

МУНИЦИПАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБЩЕОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «СРЕДНЯЯ ОБЩЕОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ШКОЛА №108»
(МБОУ «СОШ № 108»)

ПРОЕКТ

**Влияние антиоксидантов на ферментативную
регуляцию метаболизма растений**

Выполнила обучающаяся 11В класса

Лукьянченко Виктория Дмитриевна

Руководитель проекта

Туркина Анна Владимировна

Воронеж

2025г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	4
Глава 1. Теоретическая часть	5
1.1 Активные формы кислорода.....	5
1.2. История открытия антиоксидантов	8
1.3. Антиоксидантная система	10
1.3.1. Ферментативные антиоксиданты:	11
1.3.2 Неферментативные антиоксиданты:	12
1.4. Метаболизм	15
1.5. Классификация ферментов	17
1.6. Механизмы внутриклеточной регуляции функционирования ферментов:.....	18
Глава 2. Практическая часть	22
2.1. Проведение эксперимента	22
2.2. Анализ результатов	24
2.2.1 Всхожесть семян	24
2.2.2. Результаты измерения проростков	25
Заключение	27
Список литературы:	28

Введение

В современных условиях растения часто подвергаются воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды, таких как засуха, засоление почв, ультрафиолетовое излучение и загрязнение атмосферы. Эти стрессовые условия приводят к образованию в клетках растений активных форм кислорода (АФК) – высокореакционных молекул, способных повреждать липиды, белки и ДНК. Для защиты от окислительного стресса растения используют сложную антиоксидантную систему,

Актуальность: Изучение влияния антиоксидантов на ферментативную регуляцию метаболизма растений представляет особый интерес в сферах сельского хозяйства и биотехнологий. Понимание этих механизмов может помочь в разработке методов повышения устойчивости культурных растений к стрессам, создании биостимуляторов, что особенно важно для регионов с неблагоприятными условиями выращивания

Цель исследования: Изучить влияние антиоксидантов на активность ключевых ферментов, участвующих в метаболизме растений.

Задачи:

- Проанализировать литературу, связанную с антиоксидантами
- Изучить механизмы влияния антиоксидантов на ферментативную активность в растениях
- Провести эксперимент и изучить влияние антиоксидантов на прорастание семян и рост проростков растения, проанализировать полученные данные

Глава 1. Теоретическая часть

1.1. Активные формы кислорода

Во всех живых организмах постоянно протекают реакции с образованием активных форм кислорода, которые представляют собой реакционноспособные окислители, играющие важную роль в процессах метаболизма клеток в условиях нормы. Продукция различных активных форм кислорода является элементом важных физиологических процессов, в том числе механизмов передачи сигнала и регуляции действия гормонов, цитокинов, процессов транскрипции, апоптоза, иммуномодуляции, нейромодуляции.

Активные формы кислорода (АФК) - химические соединения, в составе которых кислород имеет неспаренный электрон на внешней орбите и имеют высокую реакционную способность (5, с. 21)

Источники АФК:

1. цепь тканевого дыхания (утечка электронов с восстановленного убихинона на кислород);
2. реакции, катализируемые оксидазами, гемопротеинами, цитохромом P₄₅₀;
3. реакции окисления в лейкоцитах, макрофагах и пероксисомах;
4. радиолиз воды;
5. воздействие ксенобиотиков, пестицидов;
6. реакции самопроизвольного (неферментативного) окисления ряда веществ (12, с.46)

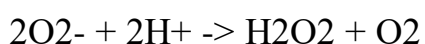
К активным формам кислорода относят:

1. Супероксид-анион (O₂⁻) – является одним из наиболее широко распространенных в организме свободных радикалов:

Он образуется в клетках болезнетворных бактерий и является повреждающим фактором для мембран клеток паренхиматозных органов человеческого организма. Для лейкоцитов и макрофагов супероксид-анион является фактором бактерицидности, с помощью которого клетки инактивируют патогенные микроорганизмы.

