

ВЛИЯНИЕ АДДУКТА ФУЛЛЕРЕНА C₆₀ С ТРЕОНИНОМ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ, ЭЛЕМЕНТНЫЙ И БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ

М.А. Журавлева¹, Т.А. Банкаина¹, Е.В. Канаш², К.Н. Семенов¹, Н.А. Чарыков³, Л.М. Аникина², О.Р. Удалова², Ю.В. Хомяков², В.Е. Вертебный², А.С. Журавлева², Г.Г. Панова²

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия, *k.semenv@spbu.ru; bankinaagro@mail.ru*

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Агрофизический научно-исследовательский институт», Санкт-Петербург, Россия, *gaiane@inbox.ru*

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)», Санкт-Петербург, Россия, *ncharykov@yandex.ru*

Аннотация. Исследовательская работа посвящена изучению влияния некорневой обработки раствором аддукта фуллерена C₆₀ с треонином на развитие последствий стрессового действия почвенной засухи на физиологическое состояние, продуктивность, элементный и биохимический состав яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Показано его выраженное положительное влияние на устойчивость растений к моделируемому абиотическому и сопутствующему биотическому стрессам, что обусловлено комплексным регуляторным воздействием данного вещества на активность работы фотосинтетического аппарата, антиоксидантных систем растений, транспорта и перераспределения элементов питания по их органам.

Ключевые слова: аддукт фуллерена C₆₀ с треонином, растения яровой пшеницы, продуктивность, химический состав, дефицит почвенной влаги

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-340-345

Создание новых экологически безопасных биodeградируемых высокоэффективных препаратов для повышения продуктивности и устойчивости агро- и экосистем – актуальная задача современной науки. В качестве перспективных форм рассматриваются углеродные наноструктуры – водорастворимые производные фуллеренов C₆₀ и C₇₀, широко применяемых в биомедицине и фармакологии вследствие их способности проникать через биомембраны, благодаря липофильности и наноразмерам, транспортировать лекарственные вещества к клеткам-мишеням, антиоксидантным свойствам [Пиотровский, 2007; Корнев и др., 2013 и др.]. Однако о механизмах влияния водорастворимых производных фуллеренов на растения и процессы в агро- и экосистемах известно крайне мало [Andreev et al., 2008; Kole et al., 2013; Panova et al., 2016].

Ранее была выявлена способность водорастворимых аминокислотных производных фуллерена C₆₀ и фуллеренола повышать устойчивость растений к окислительному стрессу, вызванному облучением УФ-В радиацией, засолением и другим стрессовым воздействиям, что, по всей видимости, обуславливалось антиоксидантными свойствами указанных веществ [Panova et al., 2016; Панова и др., 2018]. Показано, в частности, что обработка семян растворами разной концентрации фуллеренола способствовала уменьшению содержания активных форм кислорода (АФК) и предотвращала субапикальное утолщение корней при УФ-В облучении проростков ярового ячменя [Panova et al., 2016]; а некорневая обработка аминокислотными производными фуллерена C₆₀ способствовала активизации работы

антиоксидантных систем растений и повышению эффективности работы фотосинтетического аппарата [Панова и др., 2018].

Цель данной работы заключалась в изучении влияния некорневой обработки растений раствором аддукта фуллерена C_{60} с треонином на развитие последствий стрессового действия почвенной засухи на физиологическое состояние, продуктивность, элементный и биохимический состав яровой пшеницы (*Triticum aestivum L.*).

Аддукт фуллерена C_{60} с треонином был получен методом одностадийного синтеза из индивидуальных фуллеренов, фуллереновой смеси или фуллереновой сажи при помощи водного раствора щелочи и межфазного катализатора (ТВАН) [Семенов и др. 2013]. Объектами исследований служили растения яровой пшеницы (*Triticum aestivum L.*) сорта Ленинградская 6. В вегетационном эксперименте с моделированием дефицита почвенной влаги растения выращивали в сосудах с 3,4 кг дерново-подзолистой супесчаной почвы (слой Апах.) в условиях постоянно проветриваемой поликарбонатной теплицы при естественных освещенности, температуре и влажности воздуха. Количество растений в сосуде – 5. Повторность опыта – 25-30 растений. Некорневую обработку растений раствором фуллерена C_{60} с треонином, а также раствором треонина осуществляли 3 раза с периодичностью 7 дней в период кущения-выход в трубку. Концентрация фуллерена C_{60} с треонином составляла 0,1 мг/л, раствора аминокислоты треонина – 0,057 мг/л.

