ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotex-journal.ru>

ВЛИЯНИЕ АСКОРБАТА И ГЛУТАТИОНА НА РОСТОВУЮ ФУНКЦИЮ КОРНЕЙ ГОРОХА

Пахомова В.М., Дамина А.И.

Казанский государственный аграрный университет,
г. Казань, Россия
E-mail: pahomovav@mail.ru

Морфометрически изучали влияние природных антиоксидантов *L*-аскорбата и восстановленного глутатиона в широком диапазоне концентраций (10^{-13} – 10^{-3} М) на ростовую функцию корней гороха (длину главного корня и боковых корней). Экспозиция составила 72 и 120 ч. Контролем служили растения, выращенные на дистиллированной воде. Показано, что действие изученных антиоксидантов на начальные этапы роста является функцией их концентрации и продолжительности влияния. Исследованные антиоксиданты в концентрации 10^{-3} М приводили к сильному торможению роста корней или их полному отравлению. Инкубация в течение 72 ч на концентрации 10^{-5} М приводила к существенному увеличению длины главного корня проростков. Более длительное воздействие (120 ч) на концентрации 10^{-11} М приводило не только к значительному возрастанию длины главного корня, но и развитию боковых корней. Выдвинуто предположение о неспецифическом характере ростигибирующего и ростстимулирующего действия указанных выше концентраций исследуемых антиоксидантов. На основании собственных экспериментальных и литературных данных сделан вывод об их полифункциональности.

Ключевые слова: *Pisum sativum* L., *L*-аскорбат, восстановленный глутатион, длительность воздействия, концентрационный эффект, неспецифический механизм, природные антиоксиданты, стимуляция роста

THE INFLUENCE OF ASCORBATE AND GLUTATHIONE ON THE PEA ROOT GROWTH FUNCTION

Pakhomova V.M., Daminova A.I.

Kazan State Agrarian University,
Kazan, Russia
E-mail: pahomovav@mail.ru

The effect of natural antioxidants (*L*-ascorbate and reduced glutathione) in a wide range of concentrations (10^{-13} – 10^{-3} M) on the growth function of the pea roots (length of the main root and lateral roots) was studied. It was shown that the effect of the antioxidants on the initial stages of growth is a function of their concentration and duration of influence. The action of antioxidants at a concentration of 10^{-3} M led to a strong inhibition of root growth or their complete poisoning. Incubation for 72-h at a concentration of 10^{-5} M led to a significant increase in the length of the main root of seedlings. The 120-h exposure to 10^{-11} M concentrations of these compounds led not only to a significant increase in the length of the main root, but also to the development of lateral roots. It has been suggested that the growth inhibition and growth-stimulating effects of the above concentrations of these antioxidants are nonspecific. Based on the own experimental and literary data, it was concluded that the antioxidants action are multifunctionally. The antioxidants as the most external factors influenced on the growth process only indirectly, causing certain changes in the course of the growth processes.

Keywords: *Pisum sativum* L., *L*-ascorbate, reduced glutathione, duration of exposure, concentration effect, nonspecific mechanism, natural antioxidants, growth stimulation

Поступила в редакцию: 18.03.2020

DOI: [10.31163/2618-964X-2020-3-2-111-117](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2020-3-2-111-117)

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы в практике растениеводства начали активно применяться антиоксиданты различной природы, главным образом, для увеличения устойчивости растений к действию стрессоров биогенной и абиогенной природы [Barna et al., 2012]. Наибольшее внимание сосредоточено на использовании природных антиоксидантов. К низкомолекулярным биоантиоксидантам относятся, как известно, аскорбиновая кислота, восстановленный глутатион, витамин Е, каротиноиды и др. [Калинина и др., 2014; Смирнов,

Суховская, 2014; Demidchik, 2015; Колупаев, 2016; Пахомова, Даминова, 2017; Войтехович и др., 2018]. Антиоксиданты могут быть также использованы как регуляторы роста растений. Известные в настоящее время ростстимулирующие соединения ограничены в применении из-за высокой стоимости или экологической небезопасности. Антиоксиданты, не вызывая мутагенез и не проявляя высокую токсичность, могут быть наиболее пригодны как стимуляторы роста растений. Ранее нами была установлена антиоксидантная активность регулятора роста растений этаноламина [Гайсин, Пахомова, 2016]. Ростстимулирующее действие как на надземную часть растений, так и корневую систему показано также для синтетических малотоксичных антиоксидантов из класса оксипиридинов и 3-оксипиридинов. Установлена возможность их применения для повышения всхожести семян [Пахомова, Даминова, 2017]. Следует иметь в виду, что регуляторы роста различной химической природы, также, как и антиоксиданты, повышают устойчивость растений к действию стрессоров, урожайность сельскохозяйственных культур и качество продукции растениеводства [Шаповал и др., 2014; Данилов, 2017].