2. Пероксидный радикал (H₂O₂)

Образование пероксида водорода происходит в результате присоединения одного электрона и двух протонов к супероксидному радикалу, а также в результате взаимодействия (дисмутации) двух молекул супероксида:



Пероксид водорода относится к окислителям средней силы. Благодаря относительно продолжительному времени жизни и растворимости в липидном бислое, пероксид может легко диффундировать через мембраны

3. Гидроксильный радикал (OH^{*})

При дальнейшем одноэлектронном восстановлении возможно появление гидроксильного радикала (HO^{*}) - очень сильного окислителя. Этот радикал не способен к внутриклеточной миграции, так как моментально вступает в реакцию с биологическими молекулами. Гидроксильный радикал не только инициирует разрушение мембран и деградацию белков, взаимодействуя с остатками многих аминокислот, но и разрушает углеводные мостики между нуклеотидами, разрывая цепи ДНК и РНК. Полагают, что такие процессы могут быть факторами природного мутагенеза. Гидроксильный радикал является наиболее опасным еще и потому, что в растительных клетках нет ферментных систем, осуществляющих его нейтрализацию.

4. Синглетный кислород (O₂)

Основной путь его образования обусловлен световыми реакциями, которые опосредованы пигментами-фотосенсибилизаторами (главным образом, хлорофиллом). Поглощая квант света, этот пигмент переходит в синглетное или триплетное возбужденное состояние. Молекулы пигмента в обоих возбужденных состояниях, сталкиваясь с молекулярным кислородом, передают на него свою энергию, в результате чего и образуется химически очень активный синглетный молекулярный кислород. Основное значение в его генерации имеют триплетные состояния пигментов, которые обладают более значительным временем жизни. (13, с. 25-31)

Кислородные радикалы обладают высокой реакционной способностью и легко вступают в химические реакции с органическими молекулами для приобретения недостающего электрона. Кислородные радикалы оказывают воздействие на различные структурные компоненты клеток: ДНК (повреждение азотистых оснований); белки (окисление аминокислотных остатков, образование ковалентных «сшивок»); липиды; мембранные структуры.

Активные формы кислорода могут отщеплять электроны от многих соединений, превращая их в новые свободные радикалы, и инициируют тем самым цепные окислительные реакции. Если в реакцию с АФК вступают ненасыщенные жирные кислоты плазматических мембран, говорят о перекисном окислении липидов. (4, с.54)

В нормально функционирующих клетках содержание АФК поддерживается на низком уровне, так как специальные ферментные системы постоянно заняты их ликвидацией. В норме концентрации АФК в клетках невысоки, однако в стрессовых условиях содержание АФК в клетках начинает быстро увеличиваться и развивается окислительный стресс. Ингибиторами свободнорадикальных реакций являются вещества –

антиоксиданты, способные взаимодействовать с ними с образованием неактивных продуктов.

Антиоксиданты (АО) - вещества, которые обладают способностью вступать во взаимодействие с различными реактогенными окислителями, активными формами кислорода (АФК), другими свободными радикалами и приводить их к частичной или полной инактивации. Антиоксиданты представляют большой класс соединений разной химической природы экзогенного и эндогенного происхождения. (15, с.10)

1.2. История открытия антиоксидантов

В рамках адаптации с морской жизнью, наземные растения начали производить антиоксиданты, таких как аскорбиновая кислота (витамин С), полифенолы и токоферолы. Эволюция покрытосеменных растений от 50 до 200 миллионов лет назад привела к развитию многих пигментов антиоксидантов - особенно во время юрского периода - как химические средства защиты от активных форм кислорода, которые являются побочными продуктами фотосинтеза. Первоначально термин антиоксидант конкретно упоминался как химическое вещество, которое помешало потреблению кислорода. В конце 19 и начале 20 веков, обширное исследование сосредоточено на использовании антиоксидантов в важнейших промышленных процессах, таких как предотвращение металла от коррозии, вулканизации резины, и полимеризации топлива от загрязнения двигателем внутреннего сгорания.