Для создания стрессовых условий через 3 сут после последней некорневой обработки наносоставами влажность в части сосудов доводили до уровня 25-30% от полной влагоемкости и поддерживали дефицит влаги на указанном уровне в течение 14 дней, после чего повышали уровень влажности в этих вариантах до 60% от полной влагоемкости. Контролем служили обработанные водой растения, выращиваемые в почве с благоприятным уровнем влажности – 60% от полной влагоемкости. Растения убраны в фазу полной спелости и доведены до воздушно-сухого состояния.

Для оценки изменений в работе антиоксидантной системы растений определяли интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) – по накоплению в растениях малонового диальдегида (МДА), активность супероксиддисмутазы (СОД) – методом, основанным на ее способности конкурировать с нитросиним тетразолием за супероксидные радикалы, генерацию активных форм кислорода (АФК) – по превращению адреналина в адренохром, оптическую плотность которого измеряли при $\lambda=480$ нм.

Спектральные характеристики отраженной от поверхности листьев радиации регистрировали в диапазоне от 400 до 1100 нм с шагом 0,3 нм с помощью оптоволоконной спектрорадиометрической системы («Ocean Optics», США) с оптическим разрешением 0,065 нм. Рассчитывали индексы отражения, позволяющие оценить содержание в тканях листьев хлорофиллов, флавоноидов, антоцианов и другие характеристики активности фотосинтетического аппарата [Kanash et al., 2013].

Анализ элементного состава зерна пшеницы проводили общепринятыми методами, путем сухого озоления навески и растворения в соляной кислоте. В солянокислом растворе определялись фосфор, калий, кальций и магний, азот – в отдельной навеске по Кьельдалю.

Физическое моделирование почвенной засухи привело к существенному снижению зерновой продуктивности в контрольных вариантах (на 38%), где растения обрабатывались водой (таблица). Следует отметить, что летний сезон, в котором проводился описываемый эксперимент, характеризовался повышенным количеством осадков при температуре выше 20 °С, что способствовало массовому поражению злаковых культур мучнистой росой. На фоне действия двойного стресса – поражения растений во всех вариантах указанным патогеном и почвенной засухи – особенно

Таблица.
Продуктивность и вынос основных элементов зерном яровой пшеницы сорта Ленинградская 6 при некорневой обработке ее вегетирующих растений раствором аддукта фуллерена С₆₀ с треолином или раствором треолина в благоприятных и стрессовых условиях по содержанию почвенной влаги

Вариант	Масса семян,		Масса соломы		Масса соломы/масса зерна	Вынос элементов зерном яровой пшеницы, мг/растение				
	г/растение Г, М±m	отклонение от контроля, %	г/растение Г, М±m	отклонение от контроля, %		азот	фосфор	калий	кальций	магний
Влажность почвы на благоприятном уровне - 60-70% от полной влагоемкости										
Вода (контроль)	0,55	100	3,64	100	6,6	11,14	5,08	5,32	6,50	4,80
Раствор треолина	0,64*	116*	3,25	89	5,1	20,48*	7,16*	5,76	6,72	4,80
Раствор С ₆₀ -треолина	0,68*	124*	2,96*	81*	4,4*	17,34*	5,84*	4,96	6,46	3,54*
Дефицит почвенной влаги (влажность почвы - 25-30% от полной влагоемкости)										
Вода (контроль)	0,34*	62*	2,76*	76*	8,1*	8,02*	2,34*	2,32*	1,56*	0,78*
Раствор треолина	0,59	107	2,80*	77*	4,8*	14,76*	3,42*	3,96*	2,40*	1,98*
Раствор С ₆₀ -треолина	1,08*	196*	2,38*	65*	2,2*	30,88*	9,62*	6,38*	4,64*	2,82*

Примечание: * - значение достоверно отличается от контрольного на 5%-ном уровне значимости.

интересным и впечатляющим были результаты протекторного влияния аддукта фуллерена C₆₀ с треонином.

Некорневая предстрессовая обработка растений раствором фуллерена C₆₀ с треонином полностью нивелировала негативное действие дефицита почвенной влаги на яровую пшеницу и, более того, способствовала формированию зерновой продуктивности, превышающей на 96% таковую у контрольных растений, не подвергавшихся действию стресса. Следует отметить, что обработка растений раствором треонина также обеспечивала повышение их устойчивости к дефициту почвенной влаги (зерновая продуктивность на 7% выше контрольных значений), но выраженность эффекта была существенно ниже по сравнению с влиянием раствора фуллерена C₆₀ с треонином.

