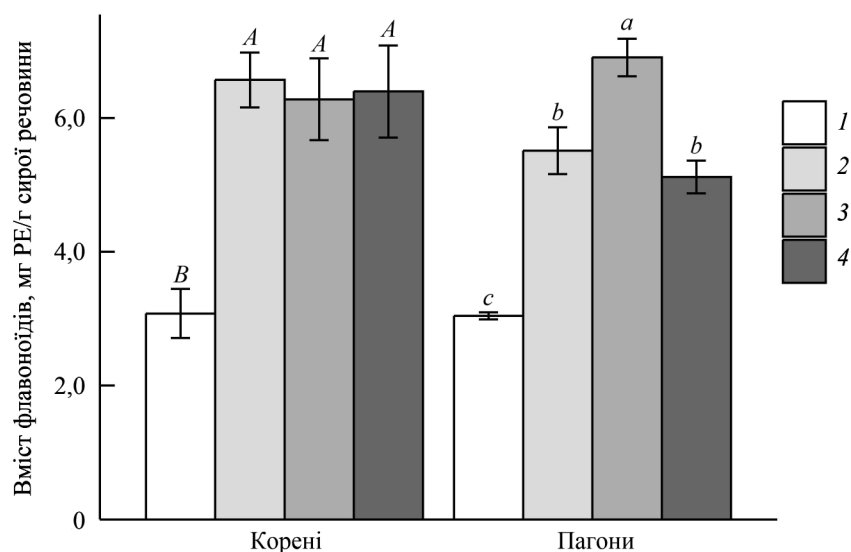
У той самий час не спостерігали значущих відмінностей у питомому вмісті флавоноїдів у коренях рослин трьох дослідних варіантів. Прослідковується лише значуще збільшення вмісту флавоноїдів у пагонах рослин дослідного варіанта 3 (альгінат, 20 мкл на рослину) порівняно з іншими двома дослідними варіантами (10 та 30 мкл на рослину). Отже, збільшення об'єму застосування тестового розчину практично не впливало на питомий вміст флавоноїдів у коренях і лише частково впливало на його збільшення у пагонах.

Важливим параметром оцінювання біосинтетичної активності, зважаючи на ростову активність, є загальний вміст флавоноїдів, який показує валову кількість флавоноїдів, що накопичилися у рослині за період вирощування. Багатофакторний дисперсійний аналіз показав значущий вплив додавання альгінату ( $p < 10^{-3}$ ) на загальний вміст флавоноїдів у рослинах салату та значущі розбіжності у накопиченні флавоноїдів у коренях і пагонах ( $p < 10^{-8}$ ). Однофакторний дисперсійний аналіз, проведений окремо для пагонів і коренів, показав,



**Рис. 2.** Вплив альгінату на приріст маси сирієї речовини (60 діб) рослин салату (коренів і пагонів), культивованих *in vitro*. Тут і на рис. 3–6:

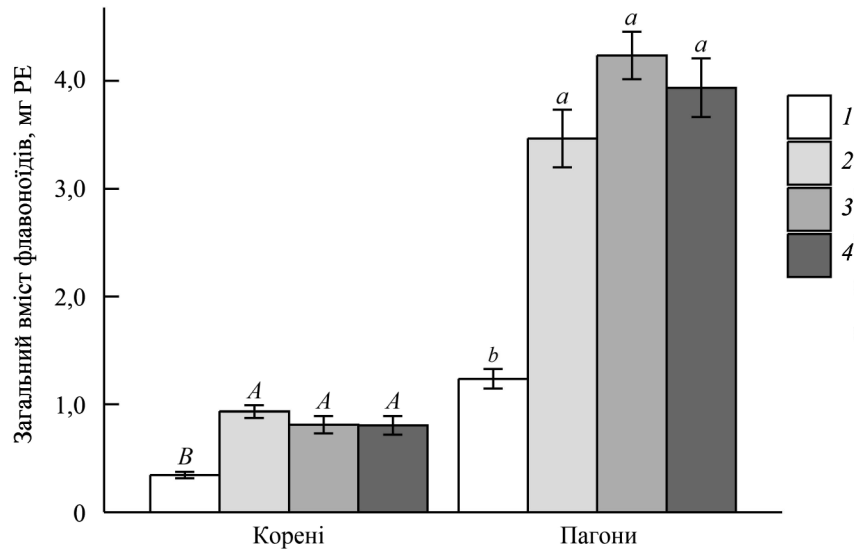
1 – контроль (без альгінату); 2 – на середовищі з додаванням 10 мкл 1 %-го екстракту ALGEXГ-2 з альгінату на рослину; 3 – на середовищі з додаванням 20 мкл того самого розчину; 4 – на середовищі з додаванням 30 мкл того самого розчину. Однакові літери вказують на відсутність значущих відмінностей