Первые исследования о роли антиоксидантов в биологии были направлены на их использование в предотвращении окисления ненасыщенных жиров, которые являются причиной прогорклости. Антиоксидантная активность может быть измерена только путем размещения жира в закрытом контейнере с кислородом и измерением скорости потребления кислорода. Тем не менее, это было определение витаминов А, С

и Е как антиоксиданты, которые произвели революцию в области и привели к осознанию важности антиоксидантов в биохимии живых организмов.

Возможные механизмы действия антиоксидантов впервые были изучены, когда было признано, что вещества с антиоксидантной активностью, скорее всего, те, которые сами легко окисляются. Исследования о том, как витамин Е предотвращает процесс перекисного окисления липидов приводит к идентификации антиоксидантов в качестве восстановителей, которые препятствуют окислительным реакциям. (10, с.312)

В наши дни никого не удивит словом «антиоксиданты» - редкая реклама продуктов обходится без него. «Пищевые продукты, содержащие антиоксиданты», «косметика с антиоксидантами», «антиоксиданты, продлевающие молодость». 30 лет назад об антиоксидантах знали лишь узкие специалисты и использовали их для замедления окислительных процессов.

Идея применять антиоксиданты в лечении некоторых болезней пришла к отечественным биохимикам, искавшим средство, помогающее справиться с последствиями лучевой болезни. При этом выяснилось, что антиоксиданты играют важную роль в нормальной жизнедеятельности здоровой клетки, являясь универсальными регуляторами состава, структуры и активности мембран клеток. Природные и синтетические антиоксиданты начали применять в онкологии, кардиологии, неврологии.

В СССР отечественные антиоксиданты появились в начале 1980-х годов в ГУ НИИ Фармакологии РАМН, где Л.Д. Смирновым и В.И. Кузьминым был синтезирован новый препарат – сукцинат 2-этил-6-метил-3-оксипиридина (Мексидол), и под руководством академика РАМН А.В. Вальдмана были выявлены его фармакологические эффекты, проведено изучение механизма действия (С.Б. Середенин, Т.А. Воронина, А.В. Еременко и др.), выполнены доклинические исследования по токсикологии (Б.И. Любимов) и фармакокинетике (А.К. Сариев, В.П. Жердев), проведены первые

клинические испытания и внедрение препарата в медицинскую практику (З.А. Суслина, Г.Г. Незнамов, А.И. Федин, С.А. Румянцева, А.Л. Верткин, В.И. Шмырев). (10, с.314)

1.3. Антиоксидантная система

Контролирует и ограничивает радикальные процессы в организме человека антиоксидантная система (АОС), представляющая довольно широкий класс биоантиоксидантов. Условно ее можно разделить на специфическую и неспецифическую. К специфической можно отнести ферментативные и неферментативные компоненты, которые направлены на снижение уровня оксидантов, что приводит к обрыву цепей свободнорадикальных реакций. Действие неспецифического компонента связано со снижением возможности дополнительной генерации свободных радикалов. При нарушении баланса между антиоксидантной системой и генерацией АФК последние проявляют свою чрезмерную агрессивность, что приводит к окислительной модификации клеточных структур, белков, липидов, углеводов и нуклеиновых кислот.

По способу происхождения и пути проникновения в организм АО можно разделить на эндогенные и экзогенные. Эндогенные (супероксиддисмутаза, каталаза) синтезируются внутри организма, а экзогенные (аскорбиновая кислота, ретинол, а-токоферол) поступают в организм с пищей и лекарственными препаратами. (2, с.12)

Основываясь на растворимости антиоксиданта в воде, можно подразделить на гидрофильные (аскорбиновая кислота) или липофильные (токоферолы) соединения.

По своей природе АО бывают ферментативные (супероксиддисмутаза, каталаза) и неферментативные (аскорбиновая кислота, полифенолы)

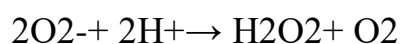
1.3.1. Ферментативные антиоксиданты:

В тканях благодаря наличию сложных ферментативных комплексов со специфическими электрон-транспортными простетическими и коферментными группировками процесс восстановления кислорода протекает по многоступенчатому механизму, что сводит к минимуму возможность образования высокореакционных промежуточных соединений кислорода.

