

УДК 632.9: 577.1:544.77

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ДИСПЕРСИЙ НАНОЧАСТИЦ ХИТОЗАНА, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ ДРОБНОГО ОСАЖДЕНИЯ

© 2024 г. Э. В. Попова^{1, *}, Н. С. Домнина², И. И. Новикова¹,
Н. М. Коваленко¹, И. Л. Краснобаева^{1, **}, И. М. Зорин²

¹Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, 196608 Россия

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Петергоф, 199034, Россия

*e-mail: elzavropova@mail.ru,

**e-mail: krasnobaeva08@mail.ru

Поступила в редакцию 12.08.2023 г.

После доработки 31.10.2023 г.

Принята к публикации 05.11.2023 г.

Проведена оценка антигрибной и иммуномодулирующей активности дисперсий наночастиц хитозана, полученных методом дробного осаждения при pH 5.0 и pH 7.5 с использованием хитозана разной молекулярной массы. Дисперсия наночастиц, полученная при pH 5.0, обладала повышенной фунгистатической активностью в отношении *Cochliobolus sativus* и *Alternaria solani* за счет высокой доступности аминогрупп в рыхлых наночастицах. Такая дисперсия показала иммуностимулирующую активность, обеспечивающую повышение устойчивости пшеницы к темно-бурой пятнистости. Установлено также, что элиситорная активность дисперсий нанохитозана значительно выше активности растворов исходного полимера.

Ключевые слова: хитозан, нанохитозан, антигрибная, элиситорная активности, *Alternaria solani*, *Cochliobolus sativus*, пшеница

DOI: 10.31857/S0555109924020073 EDN: GAAFKU

В настоящее время природный полимер хитозан стал наиболее востребованным биоматериалом в медицине, пищевой промышленности и сельском хозяйстве [1–3]. Хитозан привлекает внимание ученых своим спектром биологической активности (антигрибная, антибактериальная, антивирусная, элиситорная и др.), что обуславливает широкое его применение в растениеводстве в качестве средств, стимулирующих рост и развитие растений, а также в препаратах, защищающих многие сельскохозяйственные культуры от грибных, вирусных и бактериальных заболеваний [4, 5].

При создании новых препаратов на основе хитозана используют методические подходы, связанные с различными видами химической и структурной модификации полимера, что, как правило, приводит к усилению биологической активности. Так, например, в структуру полимерной цепи вводят различные функциональные фрагменты биологически активных соединений (сигнальные молекулы, антиоксиданты и др.), что придает хитозану совершенно новые свойства [6, 7].

Известно, что ограниченная растворимость хитозана в водных средах (pH \geq 6) вносит существенные ограничения для его использования в растениеводстве. Проведение химической модификации

хитозана помогает решить эту проблему. Так, карбоксиметилирование, сукцинирование хитозана, получение его четвертичных солей обеспечивает растворимость полимера в более широкой области значений pH. Еще одним приемом повышения растворимости хитозана является его деструкция вплоть до молекулярных масс порядка 5–10 кДа [4, 6, 8, 9].

Современным и перспективным подходом к созданию препаратов для агрохимии является модификация хитозана путем формирования из него при нейтральных значениях pH нано- или микрочастиц в виде стабильной дисперсии [10]. Установлено, что физические, химические и, главное, биологические свойства наночастиц существенно отличаются от свойств полимеров, из которых они получаются. Объяснением особых свойств наночастиц служит сочетание их маленького размера и большой удельной поверхности. Причем, чем меньше размер частиц, тем выше их способность проникать через биомембраны клетки, возможность доставлять биологически активные вещества в клетки и др. [11].

К настоящему времени использование наночастиц хитозана для создания различных препаратов, повышающих устойчивость растений

к биотическим и абиотическим стрессам, описано в многочисленных обзорных статьях [12–15].