В связи с этим представляло интерес изучить влияние антиоксидантов нативной природы (аскорбата и глутатиона) на ростовую функцию растений. Это и явилось целью настоящих исследований. В задачи исследования входило изучение концентрационного и временного эффектов влияния данных антиоксидантов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования были проростки гороха (*Pisum sativum* L.) сорта Казанский-38.

Для изучения действия антиоксидантов на ростовую функцию брали равные по величине неповрежденные семена гороха (из урожая одного и того же года), проращивали их на дистиллированной воде; отбирали проростки с равной длиной зародышевого корешка (0,5 см), помещали на фильтрованную бумагу в чашки Петри с соответствующими растворами (уровень жидкости не превышал 1–2 мм) и выращивали в темноте (термостате) при 26°C. После 36 и 120 ч проводили измерение длины главного и боковых корней с помощью миллиметровой бумаги. Растворы меняли через 1 сутки. Контролем служили растения, выращенные на дистиллированной воде; pH экспериментальных растворов приводили в соответствие с контролем. Опыты проводили 3 года.

В работе использовали *L*-аскорбат и восстановленный глутатион отечественного производства (чда) в диапазоне концентраций 10^{-13} – 10^{-3} М.

На рисунках представлены средние значения из четырех повторностей наиболее повторяющегося опыта со стандартными отклонениями. Опыты проводились от трех до десяти раз. Различия в вариантах оценивали критерием Стьюдента при $P_{0,05}$. Разница с контролем меньше 30% недостоверна.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Изучаемые нами антиоксиданты в концентрации 10^{-3} М приводили к сильному торможению роста корней проростков гороха или их полному отравлению (рис. 1 и 2). В работе Иванова В.Б. [Иванов, 1974] было отмечено, что при действии высоких концентраций (10^{-3} М и более) не электролитов наблюдается неспецифическое торможение роста разных

органов растений, обусловленное наркотическим действием или нарушением ионного гомеостаза клеток в результате их осмотической активности.

Рис. 1. Изменение длины главного корня гороха после 72-ч экспозиции на разных концентрациях антиоксидантов.

Рис. 2. Изменение длины главного корня гороха после 120-ч экспозиции на разных концентрациях антиоксидантов.

В то же время 72-ч действие антиоксидантов в концентрации 10^{-5} М приводило к существенному увеличению длины главного корня проростков (рис. 1). При более

продолжительном ее влиянии (120 ч) также наблюдалось угнетение ростовой функции корней (рис. 2). Концентрации антиоксидантов менее 10^{-5} М при 72-ч воздействии не вызывали достоверного эффекта на ростовую функцию корней гороха (рис. 1).

На первый взгляд парадоксальны данные по действию сверхнизких доз антиоксидантов (10^{-11} М растворы) при увеличении продолжительности их влияния (120 ч): наблюдается существенное возрастание длины главного корня (на 65 и 68% для *L*-аскорбата и глутатиона, соответственно) и развитие боковых корней (рис. 3). Интересно, что диапазон концентраций ниже 10^{-5} М (вплоть до 10^{-9} М) является «мертвой зоной» с отсутствием видимого эффекта. Концентрация 10^{-13} М также является «недействующей» в проводимых нами исследованиях (рис. 2).

Рис. 3. Влияние антиоксидантов (в концентрации 10^{-11} М) на общую длину боковых корней после 120-ч экспозиции.

ОБСУЖДЕНИЕ

Изменение ростовых и других физиолого-биохимических процессов растений при варьировании силы воздействия продемонстрированы также для соединений и физических факторов различной природы [Рыбкина, 1977; Uppal, Banerji, 1985]. Интересно, что действие ядов и веществ нейтральной природы фактически не отличается: в больших концентрациях они оказывают ингибирующее действие на ростовые процессы, а при слабых концентрациях – стимулирующее. Выдвигались различные гипотезы этого феномена [Данович и др., 1982]. Не исключено, что этот феномен может дать весьма сомнительные основания для утверждения об открытии новых стимуляторов роста растений.

Ранее установлено, что любое умеренное воздействие приводит первоначально к стимуляции функций, а в последствии имеет место их ингибирование [Кондрашова и др., 1987]. Исходя из этого, вполне объяснима активация роста корней в наших экспериментах при 72-ч влиянии 10^{-5} М растворов антиоксидантов и его угнетение при 120-ч воздействии.

