

ПРИМЕНЕНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ФУЛЛЕРЕНА ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ К ОКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ

Г.Г. Панова¹, Е.В. Канап¹, К.Н. Семенов², Н.А. Чарыков³, Ю.В. Хомяков¹, Л.М. Аникина¹, О.Р. Удалова¹, В.Е. Вертебный¹, Д.В. Русаков¹, С.Ю. Блохина¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Агрофизический научно-исследовательский институт», Санкт-Петербург, Россия, gaiane@inbox.ru

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия, k.semenov@spsu.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 механизмов влияния наносоставов – водорастворимых аминокислотных производных фуллерена C₆₀ на продукционный процесс растений в благоприятных и стрессовых условиях. В условиях моделирования окислительного стресса выявлена защитная способность у ряда производных фуллерена C₆₀, что связано с их регуляторным воздействием на процессы синтеза фотосинтетических пигментов и фотосинтетический аппарат, а также, очевидно, с антиоксидантным эффектом, усиливающим защиту растений от окислительного стресса. Указанные изменения в состоянии растений наиболее выражены при действии C₆₀-треонина.

Ключевые слова: аминокислотные производные фуллерена C₆₀, растения ячменя, продукционный процесс растений, устойчивость, окислительный стресс

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-608-612

Особенности и механизмы влияния водорастворимых производных фуллеренов на растения в агро- и экосистемах практически не изучены [Andreev et al., 2008; Kole et al., 2013; Rapova et al., 2016]. Ранее была выявлена способность фуллеренола C₆₀ предотвращать развитие окислительного стресса и уменьшать содержание активных форм кислорода (АФК) и предотвращать субапикальное утолщение корней при УФ-В облучении проростков ярового ячменя после обработки семян растворами разной концентрации [Rapova et al., 2016].

Цель данной работы заключалась в оценке возможности оптимизации продукционного процесса и увеличения устойчивости растений ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) к окислительному стрессу с помощью производных фуллерена C₆₀ – аддуктов с L-треонином, L-пролином, L-гидроксипролином, L-гистидином.

Аддукты фуллерена C₆₀ были получены 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 ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Ленинградский. Растения выращивали в сосудах с аэрируемыми питательными растворами в вегетационных светоустановках, оснащенных лампами ДНаЗ-400 до достижения стадии 6-7-го листа [Панова и др., 2015]. Облученность в области ФАР – 80-90 Вт/м², фотопериод – 14 ч, температуру воздуха – 25±2 °С, относительную влажность – 65±5% поддерживали постоянными. В каждом сосуде выращивали по 10 растений, повторность опыта – 50 растений. Аэрирование раствора в сосудах осуществляли непрерывно, смену раствора проводили через каждые 3 суток.

Производные фуллерена C₆₀ вводили в аэрируемый питательный раствор (1 мг/л) или выполняли некорневую обработку (0,1 мг и 15 мг на 1 л питательного раствора).

Контролем служили растения, обработанные питательным раствором без добавления производных фуллерена. Некорневая обработка растений аддуктами C_{60} выполнена 3 раза за вегетацию с периодичностью 7 суток в период кущения – выхода в трубку. Через 3 суток после последней некорневой обработки аддуктами C_{60} растения облучали УФ-В радиацией (280-380 нм с максимумом 320 нм) в дозе 20 кДж/м².

Для оценки антиоксидантных свойств фуллеренов 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 спектрометрической 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].