Такое положительное воздействие раствора фуллерена C₆₀ с треонином на растения может быть связано с выявленным его влиянием на активность работы фотосинтетического аппарата и антиоксидантных систем яровой пшеницы. Так, в листьях растений, обработанных раствором фуллерена C₆₀ с треонином, и подвергшихся стрессовому воздействию дефицита почвенной влаги, отмечается более высокие содержание хлорофилла (на 12%), значение фотохимического индекса отражения (на 4%), более значимый прирост содержания флавонолов (на 12%), более низкое содержание антоцианов (на 7%) по сравнению со значениями этих показателей у контрольных растений, подвергавшихся и не подвергавшихся стрессовому действию дефицита почвенной влаги. Увеличение содержания флавонолов, потенциально способных устранять активные формы кислорода и свободные радикалы, возникшие в клетках, после обработки раствором фуллерена C₆₀ с треонином, косвенно свидетельствует об увеличении адаптивности растений к действию окислительного стресса, что подтверждается данными анализа работы антиоксидантных систем растений.

В листьях растений, предобработанных раствором фуллерена C₆₀ с треонином и раствором треонина, в условиях дефицита почвенной влаги происходит существенное уменьшение (на 28% и 16%, соответственно) эффекта ингибирования активности фермента СОД и некоторое повышение интенсивности ПОЛ (на 11% и 37%, соответственно) по сравнению с наблюдаемым в контрольных вариантах.

Таким образом, треонин и, особенно, аддукт фуллерена C₆₀ с треонином обеспечивали неспецифическую устойчивость растений к действию стресса, вызванного дефицитом почвенной влаги и фитопатогеном. Такое положительное влияние аддукта фуллерена C₆₀ с треонином на устойчивость растений к действию дефицита почвенной влаги и других стрессоров, может быть, предположительно, связано с более универсальным использованием треонина в качестве промежуточного продукта в различных путях синтеза защитных веществ при действии стрессоров. Так, известно, что в ходе превращения треонина в лейцин или валин образуется пируват [Azevedo et al., 2006; и др.], который в аэробных условиях трансформируется в ацетил-кофермент А, выступающий в свою очередь в качестве основного субстрата для серии реакций, известных как цикл Кребса, или дыхательный цикл, цикл трикарбоновых кислот с последующим образованием различных вторичных метаболитов с протекторными, сигнальными и другими функциями.

Анализ соотношения массы соломы и массы зерна яровой пшеницы, а также элементного состава соломы и зерна показал, что некорневая обработка раствором фуллерена C₆₀ с треонином обеспечивает перераспределение пластических веществ и минеральных элементов питания в зерно (таблица). Этот эффект особенно выражен в условиях воздействия стрессора (засухи). Усвоение зерном пшеницы азота в этом варианте по сравнению с таковым в контроле без стресса и в контроле со стрессом выше

в 2,8 и 3,9 раз, соответственно; фосфора – в 1,9 и 4,1 раз; калия – в 1,2 и 2,8 раз. В отношении кальция и магния некорневая обработка раствором фуллерена C₆₀ с треонином не обеспечивает полное нивелирование действия стресса на содержание в зерне и соломе данных элементов, однако по сравнению с контрольными растениями, подвергшихся стрессовому действию дефицита почвенной влаги, она способствует существенно более значимому снабжению кальцием и магнием зерна (в 3,0 и 3,6 раз выше, соответственно). Более высокое снабжение зерна азотом у растений, обработанных раствором фуллерена C₆₀ с треонином или раствором треонина, способствовало, очевидно, большему содержанию (в 3-14 раз) в нем небелкового азота и меньшему содержанию (в 1,1-1,4 раз) белкового азота по сравнению с таковым в зерне контрольных вариантов.

Полученные результаты демонстрируют явно выраженное положительное влияние аддукта фуллерена C₆₀ с треонином на устойчивость растений к моделируемому действию почвенной засухи и естественному развитию заболевания, вызванного мучнистой росой, что обусловлено его комплексным регуляторным воздействием на активность работы фотосинтетического аппарата, антиоксидантных систем растений, транспорта и перераспределения элементов питания по их органам. В совокупности это указывает на перспективность дальнейшего изучения механизмов влияния аддукта фуллерена C₆₀ с треонином на почвенно-растительную систему и на пути усовершенствования состава композиций на его основе с целью создания экологически безопасных, эффективных в низких концентрациях препаратов комплексного положительного действия на растения.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 15-29-05837 офу_м).