Так, например, наночастицы хитозана были использованы в качестве носителей для доставки в клетки растений микроэлементов, питательных веществ, пестицидов и др. [16, 17]. В ряде работ продемонстрирована более высокая антибактериальная и фунгистатическая активность дисперсий наночастиц по сравнению с раствором хитозана [18–20]. Появились сообщения о том, что наночастицы хитозана могут действовать как иммунологический модулятор в растениях чая и пальчатого проса, индуцируя активность защитных ферментов [21, 22]. На примере *Camellia sinensis* впервые была доказана способность наночастиц хитозана усиливать врожденный иммунитет. Было установлено, что обработка листьев *C. sinensis* дисперсией наночастиц вызывает увеличение активности антиоксидантных ферментов, уровней фенолов и флавоноидов по сравнению с контрольным опытом, где обработка проводилась раствором хитозана [21]. Кроме того, было замечено, что несмотря на то что и хитозан, и наночастицы связываются с поверхностью листа, наночастицы имеют повышенный уровень внеклеточной локализации и биодоступности. Этим объясняется десятикратное снижение действующей концентрации и существенное повышение эффективности дисперсий наночастиц.

Подтверждением эффективности использования наночастиц для повышения болезнеустойчивости растений являются результаты работы, в которой показано, что обработка семян проса дисперсией наночастиц индуцировала системную устойчивость к ложной мучнистой росе и приводила к снижению пораженности растений в 5 раз [23]. Об элиситорной активности наночастиц хитозана сообщается в работе [22], в которой авторы связывают снижение проявления симптомов пирикулярноза на листьях проса с применением наночастиц хитозана.

Из представленного небольшого обзора литературы видно, что изучение и применение в растениеводстве наночастиц хитозана в виде дисперсий, обладающих разнообразной биологической активностью, является актуальной задачей.

Цель работы — оценка антимикробной и иммуномодулирующей активности дисперсий наночастиц хитозана, полученных методом дробного осаждения с использованием хитозана разной молекулярной массы.

МЕТОДИКА

Для получения наночастиц методом дробного осаждения были использованы образцы хитозана с молекулярной массой 6,5, 14 и 60 кДа, ранее полученные по известной методике [24] из хитозана с молекулярной массой 150 кДа и степенью

деацетилирования 85% (ООО “Биопрогресс”, Россия). Получения наноструктурированной формы хитозана и соответствующих дисперсий, а также их характеристика проводили в соответствии с методикой, описанной в работе [25]. С этой целью к 0.1%-ному раствору хитозана в уксусной кислоте при постоянном перемешивании и температуре 20°C приливали 0.1 н. раствор гидроксида калия со скоростью 0.2 мл/мин с использованием шприцевого насоса “Bestran” до достижения необходимого значения pH. Далее посредством специальной обработки (фильтрования, действия ультразвука, ресуспендирования и др.) были получены образцы наночастиц хитозана в виде дисперсий.

Для проведения биологических испытаний использованы два типа дисперсий наночастиц хитозана (НХ): дисперсии НХ и дисперсии НХ-5. Дисперсии НХ содержали наночастицы, выделенные из реакционной смеси при pH 8 и промытые до нейтральных значений pH. Частицы в дальнейшем ресуспендировали в деионизированной воде (pH 6.5). Размер НХ в этих дисперсиях находится в диапазоне 5–25 нм. Дисперсии НХ-5 имели в своем составе гелеобразные мягкие частицы диаметром около 100 нм, представляющие собой агрегаты макромолекул хитозана, а также наночастицы хитозана, образовавшиеся при дробном осаждении при pH 5. Для проведения экспериментов из “Государственной коллекции микроорганизмов, патогенных для растений и их вредителей” Центра коллективного пользования научным оборудованием “Инновационные технологии защиты растений” ВИЗР были предоставлены следующие штаммы фитопатогенных грибов: *Alternaria solani* Sorauer, *Cohliobolus sativus* (S. Itod Kurib).

Оценку антигрибной активности по отношению к *A. solani* и *C. sativus* (возбудители листовых пятнистостей широкого спектра сельскохозяйственных культур) проводили методом агаровых блоков [26].