**Рис. 3.** Питомий вміст флавоноїдів (мг РЕ/г сирієї речовини) у рослинах салату, культивованих *in vitro*. Прописними та строчними літерами позначені різні незалежні порівняння

що вплив альгінату на загальний вміст флавоноїдів також значущий ( $p < 10^{-4}$  та  $p < 0,01$  відповідно).

Зважаючи на значно більшу масу пагонів, загальний вміст флавоноїдів у них був найбільший (рис. 4). Так, у пагонах контрольних рослин було накопичено за час вирощування  $1,24 \pm 0,09$  мг флавоноїдів, а у експериментальних варіантах 2, 3 і 4 – відповідно у 2,81,



**Рис. 4.** Загальний вміст флавоноїдів (мг РЕ у загальній масі сирової речовини) у рослинах салату, культивованих *in vitro*

3,43 та 3,19 раза більше. Отже, додавання альгініту до поживного середовища не тільки сприяло росту рослин і збільшенню маси сирової речовини пагонів, а й активізувало синтез флавоноїдів, що позначилося на збільшенні показників як питомого вмісту флавоноїдів (на одиницю маси), так і загального вмісту.

Багатофакторний дисперсійний аналіз показав, що вплив додавання альгініту ( $p < 10^{-10}$ ) на антиоксидантну активність отриманих рослинних екстрактів був більш значущим, ніж джерело таких екстрактів, як корені чи пагони ( $p < 10^{-3}$ ). Однофакторний дисперсійний аналіз, проведений окремо для пагонів і коренів, довів, що вплив додавання альгініту на антиоксидантну активність був значущим як для кореневих ( $p < 10^{-8}$ ), так і пагонових екстрактів ( $p < 0,01$ ), проте кількість доданого екстракту значення не мала.

Оскільки параметри  $EC_{50}$ , які характеризують антиоксидантну активність екстрактів у реакції з розчином ДФПГ, були значно меншими у всіх експериментальних варіантах порівняно з контролем (рис. 5), можна стверджувати, що одноразове оброблення салату альгінітом підвищувало антиоксидантну активність. Так, показник  $EC_{50}$  у коренях рослин дослідних варіантів 2, 3 і 4 був меншим, ніж у контролі відповідно в 2,32, 2,81 та 2,42 раза, а у пагонах — у 1,95, 1,64 й 1,60 раза.

Отримані результати свідчать про стимулювальний ефект альгініту щодо синтезу флавоноїдів і підвищення антиоксидантної активності, що становить практичний інтерес. Відомо, що антиоксиданти, у тому числі ті, що синтезуються у рослинах, уможливають захист клітин від пошкодження, спричиненого вільними радикалами. Рослини виробляють антиоксиданти як частину своїх захисних механізмів від дії негативних чинників навколишнього середовища, таких як УФ-випромінювання та патогени. Водночас нашими



