

ИЗМЕНЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПРОРАСТАЮЩИХ СЕМЯН И ПРОРОСТКОВ ГОРОХА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МИЦЕЛЛЯРНО-СУБСТРАТНОГО ЭКСТРАКТА ВЕШЕНКИ

© 2024 г. С. С. Тарасов^{1,*}, Е. В. Михалёв¹, Е. К. Крутова¹

¹Нижегородский государственный агротехнологический университет
603022 Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97, Россия

*E-mail: tarasov_ss@mail.ru

Изучили реакции антиоксидантной системы (АОС) суточных прорастающих семян и 8-суточных проростков гороха, культивированных с использованием 10%- и 100%-го водного экстракта из отработанного соломенного субстрата вешенки (далее — экстракт). За 100%-й экстракт принимали маточный раствор после его приготовления, а 10%-й получали путем разбавления маточного. Растения выращивали в олиготрофных гидропонных условиях и в эвтрофных условиях на серой лесной почве. В качестве основных показателей реакции АОС исследовали активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), пероксидазы (ПО), экспрессию генов *SOD-1*, *CAT-1*, *POD*, содержание низкомолекулярных антиоксидантов (*НМАО*): аскорбата, филлохинонов и свободного пролина. Показано ингибирующее действие 10%- и 100%-го экстрактов на активность СОД и КАТ, но не на активность ПО в суточных прорастающих семенах. При этом содержание транскриптов и РНК генов *SOD-1* и *POD* лишь незначительно снижалось в семенах, культивируемых на 100%-ном экстракте, в остальных опытных группах уровень экспрессии генов не отличался от контроля. Содержание аскорбата во всех опытных группах не отличалось от контроля, а филлохинонов и свободного пролина было меньше, чем в контроле. В листьях 8-суточных проростков, культивированных в гидропонной среде, во всех опытных группах активность ферментов АОС, экспрессия кодирующих их генов и содержание филлохинонов, свободного пролина не отличались от контроля. При этом содержание аскорбата было больше. У растений, культивируемых в почве с использованием 10%-го экстракта, все показатели АОС не отличались от контроля. У растений, выращенных с использованием 100%-го экстракта, активность СОД, уровень экспрессии гена *SOD-1*, содержание аскорбата и свободного пролина были больше, а остальные показатели не отличались от контроля. Таким образом, экстракт на начальных этапах прорастания ингибировал АОС гороха с последующим восстановлением (в олиготрофных условиях) и усилением (в эвтрофных условиях культивирования) ее работы.

Ключевые слова: горох, антиоксидантная система, вешенка, низкомолекулярные антиоксиданты, прорастание семян, регуляторы роста и развития, редокс-статус, экспрессия генов.

DOI: 10.31857/S0002188124100041, **EDN:** ANRHSL

ВВЕДЕНИЕ

Антиоксидантная система (АОС) — важнейший механизм, формирующий устойчивость растений к стрессорам [1], участвующий в иммунном ответе [2] и клеточном сигналинге [3, 4]. Она представлена ферментами, в т.ч. супероксиддисмутазой (СОД), каталазой (КАТ), пероксидазой (ПО) и др., и низкомолекулярными антиоксидантами (НМАО), такими как аскорбат, глутатион, каротиноиды, фенольные соединения, филлохиноны, токоферолы и др. вещества [5, 6].

Количество генов, кодирующих антиоксидантные ферменты, на порядок больше, чем самих ферментов, однако каждый из этих ферментов имеет множество изоформ. Например, в геноме *Arabidopsis thaliana* L.

≈40 генов кодируют антиоксидантные ферменты [7]. Общее количество генов, задействованных в формировании АОС, гораздо больше и включает в себя гены, кодирующие ферменты обмена НМАО [8–14].

Гены АОС являются важными объектами как классической [15, 16], так и генетически модифицированной [1, 17] селекции, позволяющей выводить наиболее устойчивые сорта.

Регуляция образования компонентов АОС в клетках растений может осуществляться на уровне транскрипции, трансляции, процессинга и посттрансляционной модификации белка (ПТМ) [18]. Было показано, что цитозольная аскорбатпероксидаза у *Pisum sativum* L. регулируется контролем синтеза

белка, вероятно, на уровне инициации трансляции во время засухи [19]. Установлено, что экспрессия 2-х генов Cu/Zn *SOD* регулируется микроРНК 398, а экспрессия микроРНК 398 репрессируется в условиях стресса, что позволяет системе активировать целевые гены *SOD* для защиты [20, 21]. Для гена *CAT-2* обнаружена световая зависимость накопления иРНК [22]. Гены *CAT* семян рапса и хлопка были мишенями для некоторых микроРНК [23, 24]. Анализ предполагаемых сайтов-мишеней микроРНК в генах *TaCAT* показал, что 7 из этих генов могут регулироваться 8-ю различными микроРНК. Два члена семейства микроРНК 395 пшеницы нацелены на 3 *TaCAT* (*TaCAT1-A/B/D*), а микроРНК 408 нацелены на 2 *TaCAT* (*TaCAT2-A/B*) [25]. Известно, что стрессовое воздействие активирует гены АОС, в том числе: *SOD* [20, 21, 26], *CAT* [26], *APX* [19, 26], *GPX* [26], синтез каротиноидов [27], α -токоферолов [27], пластохинонов [27], дегидринов [28] и др. Предварительная обработка регуляторами роста растений (*PPP*) способствует активации АОС, в том числе путем усиления экспрессии генов [29–32].

Таким образом, регулирование работы АОС возможно не только за счет подбора оптимальных генов (участвующих в ее формировании) с помощью селекции, но и за счет технологических приемов, в том числе используя *PPP*. Сочетание этих 2-х подходов может существенно увеличить устойчивость растений и, как следствие, повысить продуктивность агроценозов. Перед применением *PPP* важно изучить их способность как активировать, так и подавлять АОС, что в полной мере может быть использовано в качестве инструмента для управления защитными механизмами растений. В качестве сырья для получения *PPP* могут выступать различные компоненты растительного, животного, грибного происхождения или микроорганизмы [33]. Одним из перспективных сырьевых ресурсов выступают грибы: они действуют за счет содержащихся в них регуляторных молекул (сахаров, аминокислот, пептидогликанов, хитозана, аллелопатов и др. компонентов), ряд из которых обладает элиситорным и эффекторным действием [34, 33].