Эксперименты по моделированию окислительного стресса, вызванного облучением УФ-В радиацией в период «выход в трубку» продемонстрировали защитные функции ряда производных фуллерена при некорневом применении. Например, некорневая обработка фуллерена C_{60} с треонином предотвращало разрушение хлорофилла УФ-В радиацией – изменение содержания этого пигмента, судя по величине индекса хлорофиллов (ChlRI), после облучения было недостоверным. УФ-В облучение способствовало накоплению антоцианов, о чем свидетельствует рост величины индекса антоцианов (ARI). Так, содержание антоцианов на вторые сутки после облучения в листьях контрольных растений закономерно увеличилось на 20%, в листьях, предобработанных раствором C_{60} -треонина, – на 13%, обработанных раствором треонина – на 8% [Панова и др., 2018]. Через 7 суток разница в содержании антоцианов относительно контрольных значений в листьях необлученных растений по-прежнему составляла +20%, в листьях, обработанных раствором C_{60} -треонина, она увеличилась уже до +16%, в листьях, обработанных раствором треонина, – до +29%. (таблица). Отмеченное позволяет предположить, что последствия стрессового воздействия УФ-В радиацией на растения, предварительно обработанных раствором C_{60} -треонина, были менее значимыми по сравнению с таковыми у контрольных облученных растений и растений, предварительно обработанных раствором аминокислоты треонина. В пользу данного предположения свидетельствуют также данные оценки влияния аминокислотных производных фуллерена и аминокислот на активность работы антиоксидантной системы растений в их листьях. Выявлено, что все испытуемые вещества в благоприятных условиях повышают интенсивность ПОЛ и по-разному влияют на активность СОД (таблица). В условиях окислительного стресса, когда в листьях облученных контрольных растений на 202% возрастает интенсивность ПОЛ и на 46% падает активность СОД, в листьях растений, предобработанных наносоставами, отмечается существенно меньшее увеличение ПОЛ и преимущественно наблюдается увеличение активности СОД относительно таковой в контрольном необлученном варианте. Отмеченное свидетельствует о способности производных фуллерена активизировать антиоксидантные системы защиты растений ячменя против развития окислительного стресса.

В результате, очевидно, устойчивость к действию УФ-В радиации у растений ячменя, обработанных, в частности, производным фуллерена с треонином, судя по массе надземной части и корней, была на 9-11% выше, чем у контрольных облученных

растений, у которых под воздействием стрессора масса растения снижалась на 29%, в том числе масса надземной части – на 33 %, масса корней – на 11 %. Следует отметить тенденцию к более эффективному влиянию производного фуллерена с треонином по сравнению с действием одной аминокислоты.

Таблица.

Показатели физиологического состояния у ярового ячменя сорта Ленинградский при некорневой обработке растворами аминокислотных производных фуллерена С₆₀ (концентрация 0,1 мг/л раствора) в благоприятных условиях и при стрессе, вызванном УФ-В облучением

Вариант	Содержание пигментов в листьях растений, отн. ед.		Показатели активности антиоксидантной системы растений		Общая масса растения	
	ChlRI, отклонение от контроля, %	ARI, отклонение от контроля, %	ПОЛ, (ммоль/г) отклонение от контроля, %	СОД (отн. ед) , отклонение от контроля, %	г, $M \pm m$	отклонение от контроля, %
Вода (контроль)	–	–	–	–	2,29±0,25	–
Раствор С ₆₀ -треонина	+1,3	+2,5	+40*	–16	2,41±0,26	+5,2
Раствор треонина	+4,0	+5,2	+35*	–21*	2,27±0,28	–0,9
Раствор С ₆₀ -гидроксипролина	–0,6	+28,2*	+44*	+23*	1,64±0,28*	–28,4*
Раствор гидроксипролина	+0,2	+13,7	+69*	+53*	1,96±0,46	–14,4
Раствор С ₆₀ -пролина	+1,1	+1,5	+21*	–2	2,03±0,36	–11,4
Раствор пролина	–1,1	+6,4	+27*	–20*	2,12±0,32	–7,4
Раствор С ₆₀ -гистидина	+5,4	0	+25*	–1	2,29±0,40	0
Раствор гистидина	+1,9	+1,0	+14	+7	2,50±0,49	+9,2
УФ-В облучение						
Вода (контроль)	–3,8	+19,9*	+202*	–46*	1,63±0,25*	–28,8*
Раствор С ₆₀ -треонина	+3,3	+15,6	+183*	–39*	1,88±0,23	–17,9
Раствор треонина	–1,1	+28,6*	+129*	+3	1,76±0,23	–23,1*
Раствор С ₆₀ -гидроксипролина	–6,1	+21,4*	+10	+23*	1,46±0,36 *	–36,2*
Раствор гидроксипролина	+1,3	+17,4	+37*	+40*	1,55±0,29 *	–32,3*
Раствор С ₆₀ -пролина	+4,0	+13,7	+83*	+4	1,65±0,32 *	–28,0*
Раствор пролина	+2,1	+22,2*	+148*	+11	1,65±0,32 *	–28,0*
Раствор С ₆₀ -гистидина	1,9	+18,7*	+77*	+25*	1,52±0,29 *	–33,6*
Раствор гистидина	–4,0	+32,4*	+115*	+12	1,34±0,30*	–41,5*

