

<https://doi.org/10.15407/frg2023.04.314>

УДК 581.1

ФІТОСИНТЕЗ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА З БАКТЕРИЦИДНОЮ ДІЄЮ ПРОТИ ФІТОПАТОГЕННОГО ШТАМУ *XANTHOMONAS CAMPESTRIS* З ВИКОРИСТАННЯМ ВОДНОГО ЕКСТРАКТУ ПЕРИКАРПІЇВ *CAPSICUM ANNUUM*

О.Є. СМІРНОВ^{1,2}, П.П. ЗЕЛЕНА¹, Ю.М. ЮМИНА¹, М.С. КОВАЛЕНКО¹,
Є.О. КОНОТОП¹, Н.Ю. ТАРАН¹, В.В. ШВАРТАУ²

¹Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка

01601 Київ, вул. Володимирська, 64/13

²Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України

03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17

e-mail: plantaphys@gmail.com

Запропоновано ефективний метод фітосинтезу наночастинок срібла з використанням водного екстракту перикарпіїв гострого перцю чилі (*Capsicum annuum* L.) сорту Теджа з бактерицидною активністю проти фітопатогенного збудника родини Brassicaceae *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Екстракт перикарпіїв перевірено на наявність вторинних метаболітів, що можуть бути відновлювачами (біоредукторами) і стабілізаторами. У екстракті виявлено сапоніни, флавоноїди, феноли та алкалоїди. Фітосинтезовані наночастинок срібла досліджували із застосуванням спектроскопії в УФ та видимій частині спектра, розміри та морфологію наночастинок срібла фіксували методом сканувальної електронної мікроскопії. Доведено ефективність фітосинтезованих наночастинок проти росту і розвитку бактеріальної культури *X. campestris* pv. *campestris* у всіх досліджуваних концентраціях (80, 40, 20 мг/л).

Ключові слова: *Capsicum annuum* L., *Xanthomonas campestris*, фітосинтез, наночастинок срібла, бактерицидна активність.

На сьогодні основними методами синтезу наночастинок є різноманітні фізичні та хімічні підходи, які є здебільшого порівняно економічно затратними і небезпечні для навколишнього середовища [1]. Саме тому в останнє десятиліття дослідження екологічно чистого фітосинтезу наночастинок, що є напрямом «зеленої» хімії та не шкодить сталості навколишнього середовища, привертає увагу дедалі більшої кількості вчених [2, 3].

Традиційні фізичні й хімічні методи синтезу наночастинок зазвичай вимагають створення суворих, чітко регламентованих і контрольованих умов, тоді як біогенне відновлення сполук (іонів металів) засноване на використанні простих, безпечних й екологічних

Цитування: Смірнов О.Є., Зелена П.П., Юмина Ю.М., Коваленко М.С., Конотоп Є.О., Таран Н.Ю., Швартау В.В. Фітосинтез наночастинок срібла з бактерицидною дією проти фітопатогенного штаму *Xanthomonas campestris* з використанням водного екстракту перикарпіїв *Capsicum annuum*. *Фізіологія рослин і генетика*. 2023. 55, № 4. С. 314–325. <https://doi.org/10.15407/frg2023.04.314>

процедур за кімнатної температури й атмосферного тиску [4]. Не-оціненне значення наноматеріалів та перспективи їх застосування спонукають до постійного пошуку нових шляхів їх синтезу. Існує багато обмежень, що регулюють екологічні аспекти виробництва нанорозмірних структур, тому більшість сучасних досліджень спрямовані на розроблення «зелених» альтернатив традиційним методам [5].

В останні роки наночастинки срібла, фітосинтезовані з використанням екстрактів з різних органів представників роду *Capsicum*, викликають значний інтерес у дослідників через їхню поліфункціональність [6]. Зокрема, їхня стабільність й активна здатність диспергуватись у водних системах у поєднанні з біологічною сумісністю, бактерицидними властивостями, високою адсорбційною і каталітичною активністю, а також ефективністю застосування в хемо- та біосенсорних системах [7, 8].

Встановлено, що екстракти, збагачені біоактивними речовинами, отримані з плодів (перикарпіїв) різних видів роду *Capsicum* (*C. annuum*, *C. frutescens*, *C. baccatum*, *C. chinense*), можуть слугувати ефективною сировиною для біосинтезу металевих наночастинок. У деяких дослідженнях також застосовують екстракти з тканин листків перцю [9].

Рід *Capsicum* належить до родини Solanaceae і, як вважають, походить із Центральної та/або Південної Америки. Це найчастіше культивована дводольна рослина — незамінна спеція, що є основним інгредієнтом у різних кухнях світу [10, 11]. Перець чилі є культурою, яка має велике народногосподарське значення, зокрема, його плід (перикарпій) широко використовують у традиційній кухні, він надає смак, аромат і колір національним стравам, а також у харчовій, косметичній і фармацевтичній промисловостях [12]. Перець також має потенціал до застосування у фітотерапії й традиційній медицині, оскільки містить такі сполуки, як флавоноїди, аскорбінову кислоту, токоферол, лікопен, мікроелементи [13]. У перикарпіях перцю чилі накопичуються унікальні біоактивні сполуки — капсаїциноїди, з їх протимікробною, антисептичною, протипухлинною, антиподразнювальною активностями, здатністю до стимуляції апетиту, антиоксидантною та імуномодельовальною дією [14].