В связи с этим цель работы – исследование реакции АОС прорастающих семян и проростков гороха (*Pisum sativum* L.) при действии экстракта из отработанного соломенного субстрата гриба вешенки.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Экстракт готовили согласно технологии, описанной в работе [35]. В качестве объекта исследования влияния экстракта на растения использовали семена гороха посевного (*Pisum sativum* L.) сорта Альбумен. Семена замачивали в растворах экстракта с концентрацией 10 и 100%. За 100%-ный экстракт принимали полученный маточный раствор после его приготовления, а 10%-ный готовили путем добавления к маточному раствору воды ($V = 1 : 9$). Далее часть проростков культивировали на гидропонных средах с использованием соответствующих растворов экстракта, в качестве контроля использовали отстоянную водопроводную воду. Другую часть выращивали на серой лесной почве, где опытные образцы поливали экстрактом с концентрацией 10 и 100%, а контроль – отстоянной водопроводной водой.

Антиоксидантный статус прорастающих семян и проростков определяли за счет измерения активности ключевых антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ), растворимой пероксидазы (ПО), экспрессии их некоторых генов (*SOD-1*, *CAT-1*, *POD*) и содержания ряда низкомолекулярных антиоксидантов (*НМАО*) (аскорбата, филлохинонов, свободного пролина). Активность СОД определяли по ее способности реагировать с нитросиним тетразолием [36]. Активность КАТ в прорастающих семенах определяли газометрическим методом [37], в листьях – спектрофотометрическим, по восстановлению пероксида водорода [38]. Активность растворимых ПО оценивали по интенсивности окрашивания раствора бензидиновой синью [37].

Экспрессию генов *SOD-1*, *CAT-1*, *POD* в зародышевой ткани прорастающих семян и листьях проростков, а также подбор праймеров для постановки

Таблица 1. Нуклеотидная последовательность праймеров для проведения ПЦР

Ген	Тип праймера	Последовательность 5'–3'	Номер NCBI	Температура отжига, °C	Размер ампликона, п.н.
<i>Ps Aktin</i>	L	AACCGGAATGGTTAAGGCTG	U81047.1	60.00	292
	R	AAGCGGAGCTTCAGTGAGAA		60.00	
<i>Ps SOD-1</i>	L	TGAAGGCTGTGGCAGTTCTT	AB189165.1	59.82	164
	R	GCAACCGTTTTGTGGTGTCTC		59.97	
<i>Ps CAT-1</i>	L	GCTTGCAATTTTGTCCCTGCCA	X60169.1	59.97	125
	R	GTTGCAGGTAGTTCGGTCCA		59.97	
<i>Ps POD</i>	L	TTGTGCTTGGAGGCTTACCC	AB193820.1	60.25	510
	R	GGGTGAGGCCTTGTTTAGCA		60.25	

полимеразной цепной реакции (ПЦР) проводили в соответствии с описанными ранее методиками [39]. Полученные олигонуклеотиды представлены в табл. 1.

Аскорбат определяли по Тильмансу. Филлохиноны измеряли спектрофотометрическим методом в гексановой вытяжке [37]. Свободный пролин фиксировали по методу Bates и др. [40] в модификации Калинкиной и др. [41].

Эксперимент проводили в 3-х биологических повторностях, а каждый образец анализировали в 3-х аналитических повторностях. Результаты обрабатывали статистически, рассчитывая среднее арифметическое (M) и стандартные отклонения (σ) с использованием программы Microsoft Excel 2010. Достоверность различий оценивали по t -критерию Стьюдента с поправкой Бонферрони и H -критерию Крускала–Уоллиса, уровень значимости достоверности – 95% [42].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование активности и экспрессии некоторых генов основных антиоксидантных ферментов (СОД, КАТ и ПО) показали зависимость изученных параметров от дозы экстракта, однако данные ферменты реагировали не одинаково. В суточных прорастающих семенах гороха, культивируемых как на 10%-ном, так и на 100%-ном экстрактах, активность СОД была существенно подавлена ($P \leq 0.05$) (рис. 1-Ia), при этом отмечена дозозависимая реакция (чем больше концентрация экстракта, тем меньше активность фермента).

Экспрессия одного из генов *SOD-1* совпадала с динамикой активности фермента частично: в опытных группах прорастающих семян с применением 10%-ного экстракта содержание транскриптов иРНК данного гена не отличалось от контроля ($P \geq 0.05$), а в зародышах семян, культивируемых на 100%-ном экстракте, содержание транскриптов иРНК гена *SOD-1* было снижено (рис. 1-IIa) ($P \leq 0.05$). В листьях всех опытных групп 8-суточных проростков гороха, выращенных на гидропонике, и в проростках, культивируемых на 10%-ном экстракте на почве, активность СОД (рис. 1-Iб) и содержание транскриптов иРНК исследованного гена *SOD-1* (рис. 1-IIб) достоверно не отличались от контроля ($P \geq 0.05$). При этом в листьях проростков, культивированных в почве с использованием 100%-ного экстракта, активность СОД (рис. 1-Iв) и экспрессия исследованного гена данного фермента (рис. 1-II в) была больше контроля ($P \leq 0.05$).

Активность КАТ в прорастающих семенах и исследованных проростках частично отличалась от активности СОД. Во всех опытных группах гороха суточных прорастающих семян активность данного фермента была подавлена ($P \leq 0.05$), при этом так же, как и в случае с СОД, имела место дозозависимая реакция (рис. 2-Ia).

Экспрессия исследованного гена *CAT-1* как в опытных, так и в контрольной группе, имела одинаковую интенсивность ($P \geq 0.05$) (рис. 2-IIa). В листьях во всех опытных группах недельных проростков гороха активность КАТ статистически значимо не отличалась от контроля ($P \geq 0.05$), а если сравнивать с суточными прорастающими семенами, то можно говорить об усилении (или нормализации) активности данного фермента в динамике (рис. 2-Iб), экспрессия исследованного гена в опытных группах, так же как и в суточных прорастающих семенах, не отличалась от контроля ($P \geq 0.05$) (рис. 2-IIб), что могло свидетельствовать об ингибировании компонентов экстракта на уровне белковой молекулы фермента.

Оценка активности растворимой ПО и экспрессии одного из ее генов показала результат, отличный по сравнению с другими исследованными ферментами АОС. В опытных группах суточных прорастающих семян гороха активность ПО статистически значимо не отличалась от контроля ($P \geq 0.05$) (рис. 3-Ia), хотя и имела тенденция к ее угнетению в семенах, культивируемых на 100%-ом экстракте.

Экспрессия гена данного фермента в семенах, прораставших на 10%-ном экстракте, также не отличалась от контроля, а в зародышах семян, культивируемых с применением 100%-ного экстракта, была меньше контроля ($P \leq 0.05$) (рис. 3-IIa). В листьях всех опытных групп недельных проростков гороха, выращенных как на гидропонике, так и в почве, активность ПО и содержание транскриптов иРНК одного из генов *POD* достоверно не отличались от соответствующих показателей контроля ($P \geq 0.05$).