Ферментативные антиоксиданты (АО) характеризуются высокой специфичностью действия, а также клеточной и органной локализации, использованием в качестве катализаторов некоторых металлов (Cu, Zn, Mn, Fe). Уровень внутриклеточных ферментативных АО находится под генетическим контролем. У животных в условиях гипоксии и гипероксии, усиливающих образование активных форм кислорода, повышается уровень внутриклеточных ферментов АО системы, что связано с механизмами поддержания устойчивости организма к окислительному стресс (2, с.25)

- Супероксиддисмутаза

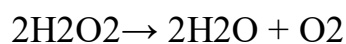
превращает супероксидные анионы в пероксид водорода:



Супероксиддисмутаза является мощным ингибитором свободнорадикального окисления в организме, защищающим биополимеры (белки, нуклеиновые кислоты и др.) от окислительной деструкции. (1, с.32)

- Каталаза

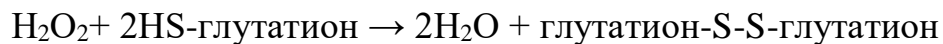
Каталаза является гемопотеином и катализирует реакцию разложения пероксида водорода:



В клетках каталаза локализована в пероксисомах, где образуется наибольшее количество пероксида водорода, а также в лейкоцитах, где она защищает клетки от последствий «респираторного взрыва».

- **Глутатионпероксидаза**

Важнейший фермент, обеспечивающий инактивацию пероксида водорода и пероксидных радикалов. Он катализирует восстановление пероксидов при участии трипептидаглутатиона. SH-группа глутатиона служит донором электронов и, окисляясь, образует дисульфидную форму глутатиона:



Глутатионпероксидаза в качестве кофермента использует селен. При его недостатке активность антиоксидантной защиты снижается. Недостаток глутатиона в клетках, например эритроцитах, который может быть обусловлен действием токсических веществ, например ионами тяжелых металлов или наследственным недостатком глутатион редуктазы приводит к активации перекисного окисления; это, в частности, наблюдается при некоторых видах гемолитических анемий (1, с.35)

1.3.2 Неферментативные антиоксиданты:

1. Гидрофильные антиоксиданты - природные водорастворимые антиоксиданты (витамин С; карнозин; таурин; восстановленные тиолы, содержащие SH-группы; цистеин; HS-CoA; белки, содержащие селен).

- Аскорбиновая кислота (витамин С, водорастворимый) одно из основных веществ в человеческом рационе, необходимое для нормального функционирования организма. Она используется организмом для биохимических окислительно-восстановительных процессов. В водных растворах при физиологических значениях pH L-аскорбиновая кислота

гидроксильные радикалы, супероксид-анион и гидроперекиси липидов, сосредоточившись в липидном слое мембраны (6, с.390)

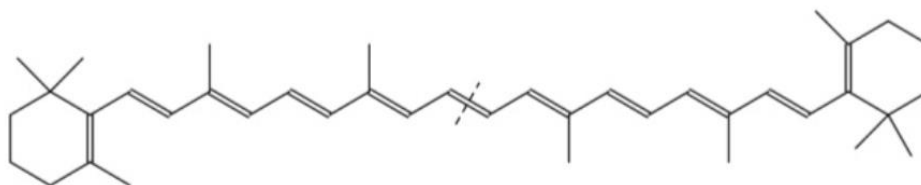


Рис. 3 - Структурная формула В-каротина

Помимо упомянутых выше соединений, К антиоксидантам неферментативной природы можно отнести полифенольные соединения. К полифенольным антиоксидантам принято относить любые соединения типа $Ar(OH)_n$, в которых одна или несколько гидроксильных групп соединены с ароматическим ядром

Общепризнанно, что клеточные антиоксидантные системы наиболее эффективны в случае, если несколько различных АО действуют кооперативно. Такие антиоксиданты целесообразно принимать внутрь и исследовать совместно. (14, с.113)