Бактеріальні хвороби сільськогосподарських культур, спричинені ксантомонадами (*Xanthomonas* spp.), завдають великої шкоди агрови-робництву [15, 16]. Хімічні бактерициди відіграють життєво важливу роль у боротьбі з цими захворюваннями. Для контролю бактерій використовують антибіотики (стрептоміцин, окситетрациклін та ін.); штами мікроорганізмів, наприклад, *Bacillus pumilus* strain QST 2808, *B. subtilis* штам QST 713, *B. amyloliquefaciens* штам D747, *Agrobacterium radiobacter*; препарати міді (від сульфату міді до гідроксиду міді, бордоської рідини та оксихлориду міді); органічні кислоти (цитрат то-що); вибрані фунгіциди (манеб та ін.); високотоксичні ґрунтові фу-міганти (метилбромід, хлорпикрин). Крім недостатньої активності хімічних бактерицидів слід відзначити їх негативний вплив на еко-системи. Внаслідок вироблення резистентності бактерій до бактери-цидних препаратів використання хімічних бактерицидів сьогодні об-межене, а для більшості відомих бактерицидів реєстрацію припинено

[17, 18]. Для боротьби з *Xanthomonas* spp. намагалися використовувати бактерії-антагоністи, але інгібувальний ефект значною мірою залежить від стану середовища екосистеми та зовнішніх чинників [19, 20]. Тому останнім часом наночастинки срібла привернули значну увагу через їх застосування в галузі сільського господарства, оскільки вони здатні пригнічувати розвиток фітопатогенних бактерій, грибів, вірусів і нематод [21].

Аналіз літературних джерел свідчить, що захворювання, спричинені ксантомонадами, багатьох культур-хазяїнів, таких як банан, бобові культури, капуста, маніока, цитрусові, перець, рис, томати, пшениця, призводять до значних втрат врожаю, постійно ставлять під загрозу продовольчу безпеку і щороку завдають великих збитків економіці [22]. З урахуванням майбутніх сценаріїв зміни клімату, які передбачають можливе географічне поширення фітопатогенів, негативний вплив на агропродовольчі системи стане ще вираженішим. Ураження *Xanthomonas* spp. виявляється у вигляді широкого спектра симптомів, які у деяких випадках складно відрізнити від тих, що спричиняють інші патогенні бактерії на таких самих рослинах-хазяїнах, і включають просочені водою плями, що розвиваються до некрозу на листках, в'янення, гниття, гіпертрофію, гіперплазію, плямистість та відмирання [23].

Xanthomonas campestris — бактеріальний збудник, який викликає різноманітні захворювання у багатьох сільськогосподарсько цінних культур [24]. *X. campestris* pv. *campestris* (Хсс) — збудник чорної гнилі представників родини Brassicaceae, є найпоширенішим фітопатогеном рослин цієї родини у всьому світі [25]. Найуразливішим хазяїном Хсс є *Brassica oleracea* (включаючи листову капусту, цвітну капусту, броколі та брюссельську капусту). Також він уражує інших представників роду *Brassica*, зокрема *B. napus*, низку бур'янів і декоративних рослин [26]. Хсс є бактерією, що переноситься з насінням, вона проникає в рослини крізь прорихи та гідатоли і поширюється в мезофілі листків [27]. Крім того, Хсс може поширюватися через молоді сіянці [28]. Почорніння жилок листків або стебла, в тому числі крайовий хлороз листків і характерний V-подібний некроз, є типовою ознакою проявів чорної гнилі. Ураження рослин чорною гниллю, особливо у регіонах з високою вологістю й температурою, можуть призвести до значних втрат у плодово-овочевому виробництві [29].

У представленій роботі проведено фітосинтез наночастинок срібла з використанням водного екстракту перикарпіїв *Capsicum annuum* L. Екстракт досліджено на наявність ароматичних біоактивних вторинних метаболітів з потенційними відновлювальними властивостями. Бактерицидну активність фітосинтезованих наночастинок срібла оцінено проти фітопатогенного штаму *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*.

Методика

Джерелом біоактивних речовин з відновлювальними та стабілізуювальними властивостями для фітосинтезу наночастинок срібла був водний екстракт перикарпіїв гострого перцю чилі (*Capsicum annuum*)

сорту Теджа. Для отримання екстракту 2 г попередньо висушеного за 60 °С і подрібненого рослинного матеріалу змішували зі 100 мл дистильованої води у скляній колбі та кип'ятили отриману суміш на водяній бані протягом 20 хв. Отриманий екстракт фільтрували крізь паперовий фільтр та зберігали за 4 °С для наступних досліджень.

Якісний біохімічний аналіз водного екстракту плодів *C. annuum* проведено для оцінювання наявності різних біоактивних вторинних метаболітів (танінів, сапонінів, флавоноїдів, фенолів, стероїдів, алкалоїдів, терпеноїдів).

Таніни визначали реакцією з ферум (III) хлоридом (FeCl_3). Для цього 5 крапель 10 %-го розчину FeCl_3 додавали до 2 мл водного екстракту перикарпіїв *C. annuum*. Поява чорнувато-зеленого або чорнувато-синього відтінку засвідчувала наявність дубильних речовин в екстракті [30].

Сапоніни в екстрактах виявляли якісною реакцією з утворенням піни. Для цього 4 мл водного екстракту перикарпіїв *C. annuum* додавали у пробірку з 10 мл дистильованої води. Пробірку із сумішшю інтенсивно струшували протягом 2 год, далі відстоювали 10 хв і спостерігали за утворенням піни, яка вказувала на наявність сапонінів у дослідному екстракті [31].

Флавоноїди оцінювали пробою Шибіта. До 5 мл екстракту додавали 5 мл гідроксиду натрію (NaOH). Утворення жовтого кольору свідчило про наявність флавоноїдів в екстракті [30].