Экстракт влиял на содержание *HMAO* в прорастающих семенах и в листьях проростков гороха неодинаково. Не было выявлено статистически значимого воздействия экстракта на содержание аскорбата в суточных прорастающих семенах ($P \geq 0.05$), но в листьях недельных проростков во всех опытных группах, выращенных на гидропонике, отмечено увеличение содержания данного вещества ($P \leq 0.05$) (табл. 2).

В листьях проростков опытных растений гороха, культивируемых на почве, содержание аскорбата было меньше, чем у опытных растений, выращенных на гидропонике. Достоверное отличие от контроля растений, выращенных на почве, было только при использовании 100%-ного экстракта.

Влияние экстракта на содержание филлохинонов было иным: во всех опытных группах прорастающих семян гороха их концентрация была меньше, чем в контроле ($P \leq 0.05$). Содержание филлохинонов в листьях недельных проростков во всех опытных группах не имело статистически значимых отличий от контроля ($P \geq 0.05$). Однако стоит отметить, что в растениях, культивированных в почве, количество филлохинонов было больше, чем в растениях, выращенных на гидропонике.

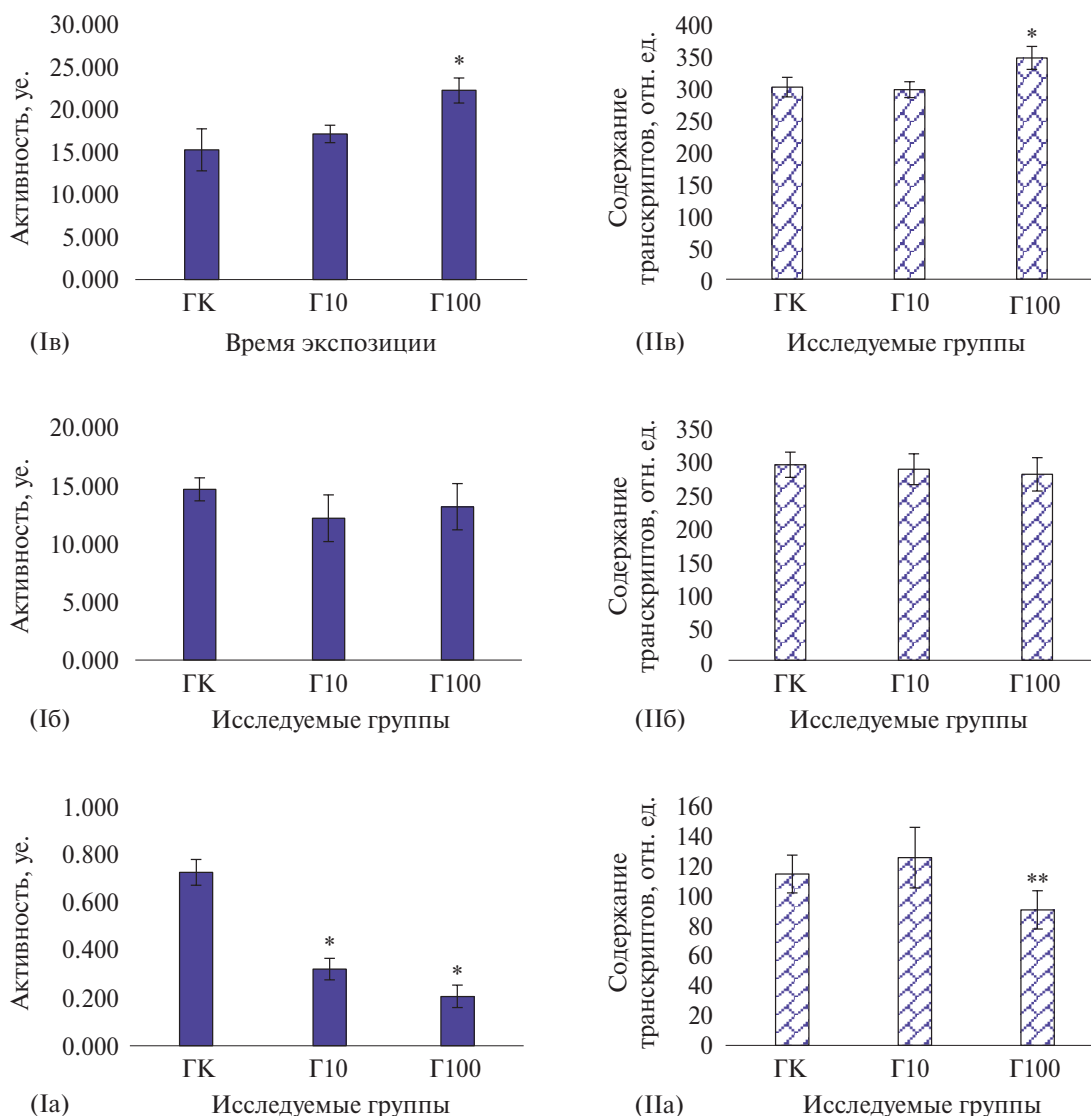


Рис. 1. Влияние дозы экстракта на активность СОД (I) и содержание транскриптов гена *SOD-1* (II) в прорастающих семенах и листьях проростков гороха: ГК – контроль, Г10 и Г100 – концентрация экстракта, %; а – суточные прорастающие семена, б – недельные проростки, культивированные в гидропонной среде, в – недельные проростки, культивированные в условиях почвы. То же на рис. 2, 3. * $P \leq 0.05$ – достоверность различий в соответствии с *t*-критерием Стьюдента по сравнению с контролем. ** $P \leq 0.05$ – в сравнении с контролем по критерию Крускала–Уоллиса.

Содержание свободного пролина во всех опытных группах суточных прорастающих семян было меньше, чем в контроле. Количество свободного пролина в листьях недельных проростков во всех опытных группах гороха, выращенных на гидропонике, также достоверно не отличалось от контроля ($P \geq 0.05$). При использовании почвы в качестве среды культивирования с применением 100%-ного экстракта содержание свободного пролина было больше, чем в листьях контрольных растений ($P \leq 0.05$), а при использовании 10%-ного экстракта достоверно не отличалось от контроля ($P \geq 0.05$).

Механизм, лежащий в основе изменения АОС растений под действием экстракта, вероятнее всего,

связан с действием элиситоров (в том числе хитозана, содержащего в исследованном экстракте), эффекторов, аллелопатов, гуминовых веществ и др. компонентов в составе экстракта на изученные прорастающие семена и проростки гороха [43].