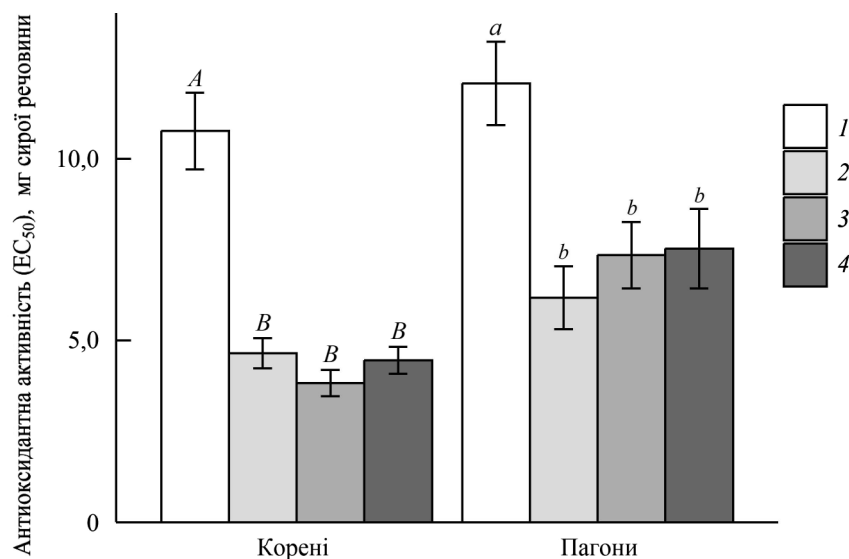
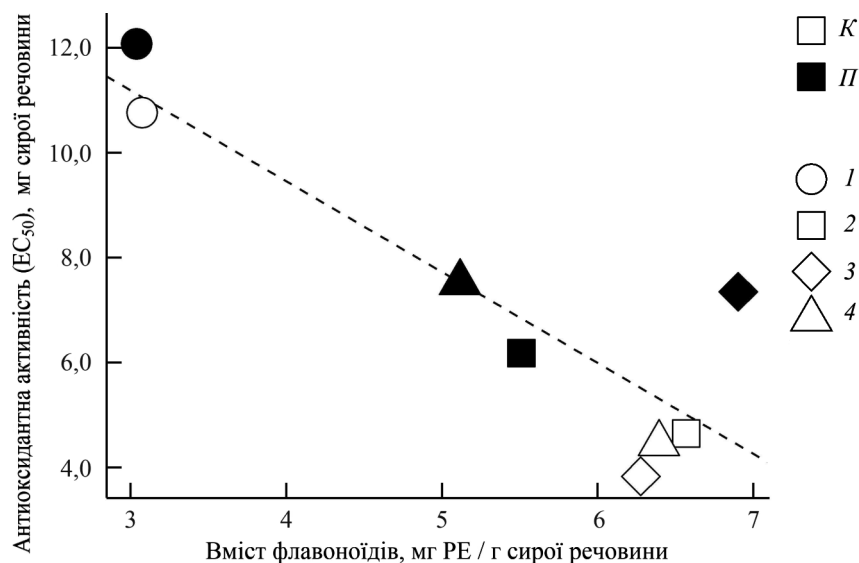


Рис. 5. Антиоксидантна активність екстрактів з рослин салату, культивованих *in vitro*

дослідженнями встановлено, що добавляння альгінату до середовища також сприяло підвищенню вмісту флавоноїдів і рівня антиоксидантної активності, збільшуючи таким чином корисні якості рослин салату.

Регресійно-кореляційний аналіз показав високий ступінь лінійної залежності ( $R^2 = 0,78$ ) антиоксидантної активності екстрактів салату від питомого вмісту флавоноїдів у цих екстрактах. Ця залежність може бути апроксимована рівнянням  $y = 16,39 - 1,73x$ . Як видно на рис. 6, екстракти з коренів і пагонів салату, що ріс без альгінату, значно відрізняються від інших як за питомим вмістом флавоноїдів, так і антиоксидантною активністю (АОА). Розбіжності між середніми значеннями як питомого вмісту флавоноїдів, так і АОА кореневих екстрактів незначні, що підтверджується тестом Тьюкі. Для дослідних екстрактів із пагонів спостерігався ширший розмах обох цих показників і менша АОА. Складно припустити, що відхилення варіанта 3 (без цієї точки  $y = 17,90 - 2,11x$ ,  $R^2 = 0,97$ ) від регресійної прямої зумовлено збігом трьох малоймовірних подій, оскільки дисперсії як для питомого вмісту флавоноїдів, так і антиоксидантної активності достатньо малі. Найімовірніше причиною є відмінний склад флавоноїдів у екстракті або наявність інших речовин, що зменшують їхню антиоксидантну активність.