Феноли в отриманому екстракті визначали реакцією з FeCl_3 . Для цього 2 мл екстракту змішували з 2 мл дистильованої води, потім до суміші додавали 10 %-й розчин FeCl_3 . У разі наявності фенольних сполук дослідний розчин набував синювато-чорного забарвлення [32].

Якісну оцінку вмісту алкалоїдів проводили пробою Драгендорфа. До 1 мл реактиву Драгендорфа додавали 5 мл водного екстракту перикарпіїв *C. annuum*. Утворення оранжево-червоного осаду вказувало на наявність алкалоїдів в екстракті [33].

Терпеноїди визначали реакцією з концентрованою сірчаною кислотою (H_2SO_4). До 3 мл екстракту додавали 2 мл H_2SO_4 і нагрівали приблизно 3 хв. Поява червоно-коричневого кольору засвідчувала наявність терпеноїдів у водному екстракті перикарпіїв *C. annuum* [34].

Біосинтез наночастинок срібла проводили додаванням водного екстракту перикарпіїв *C. annuum* до 0,001 М розчину нітрату срібла у співвідношенні 1 мл екстракту до 4 мл AgNO_3 . Суміш залишали на 2 год під світлодіодною лампою повного спектра (Secret Jardin, 42 W, 6500 K) та за кімнатної температури для утворення наноколоїду срібла [35].

Ефективність фітосинтезу наночастинок срібла визначали методами спектроскопії в УФ та видимій частині спектра з використанням спектрофотометра UV-1800 (Shimadzu, Japan) з роздільною здатністю 1 нм. Ефективність фітосинтезу оцінювали в динаміці протягом 3 год з часовими точками: 0, 30, 60, 120 і 180 хв.

Розміри та морфологію фітосинтезованих наночастинок після центрифугування розчину при 10 000 g та висушування осаду за 60 °С оцінювали методом сканувальної електронної мікроскопії (SEM, Tescan Mira 3 MLU).

Бактерицидну активність фітосинтезованих наночастинок визначали агар-дифузним методом з наступним аналізом фотографій за допомогою програми для оброблення зображень ImageJ. Бактеріальну культуру фітопатогенного збудника *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Хсс) вирощували в поживному середовищі (Himedia) і доводили до стандарту мутності 0,5 за МакФарландом. Суспензійну культуру Хсс висівали на поверхню затверділого агару Мюллера—Хінтона у чашках Петрі. Потім у 5 лунок на одну чашку вносили 100 мкл досліджуваних розчинів фітосинтезованого нанокolloїду срібла з різною концентрацією наночастинок (80, 40, 20 мг/л). Позитивним контролем слугував паперовий диск, просякнутий гентаміцином (Himedia), асептично розміщений у центрі чашки. Для розвитку бактеріальної культури Хсс чашки інкубували за 37 °С протягом 18—24 год і фіксували діаметр зони інгібування росту культури [36].

Біологічна повторність кожного експерименту триразова. Результати оброблено статистично методом дисперсійного аналізу із застосуванням критерію Стюдента. Дані вважали достовірними за рівня значущості $p < 0,05$.

Результати та обговорення

Проведено біохімічний скринінг водного екстракту перикарпіїв *C. annuum* для визначення біоактивних сполук із потенційними відновними та стабілізуючими властивостями. Результати експерименту свідчать про наявність різноманітних вторинних метаболітів, таких як сапоніни, флавоноїди, феноли та алкалоїди, при цьому таніни і терпеноїди не виявлено (табл. 1).

Ароматичні вторинні рослинні метаболіти становлять значний інтерес через їх різноманітну біологічну активність. Біохімічний аналіз показав наявність у водному екстракті перикарпіїв *C. annuum* важливих органічних молекул, які можуть ефективно відновлювати іони срібла до форми наночастинок — металічного срібла. Ці результати засвідчують, що отриманий екстракт може бути ефективним для фітосинтезу наночастинок [37].

Фітосинтез нанокolloїду срібла в динаміці за використання водного екстракту перикарпіїв перця як джерела сполук-відновлювачів досліджували за характеристиками поверхневого плазмонного резонансу (рис. 1).

Перебіг реакції контролювали за зміною спектрів поглинання експериментального нанокolloїду в межах УФ і видимого діапазону (200—700 нм). Відновлення іонів Ag^{2+} до металічного срібла (Ag^0) характеризувалося утворенням піку поглинання у ділянці 400—500 нм.

ТАБЛИЦЯ 1. Якісний аналіз на наявність сполук-відновлювачів у водному екстракті перикарпіїв *Capsicum annuum*

Сполука	Таніни	Сапоніни	Флавоноїди	Феноли	Алкалоїди	Терпеноїди
Статус	—	+ / —	+	+	+	—

Примітка: «+» — наявні у значній кількості; «+ / —» — наявні у помірній кількості; «—» — відсутні.

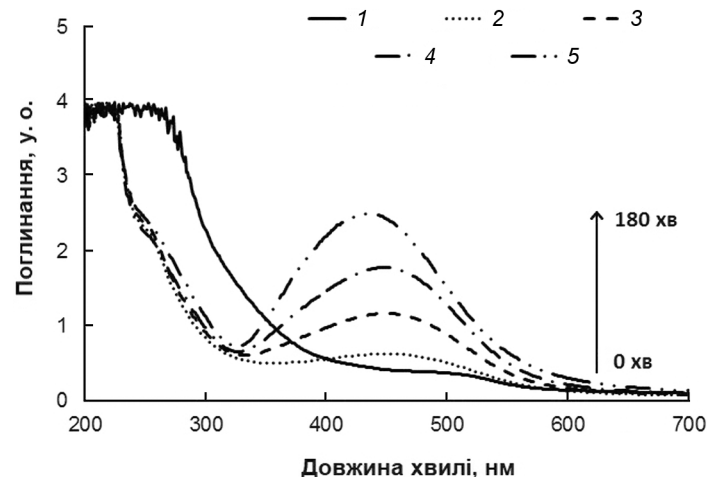


Рис. 1. Динаміка фітосинтезу наночастинок срібла:

1 — 0 хв; 2 — 30; 3 — 60; 4 — 120; 5 — 180 хв

За електронними спектрами поглинання поверхневого плазмонного резонансу (значеннями максимумів смуг поглинання та їх шириною на половині висоти) визначали середній діаметр отримуваних наночастинок срібла [38]. Збільшуючись з часом, висота смуги в ділянці максимуму поглинання вказує на ефективність утворення наночастинок срібла, ширина — на розподіл їх розмірів. У разі фіксування одночасно високого і вузького піку поглинання можна стверджувати про успішне утворення великої кількості наночастинок та однорідність їхніх розмірів [39]. Аналіз спектра поглинання дослідного варіанта вказує на найбільшу кількість фітосинтезованих наночастинок і незначну різницю у розмірах. З урахуванням того, що все срібло відновилося до відповідних наночастинок у цьому варіанті було отримано розчин концентрацією 80 мг/л.

Результати сканувальної електронної мікроскопії підтверджують дані УФ і видимої спектроскопії фітосинтезованих наноколоїдів срібла (рис. 2).

На мікрофото зафіксовано велику кількість фітосинтезованих наночастинок срібла з незначною різницею у розмірах. Отриманий розподіл за розмірами дає змогу стверджувати, що утворюються наночастинки сферичної форми діаметром від 8 до 22 нм. Найбільша кількість (25 %) з усіх наявних частинок у наноколоїді розміром 18 нм, 15 % — 12 нм (рис. 3).

Загальною ознакою усіх проб досліджуваного наноколоїду є бімодальний розподіл наночастинок за розмірами. Середній розмір першої (меншої) фракції 12 нм вказує на швидку і ефективну нуклеацію срібла на поверхні органічної матриці на початкових етапах відновлення йонів до металічного срібла. Ці дрібні частинки є основою для подальшого росту до розміру близько 20 нм [40].

Сферична форма фітосинтезованих наночастинок та розміри до 22 нм дають можливість розглядати їх як антибактеріальні ефектори. Відомо, що бактерицидна активність наночастинок срібла залежить від низки чинників, проте саме їх розмір і морфологія визначають

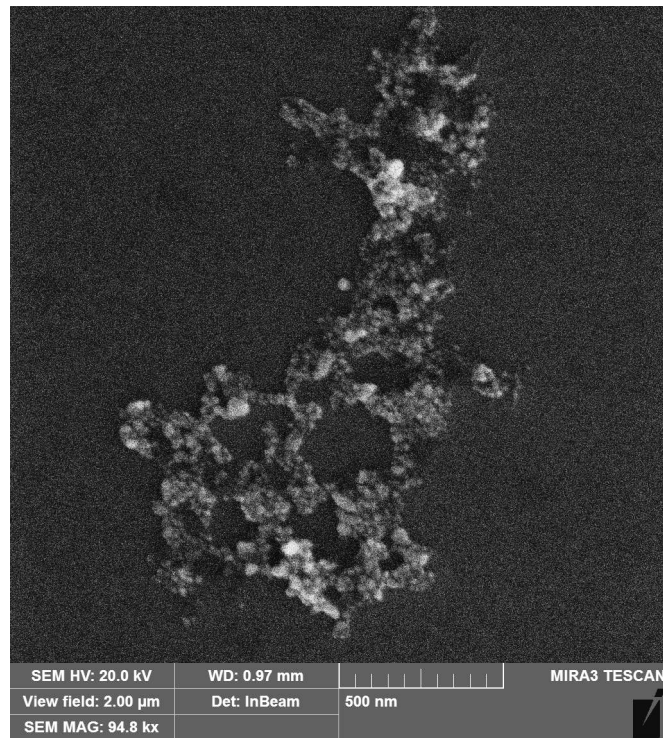


Рис. 2. Мікрофотографія фітосинтезованих наночастинок срібла

ефективність. Тому деякі з останніх досліджень були спеціально зосереджені на бактерицидній активності наночастинок, яка залежить від їх форми та розміру [41].

Ми дослідили вплив фітосинтезованого наноколоїду срібла проти *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Хсс) — фітопатогенного збудника, здатного уражувати представників родини Brassicaceae. Результати агар-дифузного методу засвідчують ефективність досліджуваних розчинів, яку оцінювали за діаметром зони затримки росту бактеріальної культури (рис. 4).