Механизм такого действия реагентов до настоящего времени не изучен. Существует достаточно много предположений: увеличение мембранной проницаемости при воздействиях, способствующее устранению торможения роста; активизация

внутриклеточных процессов гидролиза окисления, возбуждающих функциональную активность клеток. В случае активизации прорастания семян и роста проростков описано предположение, что воздействия средней силы могут интенсифицировать их через нарушение «равновесного» состояния покоя семян путем модификации состояния молекул и (или) функциональной активности мембран. Последнее может сопровождаться «запуском» целого каскада реакций: активированием ферментов и молекул-регуляторов, сдвигом рН различных компартментов клеток, включением сигнальных систем и т.п. [Данович и др., 1982].

Описанная выше закономерность, перешедшая в общую физиологию XX века из опыта XIX века, в последние десятилетия прочно закрепилась в физиологии растений в связи с распространением учения Селье об адаптационном синдроме. Благодаря широкому вторжению проблемы стресса в физиологические лаборатории в тени остались более тонкие градации интенсивности функций в зависимости от силы взаимодействия. Это произошло потому, что при исследовании стресса к живому объекту прилагались патогенные воздействия, интенсивность которых превышала нормальные физиологические границы. Такая практика «загубила чувствительность экспериментов» к физиологическим воздействиям. Возникло ощущение, что сильные воздействия являются более сильными активаторами. Воздействия физиологической силы стали называть слабыми и их исследованию уделялось гораздо меньше внимание. Между тем, как уже отмечалось, значительную роль для функциональной активности может играть доза слабых и сверхслабых воздействий («левее так называемой мертвой зоны»). Установлено, что при таких воздействиях активизируются различные компенсаторные механизмы, повышающие резистентность клеток [Бурлакова и др., 2004].

На основании вышеизложенного можно заключить, что ростстимулирующее действие антиоксидантов в концентрации 10^{-11} М также неспецифично. Близкие дозы ингибиторов метаболизма приводят к аналогичному эффекту на эндо- и экзоосмос тканей растений [Рыбкина, 1977]. Механизм сверхнизкого воздействия антиоксидантов на рост корней, вероятно, отличается их влияния в концентрации 10^{-5} М. Они могут включать другую функциональную программу, которая обеспечивает иной физиологический ответ (развитие боковых корней, отсутствующих при 72-ч действии умеренной концентрации антиоксидантов) (рис. 3). Вполне вероятно, что эта программа включает активизацию процессов восстановления после возбуждения [Кондрашова и др., 1987] и синтеза ферментов *de novo* [Данович и др., 1982]. Это предположение подтверждается данными, показывающими повышение общего белка и суммы углеводов в проростках при слабых воздействиях производных тиомочевина [Uppal, Banerji, 1985].

На основании вышеизложенного можно заключить, что физиологические ответные реакции (в частности, ростовая функция) отнюдь не так просты, как методика, определяющая их. Итак, действие изученных нами антиоксидантов на начальные этапы роста проростков гороха, по всей вероятности, неспецифично и является функцией их концентрации и продолжительности влияния. То есть они, как и большинство внешних воздействий, влияют на процесс роста лишь косвенно, вызывая те или иные отклонения в ходе обуславливающих рост процессов.

Рострегулирующее действие антиоксидантов на растения отмечается и другими исследователями [Жигачева, Мишарина, 2017; Загоскина и др., 2017].

Следует иметь в виду, что глутатион участвует также в редокс-реакциях клеток, поддерживает активное состояние определенных ферментов, оказывает протекторное влияние при радиации и действии других стрессоров, модулирует синтез ДНК и апоптоз,

поддерживает гомеостаз NO, участвует в клеточном сигналинге, является запасной и транспортной формами серы в клетке, участвует в детоксикации ксенобиотиков и тяжелых металлов и др. [Carcia-Gimenez et al., 2013; Liu et al., 2013; Смирнов, Суховская, 2014; Cheng et al., 2015].

Аскорбиновая кислота также играет роль не только важнейшего антиоксиданта, но и регулятора ряда физиологических функций растений (поглощения и метаболизма железа, генерации редокс-сигналов и др.) [Rogers, Munne-Bosch, 2016; Войтехович и др., 2018].