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

Производные фуллерена C₆₀ с пролином и гидроксипролином оказали менее выраженное положительное влияние на устойчивость ячменя к окислительному стрессу, судя по биомассе растений. В результате растения, обработанные данными веществами и соответствующими указанным производным фуллерена аминокислотами, несмотря на значимое воздействие последних на процессы синтеза фотосинтетических пигментов и фотосинтетический аппарат, а также на активность антиоксидантной системы в листьях ячменя, по нетто-продуктивности практически не отличались от облученных растений в контроле. Следует отметить, отсутствие защитной функции у аминокислотного производного фуллерена C₆₀ с гистидином и, особенно, у аминокислоты гистидина против развития окислительного стресса, несмотря на то, что в благоприятных условиях он оказывает значимое стимулирующее воздействие на показатели роста растений.

Таким образом, в условиях моделирования окислительного стресса выявлена способность ряда производных фуллерена C₆₀ увеличивать толерантность растений к действию окислительного стресса, обусловленная регуляторным воздействием данных веществ на процессы синтеза фотосинтетических пигментов и фотосинтетический аппарат, а также, очевидно, связанная с антиоксидантным эффектом. Указанные изменения в состоянии растений наиболее выражены при действии C₆₀-треонина. Выявленное положительное влияние синтезированных аминокислотных производных фуллерена C₆₀ на продукционный процесс и устойчивость растений к окислительному стрессу свидетельствуют о перспективности дальнейшего изучения механизмов влияния этих соединений на почвенно-растительную систему с целью создания на их основе препаратов для использования в растениеводстве.

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

Литература

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.

Панова Г.Г., Черноусов И.Н., Удалова О.Р., Александров А.В., Карманов И.В., Аникина Л.М., Судаков В.Л. Научно-технические основы круглогодичного получения высоких урожаев качественной растительной продукции при искусственном освещении // *Доклады РАСХН*. – 2015. – № 4. – С. 17–21.

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.

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.

APPLICATION OF FULLERENE DERIVATIVES FOR INCREASING BARLEY PLANTS RESISTANCE TO OXIDATIVE STRESS

G.G. Panova¹, E.V. Kanash¹, K.N. Semenov², N.A. Charykov³, Yu.V. Khomyakov¹, L.M. Anikina¹, O.R. Udalova¹, V.E. Vertebnyi¹, D.V. Rusakov¹, S.Yu. Blokhina¹

¹Agrophysical Research Institute, Saint-Petersburg, Russia, *gaiane@inbox.ru*

²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education “Saint-Petersburg State University”, Saint-Petersburg, Russia, *k.semenov@spbu.ru*

³Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Saint-Petersburg State Institute of Technology», Saint-Petersburg, Russia, *ncharykov@yandex.ru*

Abstract. The research work is devoted to the study of the mechanisms of the influence of nanocompositions – water-soluble amino acid fullerene C₆₀ derivatives – on the plant production processes under favorable and stressful conditions. Under the conditions of oxidative stress modeling, the protective ability of a number of fullerene C₆₀ derivatives was revealed, which is related to their regulatory effect on the photosynthetic pigments synthesis processes and photosynthetic apparatus, as well as, obviously, with an antioxidant effect that enhances plant protection from oxidative stress. These changes in the state of plants are most pronounced at the C₆₀-threonine action.

Keywords: *amino acid fullerene C₆₀ derivatives, barley plants, plant production processes, resistance, oxidative stress*