При изучении прямого фунгистатического действия исследуемых образцов методом агаровых блоков в теплую агаризованную среду Чапека внесли дисперсию наночастиц определенного объема, рассчитывая конечную концентрацию в среде в зависимости от исходной концентрации наночастиц. После застывания среды на поверхности среды помещали блоки 10-суточных микромицетов *C. sativus* и *A. solani* диаметром 6 мм. В качестве контроля служили чашки с агаризованной средой Чапека с блоками тест-культуры без испытуемых образцов. Чашки инкубировали в темноте при 25°C. Фунгистатическую активность оценивали по диаметру подавления роста тест-культуры через 3 и 5 сут выращивания. Для этого диаметр колонии гриба в опытных чашках, содержащих НХ, сравнивали с контролем (чашки без НХ). Процент ингибирования роста мицелия гриба (П) рассчитывали относительно контроля по следующей формуле:

$P = (D_k - D_{оп} / D_k) \times 100$, где P — подавление роста гриба по сравнению с контролем,%; D_k — диаметр колонии гриба в контроле, мм; $D_{оп}$ — диаметр колонии гриба в опыте, мм [26].

Элиситорную активность исследуемых дисперсий НХ оценивали методом отделенных листьев [21] в нашей модификации. Семисуточные проростки пшеницы восприимчивого сорта Саратовская 29 опрыскивали дисперсией НХ, дисперсией НХ-5 и раствором хитозана в ацетатном буфере (рН 5) за 24 ч до инокуляции патогеном *C. sativus* (4000 спор/мл). В каждом варианте опыта использовали 100 проростков. В контроле растения обрабатывали водой. Интенсивность развития болезни оценивали на 4 сутки после заражения по степени поражения площади листа в процентах. Элиситорную активность исследуемых образцов оценивали по пораженности листьев растений патогеном по отношению к контролю.

Все биологические опыты проводили в 3-кратной повторности. Полученные данные обрабатывали с использованием методов описательной статистики (на основе стандартных ошибок средних \pm SEM). Уровень различий между средними значениями определяли по критерию наименьшей существенной разницы (НСР) при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Среди многообразия способов получения наночастиц хитозана [27–29] метод дробного осаждения раствора хитозана щелочью выгодно отличался отсутствием побочных химических процессов и методической простотой образования наночастиц хитозана, что делает этот способ наиболее перспективным для использования в растениеводстве [30, 31].

Особенностью получения наночастиц хитозана методом дробного осаждения раствора хитозана щелочью является большая длительность процесса образования наноструктурированной формы, что обусловлено постепенным ростом значения рН в системе (начальный рН 3.4) по мере добавления щелочи. При рН, близком к 8, весь полимер в виде гелеобразной массы оседал на дно. Осадок, промытый до нейтрального рН и ресуспендированный в деионизированной воде (рН 6.5), представлял собой дисперсию НХ.

Известно, что водная среда с рН 5 не обладает цитотоксичностью и может быть использована в растениеводстве [7]. Было сделано предположение, что если процесс закончить при рН 5, то образующаяся дисперсия будет представлять собой смесь агрегатов из макромолекул и уже частично сформированной наноструктурированной формы хитозана (дисперсия НХ-5). Методом

Таблица 1. Фунгистатическая активность дисперсий НХ и дисперсий НХ-5 при ингибировании роста мицелия гриба *A. solani* (концентрация образцов 200 мкг/мл по хитозану)

М, кДа	Образец	Ингибирование роста мицелия <i>A. solani</i> , %	
		3 сут	5 сут
14	Дисперсия НХ	17.5	33.3
	Дисперсия НХ-5	46.0	57.2
60	Дисперсия НХ	18.0	28.9
	Дисперсия НХ-5	47.5	57.7
НСР _{0.05}	–	3.5	3.0

Таблица 2. Фунгистатическая активность дисперсий НХ-5 с разной молекулярной массой (ММ) по отношению к аскомицету *C. sativus*

ММ, кДа	Хитозана, мкг/мл	Ингибирование роста мицелия <i>C. sativus</i> , %	
		3 сут	5 сут
6.5	50	27.5	28.6
	120	32.5	47.6
	300	57.5	71.4
14	50	15.0	29.8
	120	55.0	45.2
	300	55.0	76.1
60	50	17.0	30.9
	120	32.5	44.0
	300	57.0	69.7
НСР _{0.05}	–	4.5	3.2