Считается, что одной из первых реакций растений на действие элиситоров является генерация активных форм кислорода (АФК) [43–45]. АФК, в свою очередь, могут выступать мессенджерами, запускающими реакции ответа растений на элиситорное воздействие [46–48], тем самым они способствуют активации или подавлению АОС растений [43, 49]. Например, усиление активности СОД, по-видимому, связано с активацией экспрессии генов за

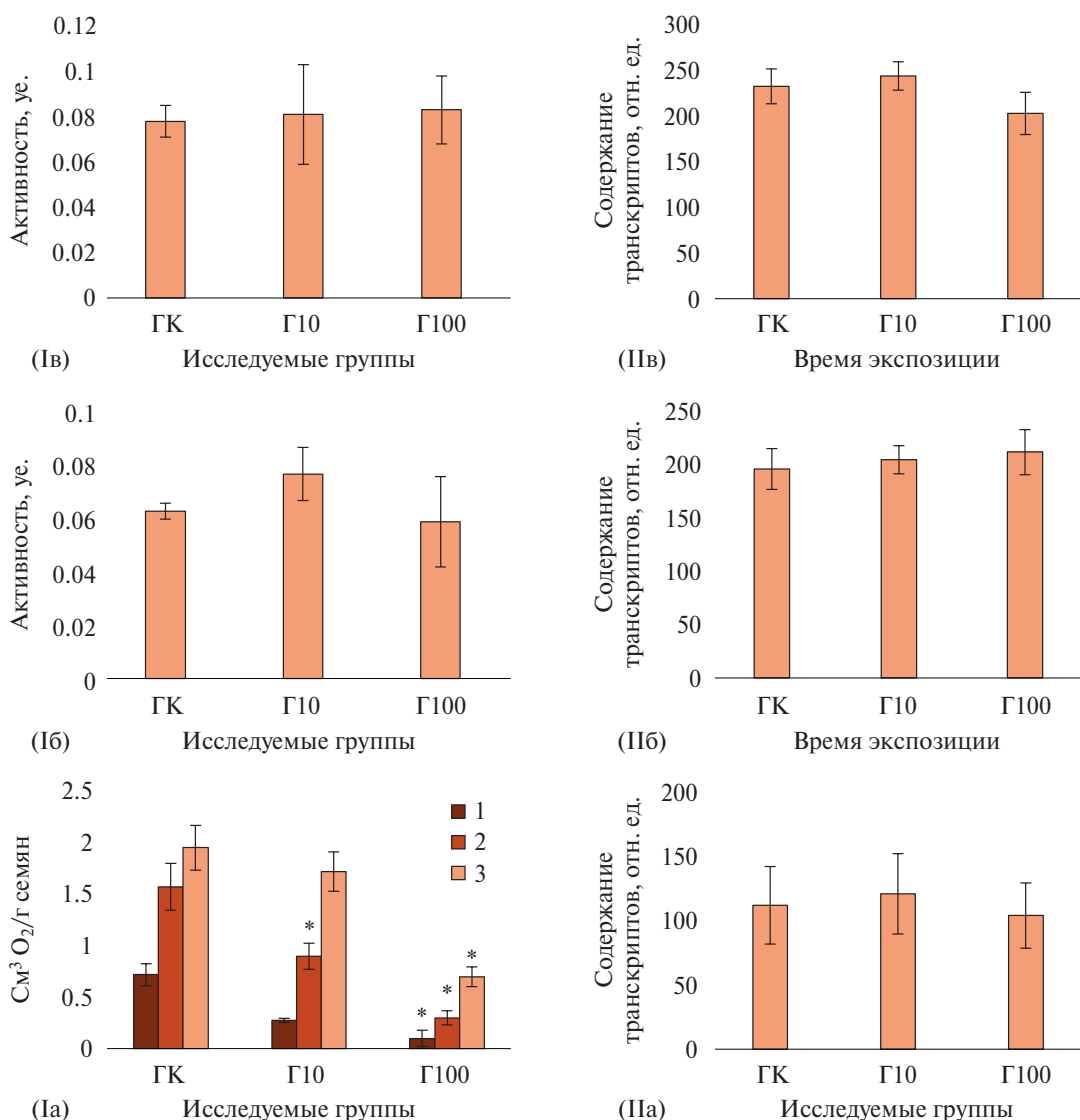


Рис. 2. Влияние дозы экстракта на активность КАТ (I) и содержание транскриптов гена *CAT-1* (II) в прорастающих семенах и листьях проростков гороха. 1, 2, 3 – время фиксации активности фермента, мин.

счет сигнализации элиситорами, содержащимися в экстракте. Похожие результаты были продемонстрированы при действии дрожжевых экстрактов на каллусные культуры *Linum grandiflorum* Desf., что приводило к усилению биосинтеза фенольных соединений (являющихся *HMAO*) [50]. При обработке гликопротеиновым элиситором, выделенным из культуры гриба *Magnaporthe oryzae*, была индуцирована антиоксидантная активность в листьях *Oryza sativa* L. [51].

Гуминовые вещества (ГВ), содержащиеся в экстракте, также могли влиять на изменение АОС. Например, была продемонстрирована способность ГВ снижать биотический стресс у пшеницы, вызванный патогенным грибом *Fusarium graminearum* [52]. Внекорневое применение ГВ повышало концентрацию *HMAO* (β -токоферол, β -каротин и аскорбиновая

кислота) и увеличивало активность СОД, в тканях злаковых травянистых растений (*Festuca arundinacea* Schreb, *Poa pratensis* L., *Agrostis palustris* Huds.) [53]. Была показана способность ГВ снижать солевой стресс у кормового сорго [54], что способствовало усилению активности АО ферментов и снижению уровня перекисного окисления липидов. Эти данные согласуются с данными, полученными в работе, таким образом усиление активности АО ферментов, экспрессии их генов и увеличение содержания некоторых *HMAO* может быть также обусловлено умеренным наличием ГВ в составе 10%-ного экстракта, с одной стороны, и подавление работы АОС из-за высокого содержания ГВ в составе 100%-ного экстракта, с другой.

Известно, что лектины, являющиеся эффекторами для растений, содержатся в внешке [55],