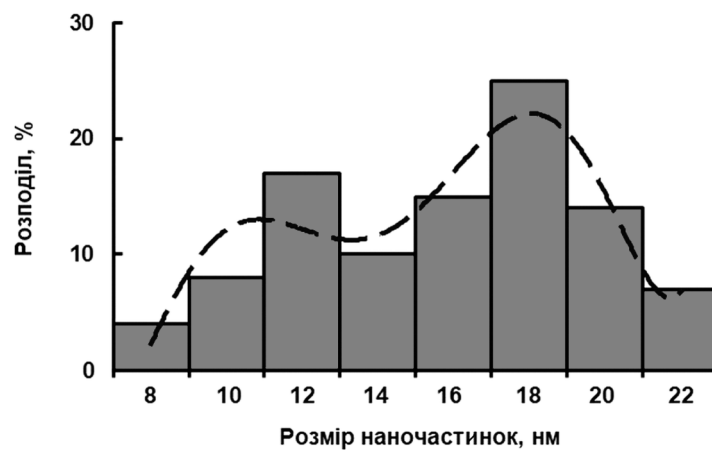


Рис. 3. Бімодальний розподіл за розмірами фітосинтезованих наночастинок срібла

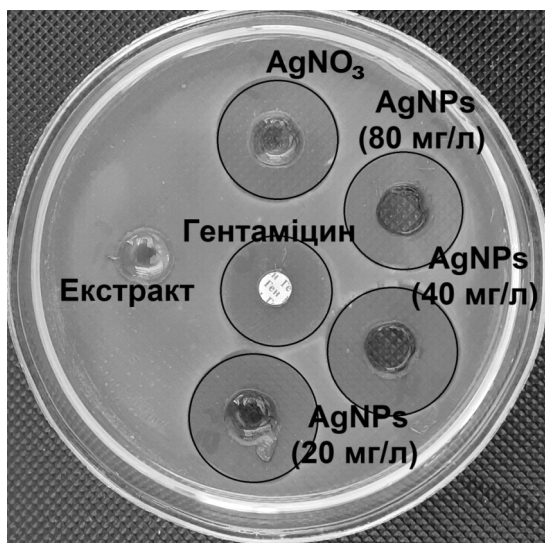


Рис. 4. Бактерицидна дія фітосинтезованих наночастинок срібла проти *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

Мінімальну дієву концентрацію фітосинтезованих наночастинок визначали розведенням отриманого колоїду до відповідних концентрацій 40 і 20 мг/л. Аналіз отриманих результатів показав, що ріст культури Хсс ефективно інгібувався додаванням 0,001 М нітрату срібла та наночастинками у всіх досліджуваних концентраціях 80, 40 і 20 мг/л, при цьому використання вихідного водного екстракту перикарпіїв перцю не впливало на ріст (табл. 2).

Статистичний аналіз даних щодо діаметра зон затримки росту бактеріальної культури засвідчує відсутність статистично значущої різниці між інгібувальним впливом досліджуваних концентрацій фітосинтезованих наночастинок срібла.

Активність фітосинтезованих наночастинок срібла у різних концентраціях проти бактеріальної культури Хсс також оцінювали в дослідженнях, де як джерело молекул-біоредукторів для фітосинтезу використовували екстракт *Gossypium hirsutum*. Дієвою мінімальною концентрацією таких наночастинок з проявом зони інгібування росту культури Хсс у $9,7 \pm 0,6$ мм встановлено 50 мг/л [42]. Однак наші результати засвідчують, що переважає бактерицидна активність нано-

ТАБЛИЦЯ 2. Діаметр зони затримки росту *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* у разі застосування фітосинтезованих наночастинок срібла

Досліджуваний розчин	Діаметр зони затримки росту, см
0,001 М AgNO ₃	3,02±0,27
Екстракт плодів <i>Capsicum annuum</i>	Не виявлено
80 мг/л наночастинок срібла	3,12±0,31
40 мг/л наночастинок срібла	3,23±0,27
20 мг/л наночастинок срібла	3,13±0,26
Гентаміцин (позитивний контроль)	3,15±0,30

частинок срібла (20 мг/л), отриманих з використанням водного екстракту перикарпіїв *C. annuum*, це, у свою чергу, передбачає їх потенційне широке застосування для харчової промисловості та сільського господарства.

Механізми антибактеріальної дії наночастинок срібла нині також залишаються дискусійними, оскільки до традиційного запуску генерації активних форм кисню та зсуву про/антиоксидантної внутрішньоклітинної рівноваги додаються нові відомості щодо впливу наночастинок срібла на активність бактеріальних ефлюкських pomp за двома механізмами. Перший можливий механізм полягає у прямому зв'язуванні з активним центром ефлюкських pomp, другий — у порушенні кінетики витоку [43].

Отже, у результаті проведеного дослідження запропоновано ефективний метод фітосинтезу наночастинок срібла з бактерицидною активністю проти *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* з використанням водного екстракту перикарпіїв гострого перцю чилі (*Capsicum annum* L.) сорту Теджа. Екстракт перикарпіїв перевірено на наявність вторинних метаболітів, що можуть бути відновлювачами (біоредукторами) і стабілізаторами. Фітосинтезовані наночастинки срібла виявляли спектроскопією в УФ і видимій частині спектра, розміри й морфологію фіксували методом сканувальної електронної мікроскопії. Доведено ефективність фітосинтезованих наночастинок проти росту і розвитку бактеріальної культури *X. campestris* pv. *campestris* у всіх досліджуваних концентраціях (80, 40, 20 мг/л).