Таблица 3. Влияние обработки растений пшеницы дисперсиями НХ, НХ-5 и раствором хитозана на развитие темно-бурой пятнистости

Образец	Концентрация, %	Пораженность листьев, %
Контроль	—	50
Дисперсия НХ	0.04	35
	0.01	40
Дисперсия НХ-5	0.04	20
	0.01	25
	0.004	45
Раствор хитозана (ацетатный буфер, рН 5)	0.04	45
	0.01	50
	0.004	50
НСР 0.05	—	4.0

атомно-силовой микроскопия путем анализа полученных изображений установлено, что в дисперсиях НХ присутствуют только плотные сплошные частицы, размер которых находился в диапазоне 5–25 нм [25]. Дисперсии НХ-5 имели в своем составе гелеобразные мягкие частицы с диаметром ~100 нм, представляющие собой агрегаты макромолекул хитозана, несущие частично положительный заряд, и наночастицы хитозана, уже образовавшиеся в дисперсии до рН 5. Можно предположить, что дисперсии НХ, приготовленные в деионизированной воде (рН 6.5), будут обладать биологической активностью благодаря наличию наноразмерных частиц с большой удельной поверхностью. Для дисперсий НХ-5, имеющих наряду с наночастицами еще и агрегаты макромолекул хитозана, которые при рН 5 несут положительный заряд, можно ожидать усиления их биологического действия.

Таким образом, для биологических испытаний были использованы два типа дисперсий НХ с разной молекулярной массой (дисперсии НХ и дисперсии НХ-5), различающиеся условиями их приготовления.

Результаты изучения активности полученных дисперсий в отношении фитопатогенных микроорганизмов представлены в табл. 1 и 2. Методом агаровых блоков проведена сравнительная оценка прямого действия дисперсий НХ и дисперсий НХ-5 на линейный рост мицелия гриба *A. solani* (табл. 1).

Установлено, что дисперсии НХ-5 характеризовались более высокой фунгистатической активностью по сравнению с дисперсиями НХ. При этом видно, что фунгистатические свойства дисперсий обоих типов не зависят от молекулярной массы хитозана. Подобные результаты для дисперсий НХ были получены ранее исследователями, изучавшими ингибирующую активность дисперсий НХ в отношении различных грибов: *Candida albicans*, *Fusarium solani*, *Aspergillus niger* [32, 33].

Методом агаровых блоков экспериментально подтверждена высокая фунгистатическая активность дисперсий НХ-5 по отношению к аскомицету

C. sativus и установлена концентрационная зависимость (табл. 2).

Таким образом, исследованные в работе дисперсии нанохитозана обладали фунгистатической активностью, при этом независимо от молекулярной массы хитозана дисперсии НХ-5 имели явное превосходство перед дисперсиями НХ.

Изучение элиситорной активности дисперсий НХ и НХ-5, полученных при использовании хитозана с молекулярной массой 60 кДа, проведено путем оценки способности дисперсий индуцировать устойчивость пшеницы к темно-бурой пятнистости, возбудитель *C. sativus* (табл. 3).

Дисперсии НХ-5 и дисперсии НХ показали хорошую элиситорную активность, при этом дисперсия НХ-5 характеризовалась значительным иммуномодулирующим действием по сравнению с дисперсией НХ. Вполне вероятно, что причина преимущества дисперсии НХ-5 кроется в его составе, сочетающем наночастицы (компактизованные макромолекулы хитозана) и ассоциаты свободных макромолекул хитозана. Последние представляют собой рыхлые с большой подвижностью частицы, у которых на поверхности есть доступность к функциональным аминок группам.

Преимущество дисперсии НХ-5 наблюдалось и при ее сравнении с раствором хитозана.

Из данных табл. 3 видно, что предобработка растений пшеницы дисперсией НХ-5 в концентрации 0.01% в два раза снижала пораженность листьев темно-бурой пятнистостью, в то время как раствор хитозана в той же концентрации практически не влиял на развитие болезни. Таким образом, предположение об усилении биологического действия дисперсий НХ-5, имеющих в своем составе наряду с наночастицами еще и агрегаты макромолекул хитозана, которые несут положительный заряд, подтвердилось.