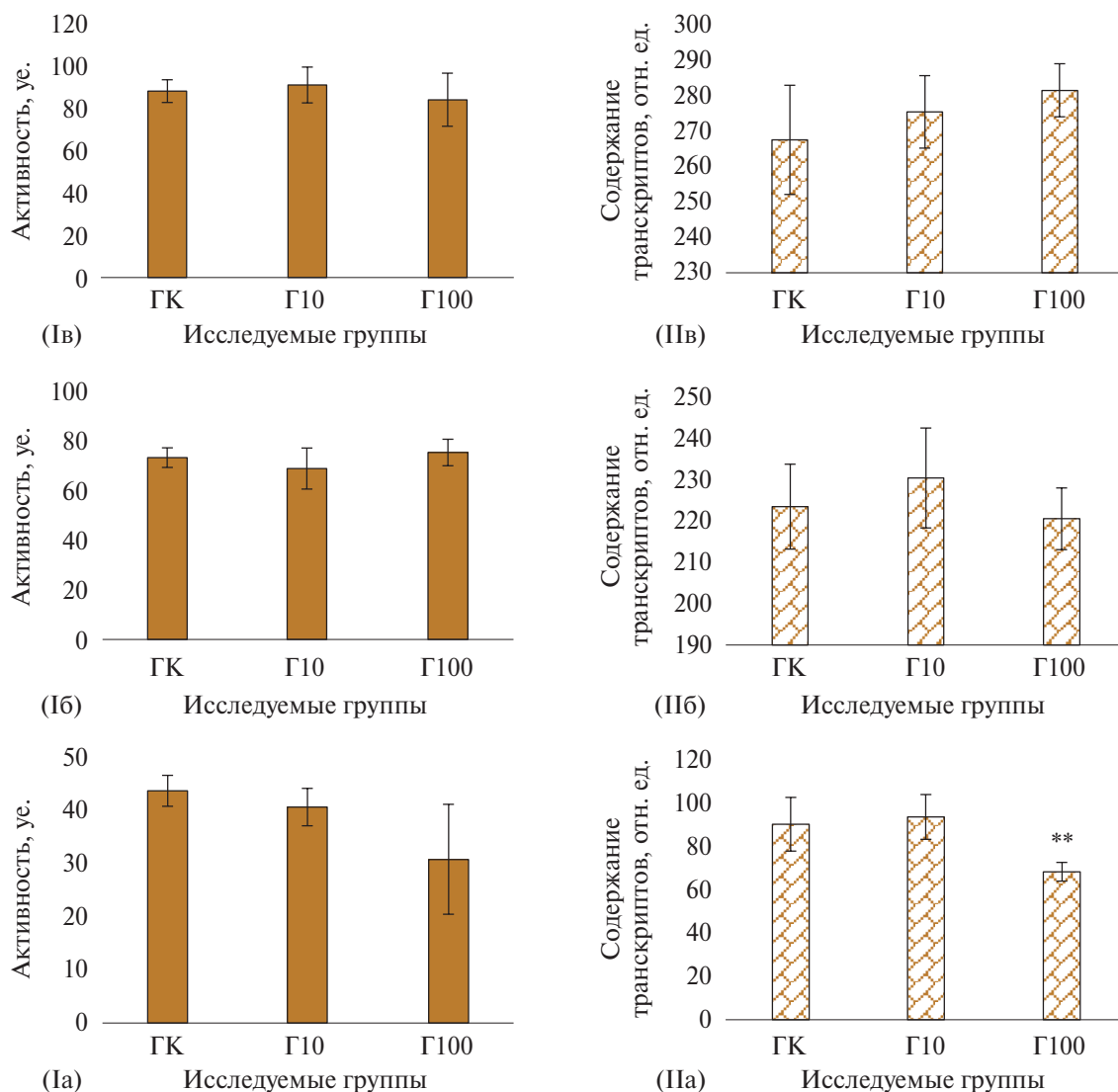


Рис. 3. Влияние дозы экстракта на динамику активности ПО (I) и содержание транскриптов гена *POD* (II) в прорастающих семенах и листьях проростков гороха.

а следовательно, с большой долей вероятности могли находиться в экстракте. Показано влияние лектинов на АОС растений: в частности лектин С, вырабатываемый паразитической нематодой (*Meloidogyne incognita*), снижал работу КАТ, способствуя проникновению в ткани [56], а наличие подобных веществ в экстракте возможно подавляло функционирование данного фермента в прорастающих семенах гороха.

Ингибирование работы АОС на начальных этапах прорастания, по-видимому, обусловлено не только прямым действием высоких доз компонентов экстракта на антиоксидантные ферменты, экспрессию их генов, пути биосинтеза *HMAO*, но и в целом связан с замедлением процессов прорастания, что, в том числе, сказалось на замедлении работы АОС по сравнению с контролем. В листьях проростков, культивированных на 100%-ном экстракте,

в почве активность СОД и экспрессия гена *SOD-1* были выше, чем в контроле, но при этом активность САТ, ПО и экспрессия их генов не менялась. Зато увеличивалось содержание аскорбата и свободного пролина, что, в частности, могло быть обусловлено перестройкой метаболических путей детоксикации H_2O_2 в сторону его утилизации за счет *HMAO* необходимостью сохранить нормальными метаболические пути (в частности, обмен ауксинов), которые могут подавляться за счет увеличения содержания растворимых ПО. Отсутствие эффекта экстракта на ферментативную АОС, но накопление аскорбата в проростках гороха, культивированных на гидропонике, возможно была обусловлено разной сигнализацией путей биосинтеза аскорбата и работой ферментативной АОС, меняющейся в процессе роста и развития. Отличие в работе АОС проростков, культивированных в разных средах, по-видимому, было

Таблица 2. Содержание аскорбата, филлохинонов и свободного пролина в суточных прорастающих семенах и листьях проростков гороха в зависимости от дозы экстракта

Вариант	НМАО, ед. изм.	Суточные прорастающие семена	Листья проростков (гидропоника)	Листья проростков (почва)
ГК	Аскорбат, мг/100 г	4.125 ± 1.21	130 ± 3	112 ± 6
Г10		3.50 ± 1.11	$*223 \pm 4$	128 ± 4
Г100		3.50 ± 1.17	$*241 \pm 2$	$*174 \pm 2$
ГК	Филлохиноны, мкг/100 г	1.34 ± 0.10	14.3 ± 4.0	16.6 ± 1.8
Г10		$*1.01 \pm 0.19$	14.8 ± 3.4	16.2 ± 3.1
Г100		$*1.12 \pm 0.15$	14.6 ± 3.0	17.0 ± 2.9
ГК	Свободный пролин, мкг/100 г	0.032 ± 0.004	0.130 ± 0.003	0.151 ± 0.003
Г10		$*0.023 \pm 0.003$	0.133 ± 0.004	0.153 ± 0.006
Г100		$*0.021 \pm 0.004$	0.127 ± 0.002	$*0.207 \pm 0.003$