Отже, результати дослідження свідчать про значну стимулювальну дію екстракту альгінату. Незважаючи на відсутність відмінностей у рості кореневої системи контрольних і дослідних рослин, виявлено збільшення маси сирової речовини рослин, які одноразово підживили тестовим розчином з альгінату. Зокрема, за використання 30 мкл тестового розчину маса пагонів була в 1,9 раза більша за масу контрольних рослин салату. Крім того, одноразова аплікація тестового розчину збільшувала питомий вміст флавоноїдів (максимально) у коренях з 3,07 до 6,28–6,57 та у пагонах — з 3,04 до 5,12–6,90 мг РЕ/г



**Рис. 6.** Регресійно-кореляційний аналіз зв'язку між питомим вмістом флавоноїдів та антиоксидантною активністю екстрактів із коренів (*K*) та пагонів (*II*) салату

сирої речовини. Збільшився також загальний вміст флавоноїдів як у коренях, так і у пагонах рослин. Таке збільшення питомого вмісту флавоноїдів корелювало з підвищенням рівня антиоксидантної активності, визначеної за здатністю екстрактів з рослин інгібувати активність ДФПГ-радикалу, що підтверджено результатами регресійно-кореляційного аналізу залежності між питомим вмістом флавоноїдів та антиоксидантною активністю.

Виявлений ефект вочевидь пов'язаний з тим, що використаний екстракт, як було показано раніше [17], містить гумінові кислоти. Ці компоненти досить давно відомі як стимулятори росту рослин. Зокрема, показано їхній позитивний вплив на проростання насіння, укорінення та загальну біомасу рослин дині, райграсу й сої [9]. В інших дослідженнях встановлено, що гумінові кислоти покращували поглинання Fe і, можливо, Zn в оброблених рослинах і сприяли росту коренів [24].

Аналогічний ефект щодо позитивного впливу біостимуляторів на ріст рослин спостерігали у низці експериментів [5, 24–26]. Крім того, показано, що біостимулятори вплинули на антиоксидантну активність оброблених рослин [27] і запобігли негативному впливу окиснювального стресу на рослини [28–30].

Альгінат також досліджували як біостимулятор, що підвищує антиоксидантну активність і продуктивність рослин [19, 31, 32]. Згідно з результатами, отриманими вченими зі Словацького аграрного університету в Нітрі, обробка трави (*Liga*, *Midi*, *Renova* св., локалізація — Словаччина) екстрактом альгінату, який містив гумінові кислоти, збільшувала біомасу рослин. Аналогічна обробка збільшила масу плодів *Cucurbita pepo* L. var. *oleifera*. Обробка листків збільшила урожайність рослин *Triticum aestivum* L. та *Avena sativa* L. (місцевість *Viglas-Pstrusa*) (науковий звіт «Характеристики обробки альгінатними

продуктами в сільському господарстві», Нітра, 2022 р., керівник Я. Бриндза, Словацький аграрний університет у Нітрі).

Таким чином, встановлено позитивний вплив додавання екстракту з альгінату на ріст рослин салату в умовах *in vitro*, а також здатність цього розчину підвищувати вміст флавоноїдів у екстрактах з цих рослин і рівень антиоксидантної активності. Проведення досліджень у стерильних умовах виключило можливість як безпосереднього впливу ґрунтової мікрофлори на ріст рослин, так і опосередкованого впливу альгінату на рослини через ґрунтові мікроорганізми. Отримані результати можна використати для розроблення технології обробки рослин салату екстрактом з альгінату як біостимулятором рослин з метою підвищення їх харчової цінності.

Дослідження було частково підтримано Вишеградським фондом, грант № 52210687.