В заключение необходимо отметить, что изученные дисперсии могут рассматриваться в качестве эффективных натуральных антимикробных

препаратов, обладающих индуцирующей активностью. Простота метода их получения, особенно дисперсии НХ-5, отсутствие других биологически активных компонентов в системах, кроме самого хитозана, являются основными преимуществами данного подхода, который полностью соответствует концепции “зеленой химии”.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ. Данная работа выполнена за счет средств бюджета института (ВИЗР). Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ. В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Варламов В. П., Ильина А. В., Шагдарова Б. Ц., Луньков А. П., Мысякина И. С. // Успехи биологической химии. 2020. Т. 60. С. 317–368.
2. Wang W., Meng Q., Li Q., Liu J., Zhou M., Jin Z., Zhao K. // Int. J. Mol. Sci. 2020. V. 21. № 2. P. 487. <https://doi.org/10.3390/ijms21020487>
3. Saharan V., Pal A. // Chitosan Based Nanomaterials in Plant Growth and Protection. Springer Briefs in Plant Science. Springer New Delhy, 2016. 55 p. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-3601-6>
4. Варламов В. П., Немцев С. В., Тихонов В. Е. Хитин и хитозан: природа, получение и применение. М.: Российское Хитиновое общество, 2010. 292 с.
5. El Hadrami A., Adam L. R., El Hadrami I., Daayf F. // Marine Drugs. 2010. V. 8. № 4. P. 968–987. <https://doi.org/10.3390/md8040968>
6. Badawy M. E., Rabea E. I. // Int. J. Carbohydrate Chemistry. 2011. P. 1–29. <https://doi.org/10.1155/2011/460381>
7. Тютерев С. Л. Природные и синтетические индукторы устойчивости растений к болезням. СПб: ВИЗР, 2014. 212 с.
8. Kulikov S. N., Tikhonov V. E., Blagodatskikh I. V., Bezrodnykh E., Lopatin S., Khayrullin R. et al. // Carbohydrate Polymers 2012. V. 87. P. 545–550. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.08.017>
9. Mourya V. K., Inamdar N. N. // Reactive & Functional Polymers, 2008. V. 68. P. 1013–1051.
10. Ильина А.В. // Рыбпром: технологии и оборудование для переработки водных биоресурсов. 2010. № 2. С. 70–75.
11. Choudhary M. K., Saharan V. // International Journal of Chemical Studies. 2017. V. 5. № 4. P. 1489–1494.
12. Hendrickson C., Garrett H., Bunderson L. // Agri Res. & Tech.: Open Access J. 2017. V. 11. № 1. P. 555803. <https://doi.org/10.19080/ARTOAJ.2017.11.555803>
13. Bandara S., Du H., Carson L., Bradford D. // Nanomaterials. 2020. V. 10. P. 1–32. <https://doi.org/10.3390/nano10101903>
14. Kumaraswamy R. V., Kumari S., Choudhary R. C., Pal A., Raliya R., Biswas P., Saharan V. // Int. J. Boil. Macromol. 2018. V. 113. P. 494–506. https://doi.org/10.1007/978-3-030-12496-0_5
15. Eshghi S., Hashemi M., Mohammadi A., Badii F., Mohammadhoseini Z., Ahmadi K. // Food Bioprocess Technol. 2014. V. 7. № 8. P. 2397–2409. <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1281-2>
16. Shukla S. K., Mishra A. K., Arotiba O. A., Mamba B. B. // Int. J. Biol. Macromol. 2013. V. 59. P. 46–58. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.04.043>
17. Khot L. R., Sankaran S., Maja J., Ehsani R. // Crop. Protection. 2012. V. 35. P. 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.01.007>
18. Ing L. Y., Zin N. M., A., Katas H. // Int. J. Biomater. 2012. V. 1. P. 2–9. <https://doi.org/10.1155/2012/632698>
19. Abdeltwab W. M., Abdelallem Y. F., Metry W. A., Eldeghedy M. // J. Adv. Lab. Res. Biol. 2019. V. 10. P. 8–15.
20. Oh J.-W., Chun S. C., Chandrasekaran M. // Agronomy. 2019. V. 9. P. 21. <https://doi.org/10.3390/agronomy9010021>
21. Chandra S., Chakraborty N., Dasgupta A., Sarkar J., Panda K., Acharya K. // Sci. Rep. 2015. V. 5. P. 1–14. <https://doi.org/10.1038/srep15195>
22. Sathiyabama M., Manikandan A. // Carbohydrate Polymers. 2016. V. 154. P. 241–246. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.06.089>
23. Siddaiah C. N., Satyanarayana N. R., Mudili V., Gupta V. K., Kalagatur N. K., Satyavati T. et al. // Sci. Rep. 2018. V. 8. № 1. P. 2485. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-19016-z>
24. Власов П. С., Киселев А. А., Домнина Н. С., Попова Э. В., Тютерев С. Л. // Журнал прикладной химии. 2009. № 9. С. 1571. <https://doi.org/10.1134/S1070427209090298>
25. Popova E. V., Domnina N. S., Zorin I. M., Lezov A. A., Novikova I. I., Krasnobaeva I. L. // Nanobiotechnology Reports. 2023. V. 18. № 2. P. 238–246. <https://doi.org/10.1134/s2635167623700088>
26. Методические рекомендации по испытанию химических веществ на фунгицидную активность / Под ред. Е. И. Андреева, В. С. Картомышева. М.: НИИТЭХИМ, 1990. 52 с.
27. Rampino A., Borgogna M., Blasi P., Bellich B., Cesàro A. // Int. J. Pharm. 2013. V. 455. P. 219. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.07.034>
28. Nugraheni P. S., Soeriyadi A. H., Ustadi U., Seddiawan W. B., Budhijanto W. // J. Eng. Technol. Sci. 2019. V. 51. № 3. P. 430. <https://doi.org/10.5614/j.eng.technol.sci.2019.51.3.9>