связано как с изменением конечных концентраций действующих компонентов экстракта на растения, так и с их влиянием на микрофлору, что возможно изменяло сигнальные пути между растением и микроорганизмами или запускало дополнительные.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экстракт в целом менял работу антиоксидантной системы (АОС) гороха в процессе его роста и развития, а интенсивность и вектор изменения был связан как с дозой экстракта, так и со средой обитания растения. При этом максимальное ингибирование работы АОС было в суточных прорастающих семенах, что, возможно, связано не только с действием компонентов экстракта на саму АОС, но и с общим замедлением процессов прорастания. У 8-суточных проростков, культивированных в олиготрофных условиях гидропоника, вся исследованная ферментативная АОС не отличалась от контроля, но отмечено увеличение содержания аскорбата, а количество других изученных низкомолекулярных антиоксидантов (НМАО) не изменялось. Экстракт 10%-ной концентрации не оказал влияния на работу АОС 8-суточных проростков гороха, выращенных в почве. Но при этом было показано усиление в работе АОС растений, выращенных в почве с применением 100%-го экстракта, в частности, активность супероксиддисмутазы (СОД), экспрессия гена *SOD-1*, содержание аскорбата и свободного пролина были больше, чем в контроле. Данные результаты могут говорить о модулировании работы АОС гороха под действием экстракта при определенных условиях, что в целом позволяет усиливать устойчивость растений к стрессорам. А также в очередной раз подтверждает эффективность действия регуляторов роста растений только при грамотном применении с учетом всех обстоятельств роста и развития растений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Upadhyaya D.C., Bagri D.S., Upadhyaya C.P., Kumar A., Thiruvengadam M., Jain S.K. Genetic engineering of potato (*Solanum tuberosum* L.) for enhanced α -tocopherols and abiotic stress tolerance // *Physiol. Plant.* 2021. V. 173. № 1. P. 116–128. <https://doi.org/10.1111/ppl.13252>
2. Ghiasi Noei F., Imami M., Didaran F., Ghanbari M.A., Zamani E., Ebrahimi A., Aliniaiefard S., Farzaneh M., Javan-Nikkhah M., Feechan A., Mirzadi Gohari A. Stb6 mediates stomatal immunity, photosynthetic functionality, and the antioxidant system during the *Zymoseptoria tritici*-wheat interaction // *Front Plant Sci.* 2022. № 13. P. 1004691. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1004691>
3. Pandey V.P., Awasthi M., Singh S., Tiwari S., Dwivedi U.N. A comprehensive review on function and application of plant peroxidases // *Biochem. Anal. Biochem.* 2017. V. 6. P. 1–16. <http://dx.doi.org/10.4172/2161-1009.1000308>
4. Lubega J., Umbreen S., Loake G.J. Recent advances in the regulation of plant immunity by S-nitrosylation // *J. Exp. Bot.* 2021. V. 72. № 3. P. 864–872. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa454>
5. Hasanuzzaman M., Bhuyan M.H.M.B., Anee T.I., Parvin K., Nahar K., Mahmud J.A., Fujita M. Regulation of ascorbate-glutathione pathway in mitigating oxidative damage in plants under abiotic stress // *Antioxidants (Basel)*. 2019. V. 8. № 9. P. 384. <https://doi.org/10.3390/antiox8090384>
6. Bobrovskikh A., Zubairova U., Kolodkin A., Doroshkov A. Subcellular compartmentalization of the plant antioxidant system: an integrated overview // *Peer J.* 2020. V. 8. e9451. <https://doi.org/10.7717/peerj.9451>
7. Mittler R., Vanderauwera S., Gollery M., Van Breusegem F. Reactive oxygen gene network of plants // *Trends Plant Sci.* 2004. V. 9. № 10. P. 490–498. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.08.009>

8. Winkel-Shirley B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology // *Plant Physiol.* 2001. V. 126. № 2. P. 485–493.
<https://doi.org/10.1104/pp.126.2.485>
9. Dixon D.P., Laphorn A., Edwards R. Plant glutathione transferases // *Genome Biol.* 2002. V. 3(3): REVIEWS3004.
<https://doi.org/10.1186/gb-2002-3-3-reviews3004>
10. Cabassa-Hourton C., Scherlt P., Bordenave-Jacquemin M., Saadallah K., Guivarc'h A., Lebreton S., Planchais S., Klodmann J., Eubel H., Crilat E., Lefebvre-De Vos D., Ghelis T., Richard L., Abdelly C., Carol P., Braun H.P., Savouré A. Proteomic and functional analysis of proline dehydrogenase 1 link proline catabolism to mitochondrial electron transport in *Arabidopsis thaliana* // *Biochem. J.* 2016. V. 473. № 17. P. 2623–2634.
<https://doi.org/10.1042/bcj20160314>
11. Fritsche S., Wang X., Jung C. Recent advances in our understanding of tocopherol biosynthesis in plants: An Overview of key genes, functions, and breeding of vitamin E improved crops // *Antioxidants (Basel)*. 2017. V. 6. № 4. P. 99.
<https://doi.org/10.3390/antiox6040099>
12. Launay A., Cabassa-Hourton C., Eubel H., Maldiney R., Guivarc'h A., Crilat E., Planchais S., Lacoste J., Bordenave-Jacquemin M., Clément G., Richard L., Carol P., Braun H.P., Lebreton S., Savouré A. Proline oxidation fuels mitochondrial respiration during dark-induced leaf senescence in *Arabidopsis thaliana* // *J. Exp. Bot.* 2019 V. 70. № 21. P. 6203–6214.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erz351>
13. Cao W., Wang P., Yang L., Fang Z., Zhang Y., Zhuang M., Lv H., Wang Y., Ji J. Carotenoid biosynthetic genes in cabbage: Genome-wide identification, evolution, and expression analysis // *Genes (Basel)*. 2021b. V. 12. № 12. P. 2027.
<https://doi.org/10.3390/genes12122027>
14. Sun Z., Li S., Chen W., Zhang J., Zhang L., Sun W., Wang Z. Plant dehydrins: expression, regulatory networks, and protective roles in plants challenged by abiotic stress // *Inter. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. № 23. P. 12619.
<https://doi.org/10.3390/ijms222312619>
15. Нгуен М.Л., Монахос Г.Ф., Комахин Р.А., Монахос С.Г. Новый локус устойчивости к киле в хромосоме A05 капусты пекинской (*Brassica rapa* L.) // *Генетика*. 2018. Т. 54. № 3. С. 306–315.
DOI: 10.7868/S0016675818030037
16. Saed-Moucheshi A., Sohrabi F., Fasihfar E., Baniasadif F., Riasat M., Mozafari A.A. Superoxide dismutase (SOD) as a selection criterion for triticales grain yield under drought stress: a comprehensive study on genomics and expression profiling, bioinformatics, heritability, and phenotypic variability // *BMC Plant Biol.* 2021. V. 21. № 1. P. 148.
<https://doi.org/10.1186/s12870-021-02919-5>
17. Широких И.Г., Бакулина А.В., Огородникова С.Ю., Баранова Е.Н., Лундовских И.А., Гулевич А.А. Влияние встройки Fe-COD-1 гена на рост, перекисный гомеостаз и состояние пигментного комплекса трансгенных растений картофеля // *Агрохимия*. 2014. № 8. С. 72–78.
18. Ван В., Ся М.К., Чэнь Д., Юань Р., Дэн Ф.Н., Шэнь Ф.Ф. Особенности генной экспрессии и механизмы регуляции супероксиддисмутазы, ее физиологическая роль в растениях при стрессе (обзор) // *Биохимия*. 2016. Т. 81. № 5. С. 625–643.
19. Mittler R., Zilinskas B.A. Regulation of pea cytosolic ascorbate peroxidase and other antioxidant enzymes during the progression of drought stress and following recovery from drought // *Plant J.* 1994. V. 5. № 3. P. 397–405.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-313x.1994.00397.x>
20. Sunkar R., Kapoor A., Zhu J.K. Posttranscriptional induction of two Cu/Zn superoxide dismutase genes in *Arabidopsis* is mediated by downregulation of *miR398* and important for oxidative stress tolerance // *Plant Cell*. 2006. V. 18. № 8. P. 2051–2065.
<https://doi.org/10.1105/tpc.106.041673>
21. Suzuki T., Ikeda S., Kasai A., Taneda A., Fujibayashi M., Sugawara K., Okuta M., Maeda H., Sano T. RNAi-mediated down-regulation of dicer-like 2 and 4 changes the response of ‘Moneymaker’ tomato to potato spindle tuber viroid infection from tolerance to lethal systemic necrosis, accompanied by up-regulation of *miR398*, *398a-3p* and production of excessive amount of reactive oxygen species // *Viruses*. 2019. V. 11. № 4. P. 344.
<http://dx.doi.org/10.3390/v11040344>
22. Ni W., Trelease R.N. Post-transcriptional regulation of catalase isozyme expression in cotton seeds // *Plant Cell*. 1991. V. 3. № 7. P. 737–744.
<https://doi.org/10.1105/tpc.3.7.737>
23. Wang W., Cheng Y., Chen D., Liu D., Hu M., Dong J., Zhang X., Song L., Shen F. The Catalase gene family in cotton: Genome-wide characterization and bioinformatics analysis // *Cells*. 2019. V. 8. № 2. P. 86.
<https://doi.org/10.3390/cells8020086>
24. Raza A., Su W., Gao A., Mehmood S.S., Hussain M.A., Nie W., Lv Y., Zou X., Zhang X. Catalase (CAT) gene family in rapeseed (*Brassica napus* L.): Genome-wide analysis, identification, and expression pattern in response to multiple hormones and abiotic stress conditions // *Inter. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. № 8. P. 4281.
<https://doi.org/10.3390/ijms22084281>
25. Zhang Y., Zheng L., Yun L., Ji L., Li G., Ji M., Shi Y., Zheng X. Catalase (CAT) gene family in wheat (*Triticum aestivum* L.): Evolution, expression pattern and function analysis // *Inter. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. № 1. P. 542.
<http://dx.doi.org/10.3390/ijms23010542>