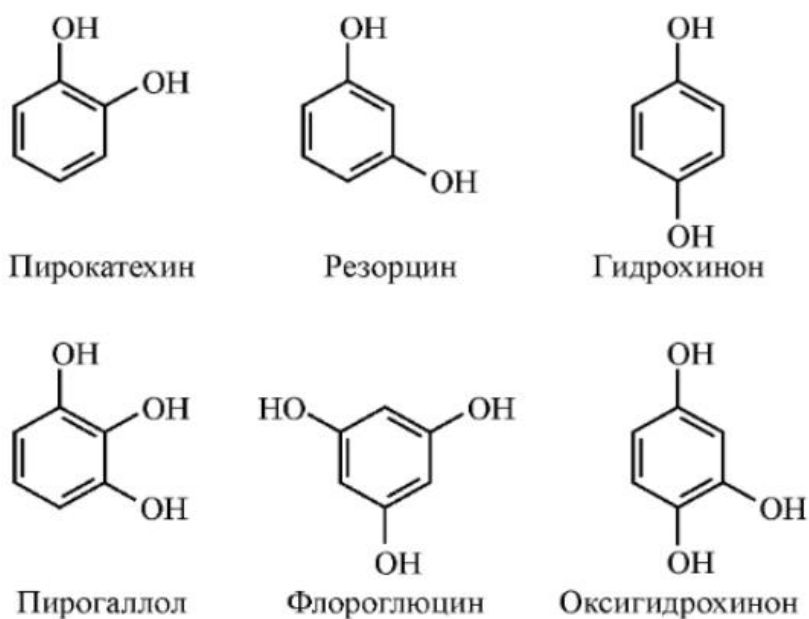


Рис. 4 - Структурные формулы некоторых представителей фенольных антиоксидантов

1.4. Метаболизм

Совокупность всех реакций в организме называется метаболизмом (от греческого (*metobole* - «изменяться») или обменом веществ. Это свойство, которое может возникнуть только благодаря согласованному взаимодействию молекул в организме. Мы можем представить клеточный метаболизм как тысячи химических реакций, осуществляемых в клетке и упорядоченных в виде пересекающихся метаболических путей. (14, с.54)

Метаболический путь – это связанная серия химических реакций, происходящих внутри клетки, ряд промежуточных соединений в ходе которых исходное вещество превращается в продукт, в образовании которых принимают участие несколько ферментов, действующих последовательно один за другим. В клетке работает одновременно много метаболических путей. Реакции протекают согласованно, подчиняясь строгой регуляции, что объясняется природой ферментов. Метаболический путь начинается со специфической для нее молекулы, которая затем проходит серию преобразований и результате превращается в определенный продукт (9, с.202)

Метаболизм упорядочивает потоки вещества и энергии в клетке. Часть метаболических путей направлена на извлечение энергии, запасенной в питательных веществах, с помощью разложения молекул на простые составляющие. Такие процессы называются *катаболическими путями*, или путями распада, обычно сопровождаются высвобождением энергии. Главным путем катаболизма является клеточное дыхание, в которое глюкоза и другое органическое топливо разрушаются в присутствии кислорода на углекислый газ и воду. Энергия, запасенная в виде органических молекул, становится доступной, и клетка может расходовать ее на энергозависимые процессы. Анаболические пути, или реакции синтеза в противоположность

катаболическим, запасают энергию, строя сложные молекулы из простых, требуют затрат энергии. (14, с.168)

Для регулирования происходящих в клетке реакций и обеспечения надлежащей скорости служат ферменты. Ферменты можно определить как биологические катализаторы. Катализатором называют вещество, ускоряющее реакцию, но само в реакции не изменяющееся. Поскольку ферменты представляют собой белковые молекулы, синтезируемые в живой клетке, их называют биологическими катализаторами. В любой клетке человеческого тела содержатся тысячи ферментов. Они катализируют многочисленные химические реакции, протекающие здесь при температурах, совместимых с жизнью, т. е. в пределах от 5 до 40 °С. Чтобы эти реакции с той же скоростью осуществлялись вне организма, потребовались бы высокие температуры и резкие изменения некоторых других условий, что было бы для клетки губительным. Ферменты абсолютно необходимы, поскольку без них реакции в клетке протекали бы слишком медленно и не могли бы поддерживать жизнь. Вещество, превращения которого катализирует данный фермент, называют *субстратом* этого фермента. Соединяясь с субстратом, фермент образует короткоживущий фермент-субстратный комплекс. В таком комплексе шансы на то, что реакция произойдет, значительно возрастают. По завершении реакции фермент-субстратный комплекс распадается на продукт (или продукты) и фермент. Фермент в реакции не изменяется, и по ее окончании может снова взаимодействовать с новой молекулой субстрата.