29. Попова Э. В., Зорин И. М., Домнина Н. С., Новикова И. И., Краснобаева И. Л. // Журнал общей химии. 2020. Т. 90. № 7. С. 1124–1132.
<https://doi.org/10.31857/s0044460x20070173>
30. Купреев Н. И. Кузнецов В. А. Способ получения наночастиц низкомолекулярного хитозана. Пат. № 2428432 (Россия). 2011.
31. Милушева Р. Ю., Рашидова С. Ш. // Высокомолекулярное соединение. Серия С. 2017. Т. 59. № 1. С. 33.
<https://doi.org/10.7868/S2308114717010058>
32. Ing L. Y., Zin N. M., Sarwar A., Katas H. // Int. J. Biomater. 2012. V. 1. P. 1–9.
<https://doi.org/10.1155/2012/632698>
33. Abdeltwab W. M., Abdelaliem Y. F., Metry W. A., Eldeghedy M. // J. Adv. Lab. Res. Biol. 2019. V. 10. № 1. P. 8–15.

Biological Activity of Chitosan Nanoparticle Dispersions Produced by Fractional Precipitation

E. V. Popova^{a, *}, N. S. Domnina^b, I. I. Novikova^a, N. M. Kovalenko^a, I. L. Krasnobaeva^{a, **},
 and I. M. Zorin^b

^aAll-Russian Research Institute for Plant Protection, Pushkin, 196608 Russia

^bSt. Petersburg State University, St. Petersburg, 199034 Russia

*e-mail: elzavpopova@mail.ru

**e-mail: krasnobaeva08@mail.ru

An assessment was made of the antifungal and immunomodulatory activity of dispersions of chitosan nanoparticles obtained by fractional precipitation at pH 5.0 and pH 7.5 using chitosan of different molecular weights. The dispersion of nanoparticles obtained at pH 5 has increased fungistatic activity against *C. sativus* and *A. solani*, due to the higher availability of amino groups in looser nanoparticles. This dispersion showed immunostimulating activity, increasing the resistance of wheat to dark brown spot. It was also established that the elicitor activity of dispersions of chitosan nanoparticles is significantly higher than the activity of solutions of the original polymer.

Keywords: chitosan, nanochitosan, antifungal, elicitor activities, *Alternaria solani*, *Cohliobolus sativus*, wheat