26. Navabpour S., Yamchi A., Bagherikia S., Kafi H. Lead-induced oxidative stress and role of antioxidant defense in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 2020. V. 26. № 4. P. 793–802. <https://doi.org/10.1007/s12298-020-00777-3>
27. Spicher L., Glauser G., Kessler F. Lipid antioxidant and galactolipid remodeling under temperature stress in tomato plants // *Front Plant Sci*. 2016. V. 7. P. 167. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2016.00167>
28. Hao Y., Hao M., Cui Y., Kong L., Wang H. Genome-wide survey of the dehydrin genes in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) and its relatives: identification, evolution and expression profiling under various abiotic stresses // *BMC Genomics*. 2022. V. 23. № 1. P. 73. <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08317-x>
29. Ключникова Е.О., Аллагулова Ч.Р., Авальбаев А.М., Гумалов Ф.Р., Шакирова Ф.М. Гормональная регуляция транскрипции TADHN гена дегидрина в растениях пшеницы // *Вестн. Башкир. ун-та*. 2012. Т. 17. № 3. С. 1272–1277.
30. Kumar R.R., Sharma S.K., Goswami S., Verma P., Singh K., Dixit N., Pathak H., Viswanathan C., Rai R.D. Salicylic acid alleviates the heat stress-induced oxidative damage of starch biosynthesis pathway by modulating the expression of heat-stable genes and proteins in wheat (*Triticum aestivum*) // *Acta Physiol. Plant*. 2015. V. 37. P. 143. <http://dx.doi.org/10.1007/s11738-015-1899-3>
31. Таланова В.В., Титов А.Ф., Репкина Н.С., Игнатенко А.А. Влияние метилжасмоната на экспрессию генов WCS и активность антиоксидантных ферментов при холодной адаптации пшеницы // *Докл. РАН*. 2018. Т. 482. № 1. С. 101–104.
32. Campobenedetto C., Grange E., Mannino G., van Arkel J., Beekwilder J., Karlova R., Garabello C., Contartese V., Berteaux C.M. A Biostimulant seed treatment improved heat stress tolerance during cucumber seed germination by acting on the antioxidant system and glyoxylate cycle // *Front Plant Sci*. 2020. V. 17. № 11. P. 836. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00836>
33. Тарасов С.С., Михалев Е.В., Крутова Е.К., Речкин А.В. Регуляторы роста и развития растений: классификация, природа и механизм действия // *Агрохимия*. 2023. № 9. С. 65–80. <https://DOI:10.31857/S0002188123090120>
34. Namdeo A.G. Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: a review // *Pharmacogn. Rev*. 2007. V. 1. № 1. P. 69–79.
35. Тарасов С.С., Михалев Е.В., Крутова Е.К., Шестеркина И.А. Ростовые показатели и метаболизм прорастающих семян пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в зависимости от дозы экстракта из отработанного соломенного субстрата вешенки (*Pleurotus ostreatus*) // *Агрохимия*. 2022. № 6. С. 51–60. DOI: 10.31857/S0002188122060102
36. Polesskaya O.G., Kashirina E.I., Alekhina N.D. Changes in the activity of antioxidant enzymes in wheat leaves and roots as a function of nitrogen source and supply // *Rus. J. Plant Physiol*. 2004. V. 51. № 5. P. 615–620. <https://DOI:10.1023/B:RUPP.0000040746.66725.77>
37. Patterson B.D., Payne L.A., Chen Y.Z., Graham D. An inhibitor of catalase induced by cold in chilling-sensitive plants // *Plant Physiol*. 1984. V. 76. № 4. P. 1014–1018. <https://DOI.org/10.1104/pp.76.4.1014>
38. Методы биохимического исследования растений / Под ред. А.И. Ермакова. Изд. 3-е, перераб. и доп. Л.: Агропромиздат, 1987. 432 с.
39. Tarasov S.S., Krutova E.K. Oxidative homeostasis in germinating pea seeds (*Pisum sativum* L.) depending on ultrasonic exposure duration // *Biophysics*. 2023. V. 68. P. 435–442. <https://doi.org/10.1134/S0006350923030211>
40. Bates L.S., Waldeen R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies // *Plant Soil*. 1973. V. 39. № 1. P. 205–207.
41. Калинкина Л.Г., Назаренко Л.В., Гордеева Е.Е. Модифицированный метод выделения свободных аминокислот для определения на аминокислотном анализаторе // *Физиология растений*. 1990. Т. 37. С. 617–621.
42. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999. 459 с.
43. Guo J., Cheng Y. Advances in fungal elicitor – triggered plant immunity // *Inter. J. Mol. Sci*. 2022. V. 23. № 19. P. 12003. <https://doi:10.3390/ijms231912003>
44. Abdul Malik N.A., Kumar I.S., Nadarajah K. Elicitor and receptor molecules: Orchestrators of plant defense and immunity // *Intr. J. Mol. Sci*. 2020. V. 21. № 3. P. 963. <https://doi.org/10.3390/ijms21030963>
45. Hasanuzzaman M., Bhuyan M.H.M.B., Zulfiqar F., Raza A., Mohsin S.M., Mahmud J.A., Fujita M., Fotopoulos V. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator // *Antioxidants (Basel)*. 2020. V. 9. № 8. P. 681. <https://doi:10.3390/antiox9080681>
46. Тарчевский И.А. Сигнальные системы клеток растений. М.: Наука, 2002. 294 с.
47. Bartels S., Boller T. Quo vadis, Pep? Plant elicitor peptides at the crossroads of immunity, stress, and development // *J. Exp. Bot*. 2015. V. 66. № 17. P. 5183–5193. <https://doi:10.1093/jxb/erv180>
48. Ramirez-Estrada K., Vidal-Limon H., Hidalgo D., Moyano E., Goleniowski M., Cusidó R.M., Palazon J. Elicitation, an effective strategy for the biotechnological production of bioactive high-added value compounds in plant cell factories // *Molecules*. 2016. V. 21. P. 182–206. <https://DOI:10.3390/molecules21020182>