#### REFERENCES

1. Drobek, M., Fraç, M. & Cybulska, J. (2019). Plant Biostimulants: Importance of the Quality and Yield of Horticultural Crops and the Improvement of Plant Tolerance to Abiotic Stress—A Review. *Agronomy*, 9, No. 6, p. 335. <https://doi.org/10.3390/agronomy9060335>
2. Khan, W., Rayirath, U.P., Subramanian, S., Jithesh, M.N., Rayorath, P., Hodges, D.M., Critchley, A.T., Craigie, J.S., Norrie, J. & Prithiviraj, B. (2009). Seaweed Extracts as Biostimulants of Plant Growth and Development. *Journal of Plant Growth Regulation*, 28, No. 4, pp. 386-399. <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9103-x>
3. Craigie, J.S. (2011). Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *Journal of Applied Phycology*, 23, No. 3, pp. 371-393. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9560-4>
4. Canellas, L.P., Olivares, F.L., Okorokova-Façanha, A.L. & Façanha, A.R. (2002). Humic Acids Isolated from Earthworm Compost Enhance Root Elongation, Lateral Root Emergence, and Plasma Membrane H<sup>+</sup>-ATPase Activity in Maize Roots. *Plant Physiology*, 130, No. 4, pp. 1951-1957. <https://doi.org/10.1104/pp.007088>
5. Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A. & Vianello, A. (2002). Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology and Biochemistry*, 34, No. 11, pp. 1527-1536. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(02\)00174-8](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(02)00174-8)
6. Trevisan, S., Francioso, O., Quaggiotti, S. & Nardi, S. (2010). Humic substances biological activity at the plant-soil interface. *Plant Signaling & Behavior*, 5, No. 6, pp. 635-643. <https://doi.org/10.4161/psb.5.6.11211>
7. Ampong, K., Thilakaranthna, M.S. & Gorim, L.Y. (2022). Understanding the Role of Humic Acids on Crop Performance and Soil Health. *Frontiers in Agronomy*, 4, p. 10. <https://doi.org/10.3389/fagro.2022.848621>
8. Gedeon, S., Ioannou, A., Balestrini, R., Fotopoulos, V. & Antoniou, C. (2022). Application of Biostimulants in Tomato Plants (*Solanum lycopersicum*) to Enhance Plant Growth and Salt Stress Tolerance. *Plants*, 11, No. 22, pp. 3082. <https://doi.org/10.3390/plants11223082>
9. Chen, Y., Clapp, C.E. & Magen, H. (2004). Mechanisms of plant growth stimulation by humic substances: The role of organo-iron complexes. *Soil Science and Plant Nutrition*, 50, No. 7, pp. 1089-1095. <https://doi.org/10.1080/00380768.2004.10408579>
10. Ullah, A., Munir, S., Badshah, S.L., Khan, N., Ghani, L., Poulson, B.G., Emwas, A.-H. & Jaremko, M. (2020). Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. *Molecules*, 25, No. 22, p. 5243. <https://doi.org/10.3390/molecules25225243>
11. Machado, V.P. de O., Pacheco, A.C. & Carvalho, M.E.A. (2014). Effect of biostimulant application on production and flavonoid content of marigold (*Calendula officinalis* L.). *Revista Ceres*, 61, No. 6, pp. 983-988. <https://doi.org/10.1590/0034-737X201461060014>