Таким образом, изучаемые нами природные антиоксиданты *L*-аскорбат и глутатион являются полифункциональными соединениями, проявляющими при определенных концентрациях и длительности воздействия ярко выраженный ростстимулирующий эффект неспецифического механизма действия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бурлакова Е.Б., Конрадов А.А., Мальцев Е.Л. Сверхслабые воздействие химических соединений и физических факторов на биологические системы // Биофизика, 2004. Т. 49 (3). С. 551–564.
2. Войтехович М.А., Кучинская В.А., Новосельский И.Ю., и др. *L*-аскорбиновая кислота как антиоксидант и сигнально-регуляторный агент в клетках высших растений // Клеточная биология и биотехнология растений. 2018. № 2. С. 27–38.
3. Гайсин И.А., Пахомова В.М. Полифункциональные хелатные микроудобрения: практика применения и механизм действия: монография. Казань: Изд-во Казанского федер. ун-та, 2016. 316 с.
4. Гомеостазирование физиологических функций на уровне митохондрий / М.Н. Кондрашова, Е.В. Григоренко, А.М. Бабский и др. // Молекулярные механизмы клеточного гомеостаза. Новосибирск: Наука, 1987. С. 40–66.
5. Данилов А. В. Влияние регуляторов роста на урожайность и качество продукции зерновых культур // Вестник Марийского гос. ун-та, 2017. Т. 3. № 1 (9). С. 28–32.
6. Данович К.Н., Соболев А.М., Жданов Л.П., и др. Физиология семян. Под ред. А.А. Прокофьева. М.: Наука, 1982. 317 с.
7. Жигачева И. В., Мишарина Т.А. Антиоксиданты в качестве регуляторов роста растений // Материалы II Международного симпозиума «Молекулярные аспекты редокс-метаболизма растений» и Международной научной школы «Роль активных форм кислорода в жизни растений». Уфа: ООО «Первая типография», 2017. С. 104–108.
8. Загоскина Н.В., Николаева Т.Н., Нечаева Т.Л. и др. О возможности использования экзогенных фенольных соединений в качестве редокс регуляторов для растений // Материалы II Международного симпозиума «Молекулярные аспекты редокс-метаболизма растений» и Международной научной школы «Роль активных форм кислорода в жизни растений». Уфа: ООО «Первая типография», 2017. С. 108–111.
9. Иванов В.Б. Клеточные основы роста растений. М.: Наука, 1974. 223 с.
10. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Новичкова М.Д. Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов // Успехи биологической химии, 2014. Т. 54. С. 299–348.
11. Колупаев Ю.Е. Антиоксиданты растительной клетки, их роль в АФК-сигналинге и устойчивости растений // Успехи современной биологии, 2016. Т. 136. С. 181–198.

12. Пахомова В.М., Даминова А.И. Научные основы применения антиоксидантов в сельском хозяйстве и других областях биоэкономики // Вестник Казанского ГАУ, 2017. № 4 (47). С. 53–56.
13. Рыбкина Г.В. К вопросу о реакции растения на воздействия различной природы. В кн.: Общие механизмы клеточных реакций на повреждающие воздействия. Л.: Ин-т цитологии акад. наук СССР, 1977. С. 21.
14. Смирнов Л.П., Суховская И.В. Роль глутатиона в функционировании систем антиоксидантной защиты и биотрансформации // Биология. 2014. № 6. С. 34–40.
15. Шаповал О.А., Мажорова И.П., Коршунов А.А. Регуляторы роста растений в агротехнологиях // Защита и карантин растений. 2014. № 6. С. 16–20.
16. Barna B., Fodor J., Harrach B.D. et al. The Janus face of reactive oxygen species in resistance and susceptibility of plants to necrotrophic and biotrophic pathogens // Plant Physiol. Biochem. 2012. V. 59. P. 37–43.
17. Carcia-Gimenez J.L., Markovic J., Dasi F. Nuclear glutathione // Biochem, Biophys. Acta. 2013. V. 1830. P. 3304–3316.
18. Demidchik V. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology // Environ Exp Bot. 2015. V. 109. P. 212–228.
19. Cheng M.C., Ko K., Chang Kuo W.L., et al. Increased glutathione contributes to stress tolerance and global translational changes in Arabidopsis // Plant J. 2015. V. 83. P. 926–939.
20. Liu L., Liu Y., Rao J., et al. Сверхэкспрессия гена глутатион-S-трансферазы из плодов *Pyrus pyrifolia* повышает устойчивость трансгенных растений табака к абиотическому стрессу // Молекулярная биология. 2013. Т. 47. С. 591–601.
21. Rogers H., Munne-Bosch S. Production and scavenging of reactive oxygen species and redox signaling during leaf and flower senescence: similar but different // Plant Physiol. 2016. V. 171 (3). P. 1560–1568.
22. Uppal K.S., Banerji S.K. Structural studies on substituted thioureas as growth regulators // Indian J. Agr. Chem. 1985. V. 18 (1). P. 85–91.