REFERENCES

1. Dikshit, P.K., Kumar, J., Das, A.K., Sadhu, S., Sharma, S., Singh, S., Gupta, P.K. & Kim, B.S. (2021). Green Synthesis of Metallic Nanoparticles: Applications and Limitations. *Catalysts*, 11, No. 902. <https://doi.org/10.3390/catal11080902>
2. Aboyewa, J.A., Sibuyi, N.R.S., Meyer, M. & Oguntibeju, O.O. (2021). Green Synthesis of Metallic Nanoparticles Using Some Selected Medicinal Plants from Southern Africa and Their Biological Applications. *Plants*, 10, Iss. 9, 1929. <https://doi.org/10.3390/plants10091929>
3. Pandit, C., Roy, A., Ghotekar, S., Khusro, A., Islam, M.N., Emran, T.B., Lam, S.E., Khandaker, M.U. & Bradley, D.A. (2022). Biological agents for synthesis of nanoparticles and their applications. *J. King Saud University-Science*, 34, Iss. 3, 101869. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.101869>
4. Elsakhawy, T., Omara, A.E.-D., Abowaly, M., El-Ramady, H., Badgar, K., Llanaj, X., Toros, G., Hajdu, P. & Prokisch, J. (2022). Green Synthesis of Nanoparticles by Mushrooms: A Crucial Dimension for Sustainable Soil Management. *Sustainability*, 14, 4328. <https://doi.org/10.3390/su14074328>
5. Poudel, D.K., Niraula, P., Aryal, H., Budhathoki, B., Phuyal, S., Marahatha, R., Subedi, K. (2022). Plant-Mediated Green Synthesis of Ag NPs and Their Possible Applications: A Critical Review. *J. Nanotechnology*, 16, 2779237. <https://doi.org/10.1155/2022/2779237>
6. Begum, S.J.P., Pratibha, S., Rawat, J.M., Venugopal, D., Sahu, P., Gowda, A., Qureshi, K.A. & Jaremko, M. (2022). Recent Advances in Green Synthesis, Characterization, and Applications of Bioactive Metallic Nanoparticles. *Pharmaceuticals*, 15, Iss. 4, 455. <https://doi.org/10.3390/ph15040455>
7. Smirnov, O.E., Kalynovskyi, V.Y., Yumyna, Y.M., Zelena, P.P., Skoryk, M.A., Dzhagan, V.M. & Taran, N.Y. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of hot chili pepper fruits and its antimicrobial activity against *Pseudomonas aeruginosa*. *Ukr. Biochem. J.*, 93, Iss. 5, pp. 102-110. <https://doi.org/10.15407/ubj93.05.102>

8. Dzhagan, V., Smirnov, O., Kovalenko, M., Mazur, N., Hreshchuk, O., Taran, N. & Zahn, D.R. (2022). Spectroscopic Study of Phytosynthesized Ag Nanoparticles and Their Activity as SERS Substrate. *Chemosensors*, 10, Iss. 4, 129. <https://doi.org/10.3390/chemosensors10040129>
9. Lomeli-Rosales, D.A., Zamudio-Ojeda, A., Reyes-Maldonado, O.K., Lopez-Reyes, M.E., Basulto-Padilla, G.C., Lopez-Naranjo, E.J. & Velazquez-Juarez, G. (2022). Green Synthesis of Gold and Silver Nanoparticles Using Leaf Extract of *Capsicum chinense* Plant. *Molecules*, 27, Iss. 5, 1692. <https://doi.org/10.3390/molecules27051692>
10. Samrot, A.V., Shobana, N. & Jenna, R. (2018). Antibacterial and antioxidant activity of different staged ripened fruit of *Capsicum annuum* and its green synthesized silver nanoparticles. *BioNanoScience*, 8, Iss. 2, pp. 632-646. <https://doi.org/10.1007/s12668-018-0521-8>
11. Rajam, M.V., Nandy, S. & Pandey, R. (2021). Biotechnology of Red Pepper. In *Genetically Modified Crops* (pp. 53-83). Singapore: Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-15-5932-7_3
12. Caicedo-Lopez, L.H., Guevara-Gonzalez, R.G., Ramirez-Jimenez, A.K., Feregrino-Perez, A.A. & Contreras-Medina, L.M. (2022). Eustress application trough-controlled elicitation strategies as an effective agrobiotechnology tool for capsaicinoids increase: a review. *Phytochemistry Reviews*, 21, pp. 1941-1968. <https://doi.org/10.1007/s11101-022-09818-z>
13. Batiha, G.E.S., Alqahtani, A., Ojo, O.A., Shaheen, H.M., Wasef, L., Elzeiny, M. & Hetta, H.F. (2020). Biological properties, bioactive constituents, and pharmacokinetics of some *Capsicum* spp. and capsaicinoids. *Int. J. Mol. Sci.*, 21, Iss. 15, 5179. <https://doi.org/10.3390/ijms21155179>
14. Cruz, J.G., Silveira, T., Richter, V., Wagner, J.G., Neitzke, R.S., Barbieri, R.L. & Vizzotto, M. (2022). Genetic variability of bioactive compounds in *Capsicum chinense*. *Food Science and Technology*, 42, e123721. <https://doi.org/10.1590/fst.123721>
15. Ogunyemi, S.O., Zhang, M., Abdallah, Y., Ahmed, T., Qiu, W., Ali, M.A., Yan, C., Yang, Y., Chen, J. & Li, B. (2020). The Bio-Synthesis of Three Metal Oxide Nanoparticles (ZnO, MnO₂, and MgO) and Their Antibacterial Activity Against the Bacterial Leaf Blight Pathogen. *Front. Microbiol.*, 11, 588326. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.588326>
16. Ahmed, T., Noman, M., Jiang, H., Shahid, M., Ma, C., Wu, Z., Nazir, M.M., Ali, M.A., White, J.C. & Chen, J. (2022). Bioengineered chitosan-iron nanocomposite controls bacterial leaf blight disease by modulating plant defense response and nutritional status of rice (*Oryza sativa* L.). *NanoToday*, 45, 101547. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2022.101547>
17. McEwen, S.A., Collignon, P.J., Aarestrup, F.M., Schwarz, S., Shen, J. & Cavaco, L. (2018). Antimicrobial Resistance: A One Health Perspective. *Microbiol. Spectrum*, 6, No. 117. <https://doi.org/10.1128/9781555819804.ch25>
18. Salmanov, A.G., Ushkalov, V.O., Shunko, Y.Y., Piven, N., Vygovska, L.M., Verner, O.M. & Kushnirenko, S. (2021). One health: Antibiotic-resistant bacteria contamination in fresh vegetables sold at aretail markets in Kyiv, Ukraine. *Wiad. Lek.*, 73, pp. 83-89.
19. Gangireddygar, V.S.R., Kalva, P.K., Ntushelo, K., Bangeppagari, M., Djami Tchatchou, A. & Bontha, R.R. (2017). Influence of environmental factors on biodegradation of quinalphos by *Bacillus thuringiensis*. *Environ. Sci. Eur.*, 29, No. 11. <https://doi.org/10.1186/s12302-017-0109-x>
20. Zeng, Y., Liu, H., Zhu, T., Han, S. & Li, S. (2021). Preparation of Nanomaterial Wettable Powder Formulations of Antagonistic Bacteria from *Phellodendron chinense* and the Biological Control of Brown Leaf Spot Disease. *Plant Pathol. J.*, 37, pp. 215-231. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.02.2021.0020>
21. Tian, Y., Luo, J., Wang, H., Zaki, H.E.M., Yu, S., Wang, X., Ahmed, T., Shahid, M.S., Yan, C. & Chen, J. (2022). Bioinspired Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Three Plant Extracts and Their Antibacterial Activity against Rice Bacterial Leaf Blight Pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Plants*, 11, Iss. 21, 2892. <https://doi.org/10.3390/plants11212892>
22. Vanti, G.L., Kurjogi, M., Basavesha, K.N., Teradal, N.L., Masaphy, S. & Nargund, V.B. (2020). Synthesis and antibacterial activity of *Solanum torvum* mediated silver nanoparticle against *Xanthomonas axonopodis* pv. *punicae* and *Ralstonia solanacearum*. *J. Biotechnol.*, 309, pp. 20-28. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.12.009>
23. Mishra, S., Yang, X., Ray, S., Fraceto, L.F. & Singh, H.B. (2020). Antibacterial and biofilm inhibition activity of biofabricated silver nanoparticles against *Xanthomonas*