12. Kałużewicz, A., Gąsecka, M. & Spizewski, T. (2017). Influence of biostimulants on phenolic content in broccoli heads directly after harvest and after storage. *Folia Horticulturae*, 29, No. 2, pp. 221-230. <https://doi.org/10.1515/fhort-2017-0020>
13. Giordano, M., El-Nakhel, C., Carillo, P., Colla, G., Graziani, G., Mola, I. Di, Mori, M., Kyriacou, M.C., Roupheal, Y., Soteriou, G.A. & Sabatino, L. (2022). Plant-Derived Biostimulants Differentially Modulate Primary and Secondary Metabolites and Improve the Yield Potential of Red and Green Lettuce Cultivars. *Agronomy*, 12, No. 6, pp. 1361. <https://doi.org/10.3390/agronomy12061361>
14. Zuzunaga-Rosas, J., González-Orenga, S., Tofei, A.M., Boscaiu, M., Moreno-Ramón, H., Ibáñez-Asensio, S. & Vicente, O. (2022). Effect of a Biostimulant Based on Polyphenols and Glycine Betaine on Tomato Plants' Responses to Salt Stress. *Agronomy*, 12, No. 9, pp. 2142. <https://doi.org/10.3390/agronomy12092142>
15. Kulich, J., Valko, J. & Obernauer, D. (2001). Perspective Of Exploitation Of Alginite In Plant Nutrition. *Journal of Central European Agriculture*, 2, No. 34, pp. 199-206.
16. Vass, D., Konečný, V., Elečko, M., Milička, J., Snopková, P., Šucha, V., Kozač, J. & Škrabana, R. (1997). Alginite — a new resource of the Slovak industrial minerals potential. *Mineralia Slovaca*, 29, No. 1, pp. 1-39.
17. Barančíková, G., Klučáková, M., Madaras, M., Makovníková, M. & Pekař, M. (2003). Comparison of chemical structure of humic acids isolated from various soil types and lignite. Humic Substances in the Environment, 3, No. 1/2, pp. 3-8.
18. Brindza, J., Horcinová Sedláčková, V. & Grygorieva, O. (2021). Active effects of less known bituminous rock alginite on the biological processes of *Solanum lycopersicum* L. *Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection* pp. 26-29.
19. Brindza, J., Vozár, Ľ., Miko, M., Gažo, J., Kovár, P., Sedláčková, V.H. & Grygorieva, O. (2021). Unique Effects of Alginite as a Bituminous Rock on Soil, Water, Plants and Animal Organisms — Review. *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality*, 5, No. 1, pp. 169-184. <https://doi.org/10.15414/ainhlq.2021.0016>
20. Gümürçüoğlu, E., Vass, D., Pichler, V. & Gümürçü, D. (2009). Effect of alginite amendment on microbial activity and soil water content in forest soils. *Biologia*, 64, No. 3, pp. 585-588. <https://doi.org/10.2478/s11756-009-0081-z>
21. Kropp, A., Unz, S., Beckmann, M., Schmidt, A., Guhl, A.C., Bertau, M., Knoblich, A. & Heide, G. (2021). Regeneration Potential of Alginite for the Depletion of Organic Contaminants from Wastewater. *Chemie Ingenieur Technik*, 93, No. 3, pp. 447-455. <https://doi.org/10.1002/cite.202000099>
22. Matvieieva, N., Drobot, K., Duplij, V., Ratushniak, Y., Shakhovskiy, A., Kyrpan-Nesmiian, T., Mickevičius, S. & Brindza, J. (2019). Flavonoid content and antioxidant activity of *Artemisia vulgaris* L. «hairy» roots. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 49, No. 1, pp. 82-87. <https://doi.org/10.1080/10826068.2018.1536994>
23. Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology*, 28, No. 1, pp. 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
24. Jindo, K., Martim, S.A., Navarro, E.C., Pérez-Alfocea, F., Hernandez, T., Garcia, C., Aguiar, N.O. & Canellas, L.P. (2012). Root growth promotion by humic acids from composted and non-composted urban organic wastes. *Plant and Soil*, 353, No. 12, pp. 209-220. <https://doi.org/10.1007/S11104-011-1024-3>
25. Kim, H.-J., Ku, K.-M., Choi, S. & Cardarelli, M. (2019). Vegetal-Derived Biostimulant Enhances Adventitious Rooting in Cuttings of Basil, Tomato, and Chrysanthemum via Brassinosteroid-Mediated Processes. *Agronomy*, 9, No. 2, p. 74. <https://doi.org/10.3390/agronomy9020074>
26. Tužinský, M., Kupka, I., Podrázský, V. & Prknová, H. (2015). Influence of the mineral rock alginite on survival rate and re-growth of selected tree species on agricultural land. *Journal of Forest Science*, 61, No. 9, pp. 399-405. <https://doi.org/10.17221/11/2015-JFS>
27. Zhu, K., Zhou, H. & Qian, H. (2006). Antioxidant and free radical-scavenging activities of wheat germ protein hydrolysates (WGPH) prepared with alcalase. *Process Biochemistry*, 41, No. 6, pp. 1296-1302. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.12.029>
28. Omidbakhshfard, M.A., Sujeeth, N., Gupta, S., Omranian, N., Guinan, K.J., Brotman, Y., Nikoloski, Z., Fernie, A.R., Mueller-Roeber, B. & Gechev, T.S. (2020). A Bio-

- stimulant Obtained from the Seaweed *Ascophyllum nodosum* Protects *Arabidopsis thaliana* from Severe Oxidative Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, No. 2, p. 474. <https://doi.org/10.3390/ijms21020474>
29. Çimrin, K.M., Türkmen, Ö., Turan, M. & Tuncer, B. (2013). Phosphorus and humic acid application alleviate salinity stress of pepper seedling. *African Journal of Biotechnology*, 9, No. 36, pp. 5845-5851. <https://doi.org/10.4314/ajb.v9i36>
30. Nephali, L., Piater, L.A., Dubery, I.A., Patterson, V., Huysen, J., Burgess, K. & Tugizimana, F. (2020). Biostimulants for Plant Growth and Mitigation of Abiotic Stresses: A Metabolomics Perspective. *Metabolites*, 10, No. 12, p. 505. <https://doi.org/10.3390/metabo10120505>
31. Horčinová Sedláčková, V., Šimková, J., Mnahončáková, E., Hruzová, M., Kovár, P., Vozár, Ľ. & Hric, P. (2021). Effect of Alginite in the Form of ALGEXr 6 Preparation on the Biomass Formation and Antioxidant Activity of Some Medicinal Plants. *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality*, 5, No. 1, pp. 80-94. <https://doi.org/10.15414/ainhql.2021.0009>
32. Eftimová, J., Petrovič, V. & Vodhanel, V. (2021). Effect of Alginite on Some Antioxidant Indexes in Extracts of Two Variants of *Mentha* and Their Toxicity. *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality*, 5, No. 2, pp. 315-321. <https://doi.org/10.15414/ainhql.2021.0030>