Литература

Корнев А.Б., Трошина О.А., Трошин П.А. Биологически активные производные фуллеренов, методы их получения и применение в медицине. В кн.: Органические и гибридные наноматериалы: тенденции и перспективы (ред. В.Ф. Разумова, М.В. Клюева). – Иваново, 2013. – С. 392-485.

Панова Г.Г., Канаш Е.В., Семенов К.Н., Чарыков Н.А., Хомяков Ю.В., Аникина Л.М., Артемьева А.М., Корнюхин Д.Л., Вертебный В.Е., Синявина Н.Г., Удалова О.Р., Куленова Н.А., Блохина С.Ю. Производные фуллерена стимулируют продукционный процесс, рост и устойчивость к окислительному стрессу у растений пшеницы и ячменя // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – Т. 53, № 1. – С. 38–49.

Пиотровский Л.Б. Фуллерены в дизайне лекарственных веществ // Российские нанотехнологии. – 2007. – № 2(7-8). – С. 6–18.

Семёнов К.Н., Чарыков Н.А., Кескинов В.А., Кескинова М.В., Сафьянников Н.М., Шубина В.А. Способ получения фуллеренолов. Патент РФ на изобретение RU 2481267 С2. Заявл. 11.02.2011. Оpubл. 10.05.2013. Бюл. № 13.

Andreev I., Petrukhina A., Garmanova A., Babakhin A., Andreev S., Romanova V., Troshin P., Troshina O., DuBuske L. Penetration of fullerene C₆₀ derivatives through biological membranes // Fullerenes, Nanotubes, and Carbon Nanostructures. – 2008. – V. 16. – P. 89–102.

Azevedo R.A., Lancien M., Lea P. J. The aspartic acid metabolic pathway, an exciting and essential pathway in plants // Amino Acids. – 2006. – V. 30. – P. 143–162.

Kanash E.V., Panova G.G., Blokhina S.Yu. Optical criteria for assessment of efficiency and adaptogenic characteristics of biologically active preparations // Acta Horticulturae. – 2013. – V. 1009. – P. 37–44.

Kole C., Kole P., Randunu K.M., Choudhary P., Podila R., Ke P.C, Rao A.M., Marcus R.K. Nanobiotechnology can boost crop production and quality: first evidence from increased plant biomass, fruit yield and phytomedicine content in bitter melon (*Momordica charantia*) // BMC Biotechnology. – 2013. – V. 13. –P. 37–58.

Panova G.G., Ktitorova I.N., Skobeleva O.V., Sinjavina N.G., Charykov N.A., Semenov K.N. Impact of polyhydroxy fullerene (fullerol or fullerenol) on growth and biophysical characteristics of barley seedlings in favourable and stressful conditions // Plant Growth Regulation. – 2016. –V. 79. –P. 309–317.

INFLUENCE OF FULLERENE C₆₀ ADDUCT WITH THREONINE ON PRODUCTIVITY, ELEMENTAL AND BIOCHEMICAL COMPOSITION OF WHEAT IN DROUGHT CONDITIONS

M.A. Zhuravleva¹, T.A. Bankina¹, E.V. Kanash², K.N. Semenov¹, N.A. Charykov³, L.M. Anikina², O.R. Udalova², Yu.V. Khomyakov², V.E. Vertebnyi², A.S. Zhuravleva², G.G. Panova²

¹Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Saint-Petersburg State University», St. Petersburg, Russia, *k.semenov@spbu.ru; bankinaagro@mail.ru*

²Agrophysical Research Institute, St. Petersburg, Russia, *gaiane@inbox.ru*

³Saint-Petersburg State Institute of Technology, St. Petersburg, Russia, *ncharykov@yandex.ru*

Abstract. The research work is devoted to the study of the influence of foliar treatment with a solution of the fullerene C₆₀ adduct with threonine on the development of the effects of the soil drought stress on the physiological state, productivity, elemental and biochemical composition of spring wheat (*Triticum aestivum* L.). It is shown that it has a pronounced positive effect on plant resistance to simulated abiotic and accompanying biotic stresses, which is due to the complex regulatory impact of this substance on the activity of the photosynthetic apparatus, plants antioxidant systems, transport and redistribution of nutrients to their organs.

Keywords: *fullerene C₆₀ adduct with threonine, spring wheat plants, productivity, chemical composition, soil moisture deficiency*