- oryzae pv. oryzae causing blight disease of rice instigates disease suppression. World J. Microbiol. Biotechnol., 36, No. 55. <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02826-1>
24. Mansfield, J., Genin, S., Magori, S., Citovsky, V., Sriariyanum, M., Ronald, P., Dow, M., Verdier, V., Beer, S.V., Machado, M.A., Toth, I., Salmond, G. & Foster, G.D. (2012). Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. Mol. Plant Pathol., 13, Iss. 6, pp. 614-629. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x>
25. Pecenka, J., Bytesnikova, Z., Kiss, T., Penazova, E., Baranek, M., Eichmeier, A. & Adam, V. (2021). Silver nanoparticles eliminate *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in cabbage seeds more efficiently than hot water treatment. Materials Today Communications, 27, 102284. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2021.102284>
26. Vicente, J.G., Conway, J., Roberts, S.J. & Taylor, J.D. (2001). Identification and origin of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* races and related pathovars. Phytopathology, 91, Iss. 5, pp. 492-499. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2001.91.5.492>
27. Roberts, S.J., Brough, J. & Hunter, P.J. (2007). Modelling the spread of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in module-raised brassica transplants. Plant Pathol., 56, Iss. 3, pp. 391-401. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01555.x>
28. Iglesias-Bernabe, L., Madloo, P., Rodriguez, V.M., Francisco, M. & Soengas, P. (2019). Dissecting quantitative resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in leaves of *Brassica oleracea* by QTL analysis. Scientific Reports, 9, Iss. 1, 2015. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38527-5>
29. Park, Y.J., Lee, B.M, Ho-Hahn, J., Lee, G.B. & Park, D.S. (2004). Sensitive and specific detection of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* by PCR using species-specific primers based on hrpF gene sequences. Microbiol. Res., 159, Iss. 4, pp. 419-423. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2004.09.002>
30. Kumaresan, M., Kannan, M., Chandrasekhar, C. & Vasanthi, D. (2019). Phytochemical screening and antioxidant activity of *Jasminum multiflorum* (pink Kakada) leaves and flowers. J. Pharmacognosy and Phytochemistry, 8, Iss. 3, pp. 1168-1173.
31. Auwal, M.S., Saka, S., Mairiga, I.A., Sanda, K.A., Shuaibu, A. & Ibrahim, A. (2014). Preliminary phytochemical and elemental analysis of aqueous and fractionated pod extracts of *Acacia nilotica* (Thorn mimosa). Veterinary Research Forum: An International Quarterly Journal, 5, Iss. 2, pp. 95-100. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25568701>
32. Shah, R.K. & Yadav, R.N.S. (2015). Qualitative phytochemical analysis and estimation of total phenols and flavonoids in leaf extract of *Sarcochlamys pulcherrima*. Global J. Bio-Sci. Biotechnol., 4, Iss. 1, pp. 81-84.
33. Joshi, A., Bhohe, M. & Sattarkar, A. (2013). Phytochemical investigation of the roots of *Grewia microcos* Linn. J. Chem. Pharmac. Res., 5, Iss. 7, pp. 80-87.
34. Mustapha, T., Ithnin, N.R., Othman, H., Abu Hasan, Z.-'Iffah & Misni, N. (2023). Bio-Fabrication of Silver Nanoparticles Using *Citrus aurantifolia* Fruit Peel Extract (CAFPE) and the Role of Plant Extract in the Synthesis. Plants, 12, Iss. 8, 1648. <https://doi.org/10.3390/plants12081648>
35. Smirnov, O., Kalynovskyi, V., Yumyna, Y., Zelena, P., Levenets, T., Kovalenko, M. & Skoryk, M. (2022). Potency of phytosynthesized silver nanoparticles from *Lathraea squamaria* as anticandidal agent and wheat seeds germination enhancer. Biologia, 77, Iss. 9, pp. 2715-2724. <https://doi.org/10.1007/s11756-022-01117-4>
36. Smirnov, O., Kalynovskyi, V., Zelena, P., Yumyna, Y., Dzhanan, V., Kovalenko, M. & Taran, N. (2023). Bactericidal activity of Ag nanoparticles biosynthesized from *Capsicum annuum* pericarps against phytopathogenic *Clavibacter michiganensis*. The Science of Nature, 110, Iss. 3, p. 15. <https://doi.org/10.1007/s00114-023-01844-x>
37. Gayathri, N., Gopalakrishnan, M. & Sekar, T. (2016). Phytochemical screening and antimicrobial activity of *Capsicum chinense* Jacq. Int. J. Adv. in Pharm., 5, Iss. 1, pp. 12-20. <https://doi.org/10.7439/ijap.v5i1.3025>
38. Mehata, M.S. (2021). Green route synthesis of silver nanoparticles using plants/ginger extracts with enhanced surface plasmon resonance and degradation of textile dye. Materials Science and Engineering: B, 273, p. 115418. <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2021.115418>
39. Kiba, T., Masui, K., Inomata, Y., Furumoto, A., Kawamura, M., Abe, Y. & Kim, K.H. (2021). Control of localized surface plasmon resonance of Ag nanoparticles by changing its size and morphology. Vacuum, 192, p. 110432. <https://doi.org/10.1016/j.vacuum.2021.110432>
40. Salayova, A., Bedlovicova, Z., Daneu, N., Balaz, M., Lukacova Bujnakova, Z., Balazova, L. & Tkacikova, L. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles with anti-