Received 15.05.2023

#### THE EFFECT OF ALGINITE ON THE GROWTH AND BIOACTIVITY OF LETTUCE PLANTS IN VITRO

*N. Matvieieva*<sup>1</sup>, *V. Duplij*<sup>1,2</sup>, *T. Bohdanovych*<sup>1</sup>, *Ľ. Vozár*<sup>3</sup>, *P. Kovár*<sup>3</sup>, *P. Hric*<sup>3</sup>, *J. Brindza*<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine

148 Akademika Zabolotnogo, St., Kyiv, 03143, Ukraine

e-mail: [duplijv@icbge.org.ua](mailto:duplijv@icbge.org.ua)

<sup>2</sup>Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine  
31/17 Vasylkivska, St., Kyiv, 03022, Ukraine

<sup>3</sup>Slovak University of Agriculture in Nitra

2 Trieda Andreja Hlinku, Nitra, 94976, Slovak Republic

Biostimulants, which improve plant growth and increase their resistance to adverse environmental factors, are important agents for agricultural producers. Alginite rock, containing a complex of compounds of natural origin, is one of these biostimulants. The product ALGEXr-2, an extract from crushed natural alginite, was created at the Institute of Agronomic Sciences of the Faculty of Agrobiological and Food Resources of the Slovak Agricultural University in Nitra. In our work, we used a 1 % ALGEXr-2 solution, which was applied in the amount of 10, 20, or 30 ml to *Lactuca sativa* L. plants of the «Odessky kucheravets» variety grown *in vitro*. The root and shoot weight, as well as the flavonoid content and antioxidant activity, were determined. The positive effect of the alginite extract addition on the lettuce plant growth *in vitro* was revealed, as well as the ability of this solution to increase the flavonoid content in extracts from plants and the level of their antioxidant activity. The addition of alginite did not affect the root growth but increased the shoot weight by 1.5–1.9 times. The flavonoid content was significantly higher in the plants cultivated on the medium with alginite addition than in the control. In particular, the flavonoids specific content in the roots and shoots of control plants was  $3.08 \pm 0.37$  and  $3.04 \pm 0.05$  mg PE/g, and in the roots of the experimental plants was 2.04–2.12 times higher than in control. The specific content of flavonoids in the shoots exceeded this parameter in control by 1.68–2.27 times, depending on the amount of added alginite extract. Regression-correlation analysis showed a high degree of linear dependence of the lettuce extracts antioxidant activ-

ity (according to the parameter of equivalent concentration  $EC_{50}$ ) on the specific content of flavonoids in them. Conducting research in sterile conditions made it possible to rule out, both the influence of soil microflora on plant growth and the possibility of alginite impact on microorganisms. The obtained results can be used to develop the technology of treatment lettuce plants with alginite extract as a plant biostimulator to increase their nutritional value.

*Key words:* *Lactuca sativa* L., alginite, growth, flavonoids, antioxidant activity.

**ORCID**

**Н. МАТВЄЄВА** — Nadiia Matvieieva <https://orcid.org/0000-0002-4877-5222>

**В. ДУПЛІЙ** — Volodymyr Duplij <https://orcid.org/0000-0002-7479-7257>

**Т. БОГДАНОВИЧ** — Taisa Bohdanovych <https://orcid.org/0000-0002-1834-523X>

**Л. ВОЗАР** — Lubos Vozar <https://orcid.org/0000-0003-0996-6867>

**П. КОВАР** — Peter Kovar <https://orcid.org/0000-0001-8007-3418>

**П. ГРИЦ** — Peter Hric <https://orcid.org/0000-0001-7434-1025>

**Я. БРІНДЗА** — Jan Brindza <https://orcid.org/0000-0001-8388-8233>