49. Fang Y., Gu Y. Regulation of plant immunity by nuclear membrane-associated mechanisms // Front Immunol. 2021. V. 12. P. 771065. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.771065>
50. Goncharuk E.A., Saibel O.L., Zaitsev G.P., Zagoskina N.V. The Elicitor effect of yeast extract on the accumulation of phenolic compounds in *Linum grandiflorum* cells cultured *in vitro* and their antiradical activity // Biol. Bul. 2022. V. 49. № 6. P. 620–628. <http://dx.doi.org/10.1134/S1062359022060061>
51. Li Z., Zhang Y., Peng D., Wang X., Peng Y., He X., Zhang X., Ma X., Huang L., Yan Y. Corrigendum: Polyamine regulates tolerance to water stress in leaves of white clover associated with antioxidant defense and dehydrin genes via involvement in calcium messenger system and hydrogen peroxide signaling // Front Physiol. 2016. V. 7. P. 52. <https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00052>
52. Sakr M.T., Sarkassy N.M., Fuller M.P. Exogenously applied antioxidants and biostimulants counteract the adverse effect of biotic stress in wheat plant // Agric. Res. Technol. Open Access J. 2017. V. 12. P. 555853. <http://dx.doi.org/10.19080/artoaj.2017.12.555853>
53. Zhang X. Influence of plant growth regulators on turf grasses growth, antioxidant status, and drought tolerance / Ed. Ph.D. Thesis. Faculty of Virginia Polytechnic (Institute and State University), 1997.
54. Ali A.Y.A., Zhou G., Elsidig A.M., Zhu G., Meng T., Jiao X., Ahmed I., Ibrahim Salih E.G., Ibrahim M.E.H. Effects of jasmonic acid in foliar spray and an humic acid amendment to saline soils on forage sorghum plants' growth and antioxidant defense system // Peer J. 2022. V. 10. e13793. <https://doi.org/10.7717/peerj.13793>
55. Perduca M., Destefanis L., Bovi M., Galliano M., Munari F., Assfalg M., Ferrari F., Monaco H.L., Capaldi S. Structure and properties of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) lectin // Glycobiology. 2020. V. 30. № 8. P. 550–562. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwaa006>
56. Zhao J., Sun Q., Quentin M., Ling J., Abad P., Zhang X., Li Y., Yang Y., Favery B., Mao Z., Xie B. A Meloidogyne incognita C-type lectin effector targets plant catalases to promote parasitism // New Phytol. 2021. V. 232(5). P. 2124–2137. <https://doi.org/10.1111/nph.17690>

Changes in the Antioxidant System of Germinating Seeds and Sprouts of Pea with the Use of Micellar-Substrate Extract of Oyster Mushrooms

S. S. Tarasov^{a, #}, E. V. Mikhalev^a, E. K. Krutova^a

^aNizhny Novgorod State Agrotechnological University,
prosp. Gagarina 97, Nizhny Novgorod 603022, Russia

[#]E-mail: tarasov_ss@mail.ru

The reactions of the antioxidant system (AOS) of daily germinating seeds and 8-day-old pea seedlings cultivated using 10% and 100% aqueous extract from spent oyster mushroom straw substrate (hereinafter extract) were studied. The mother liquor was taken for 100% extract after its preparation, and the 10% was obtained by diluting the mother liquor. The plants were grown in oligotrophic hydroponic conditions and in eutrophic conditions on gray forest soil. The activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD), expression of *SOD-1*, *CAT-1*, *POD* genes, and the content of low molecular weight antioxidants (*NMAO*): ascorbate, phyloquinones, and free proline were studied as the main indicators of the AOS reaction. The inhibitory effect of 10% and 100% extract on the activity of SOD and CAT, but not on the activity of POD in daily germinating seeds, has been shown. At the same time, the content of mRNA transcripts of the *SOD-1* and *POD* genes decreased only slightly in seeds cultivated with 100% extract, in the remaining experimental groups the level of gene expression did not differ from the control. The content of ascorbate in all experimental groups did not differ from the control, and phyloquinones and free proline were less than in the control. In the leaves of 8-day-old seedlings cultivated in a hydroponic medium, in all experimental groups, the activity of AOS enzymes, the expression of their coding genes and the content of phyloquinones and free proline did not differ from the control. At the same time, the ascorbate content was higher. In plants cultivated in soil using a 10% extract, all EPA indicators did not differ from the control. In plants grown using 100% extract, the activity of SOD, the expression level of the *SOD-1* gene, the content of ascorbate and free proline were higher, and the remaining indicators did not differ from the control. Thus, the extract at the initial stages of germination inhibited the AOS of peas, followed by restoration (in oligotrophic conditions) and enhancement (in eutrophic cultivation conditions) of its work.

Keywords: peas, antioxidant system, oyster mushroom, low molecular weight antioxidants, seed germination, growth and development regulators, redox status, gene expression.