- bacterial activity using various medicinal plant extracts: Morphology and antibacterial efficacy. *Nanomaterials*, 11, Iss. 4, p. 1005. <https://doi.org/10.3390/nano11041005>
41. Malik, M., Iqbal, M.A., Malik, M., Raza, M.A., Shahid, W., Choi, J.R. & Pham, P.V. (2022). Biosynthesis and Characterizations of Silver Nanoparticles from *Annona squamosa* Leaf and Fruit Extracts for Size-Dependent Biomedical Applications. *Nanomaterials*, 12, Iss. 4, p. 616. <https://doi.org/10.3390/nano12040616>
 42. Vanti, G.L., Nargund, V.B., Vanarchi, R., Kurjogi, M., Mulla, S.I. & Patil, R.R. (2019). Synthesis of *Gossypium hirsutum*-derived silver nanoparticles and their antibacterial efficacy against plant pathogens. *Appl. Organometall. Chem.*, 33, Iss. 1, e4630. <https://doi.org/10.1002/aoc.4630>
 43. Attallah, N.G., Elekhawy, E., Negm, W.A., Hussein, I.A., Mokhtar, F.A. & Al-Fakhry, O.M. (2022). In vivo and in vitro antimicrobial activity of biogenic silver nanoparticles against *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *Pharmaceuticals*, 15, Iss. 2, 194. <https://doi.org/10.3390/ph15020194>

Received 23.08.2023

PHYTOSYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES WITH BACTERICIDAL ACTIVITY AGAINST THE PHYTOPATHOGENIC STRAIN OF *XANTHOMONAS CAMPESTRIS* USING *CAPSICUM ANNUUM* PERICARPS AQUEOUS EXTRACT

O.E. Smirnov^{1,2}, P.P. Zelena¹, Yu.M. Yumyna¹, M.S. Kovalenko¹, Ye.O. Konotop¹, N.Yu. Taran¹, V.V. Schwartau²

¹Educational and Scientific Centre «Institute of Biology and Medicine» of Taras Shevchenko Kyiv National University

64/13 Volodymyrska St., Kyiv, 01601, Ukraine

²Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine

31/17 Vasylykivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

e-mail: plantaphys@gmail.com

The paper proposes an effective method of phytosynthesis of silver nanoparticles using an aqueous extract of the pericarps of the hot chili pepper (*Capsicum annum* L.) cv. Teja with bactericidal activity against phytopathogenic agent *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. The extract of pericarps was investigated for the presence of secondary metabolites that can act as reducing agents (bioreducers) and stabilizing compounds. Saponins, flavonoids, phenols and alkaloids were found in the extract. Research of phytosynthesized silver nanoparticles was carried out using spectroscopy in the UV and visible part of the spectrum; the size and morphology of silver nanoparticles were recorded by scanning electron microscopy. The effectiveness of phytosynthesized nanoparticles against the growth and development of the bacterial culture *X. campestris* pv. *campestris* was established in all studied concentrations (80, 40, 20 mg/L).

Key words: *Capsicum annum* L., *Xanthomonas campestris*, phytosynthesis, silver nanoparticles, bactericidal activity.

ORCID

О.Є. СМІРНОВ — O.E. Smirnov <https://orcid.org/0000-0002-2293-5961>

П.П. ЗЕЛЕНА — P.P. Zelena <https://orcid.org/0000-0001-6746-2988>

Ю.М. ЮМИНА — Yu.M. Yumyna <https://orcid.org/0000-0002-4568-1415>

М.С. КОВАЛЕНКО — M.S. Kovalenko <https://orcid.org/0000-0003-3861-3796>

Є.О. КОНОТОП — Ye.O. Konotop <https://orcid.org/0000-0003-0465-5429>

Н.Ю. ТАРАН — N.Yu. Taran <https://orcid.org/0000-0002-8669-5899>

В.В. ШВАРТАУ — V.V. Schwartau <https://orcid.org/0000-0001-7402-5559>