Белковую часть фермента называют апоферментом. Небелковый компонент, прочно связанный, называют простетической группой, слабо связанный, обслуживающий несколько ферментов - коферментом. В состав простетических групп и коферментов входят металлы (железо, медь, цинк), витамины и их производные. Эндоферменты функционируют в клетке, а экзоферменты выделяются из клетки или локализуются в плазмалемме и действуют снаружи от нее. Ферменты обладают специфичностью как к

субстратам (субстратная специфичность), так и к определенным химическим реакциям (специфичность действия). Названия ферментов обычно заканчиваются суффиксом —аза, за исключением некоторых общепринятых названий, например, пепсин, трипсин и другие. Название, как правило, отражает природу субстрата (хитиназа расщепляет хитин), или функцию фермента (аминотрансфераза переносит аминокетильные группы), или же то и другое вместе (алкогольдегидрогеназа). (6, с.65)

1.5. Классификация ферментов

Ферменты разделяют на 6 классов:

- 1) оксиредуктазы - катализируют окислительно-восстановительные реакции,
- 2) трансферазы - перенос целых атомных группировок от одного соединения к другому,
- 3) гидролазы - распад органических соединений с участием воды,
- 4) лиазы - присоединение какой-либо атомной группировки к органическим соединениям или отщепление от субстратов определенной группы без участия воды,
- 5) изомеразы - превращение одних изомеров в другие,
- 6) синтетазы - синтез органических соединений, происходящий при участии АТФ с использованием энергии этой кислоты (2, с. 78)

Благодаря своей способности регенерироваться, то есть возвращаться к первоначальному состоянию, одна и та же молекула фермента может катализировать большой объем превращений. Скорость и направленность ферментативных реакций в клетке зависит от количества фермента, температуры и рН. Ферментативные реакции зависят от температуры, поскольку ферменты являются белками, то повышение температуры свыше

35-40°C вызывает их частичную инактивацию, а дальнейшее повышение температуры приводит уже к необратимой денатурации. У каждого фермента имеется свой оптимум рН, при котором лучше всего проявляется его активность. Это связано с тем, что рН влияет на заряд функциональных групп фермента, составляющих его активный центр, а от заряда зависит возможность образования фермент-субстратного комплекса. (14, с. 133)

1.6. Механизмы внутриклеточной регуляции функционирования ферментов:

Известны следующие механизмы внутриклеточной регуляции функционирования ферментов:

1. Метаболитная регуляция. Она происходит в результате изменения концентрации метаболитов и не затрагивает активность или число ферментных молекул.

2. Различают регуляцию в местах разветвления путей обмена веществ и регуляцию по принципу обратной связи. В первом случае ферменты конкурируют за один и тот же субстрат и выбор пути определяется концентрацией общего для конкурирующих ферментов субстрата и степенью сродства фермента к субстрату. Под обратной связью понимается влияние более позднего члена цепи взаимосвязанных реакций на более ранний.

3. Ферментная регуляция. При этом типе регуляции изменяется активность ферментов.

Изменение ферментативной активности может осуществляться несколькими путями:

а) Обратимое или необратимое превращение неактивных предшественников ферментов – зимогенов в активные ферменты. Например, В-амилаза инактивирована в запасающих клетках эндосперма семян злаков из-за соединения с запасными белками посредством ди-сульфидных связей (-S-S-). К началу прорастания семян из живых клеток алейронового слоя в эндосперм поступают вещества, разрушающие дисульфидные связи.

Активированная В-амилаза принимает участие в гидролизе запасного крахмала;

б) Изменение активности фермента под влиянием эффекторов. Связываясь с ферментом, эффекторы могут повышать его активность – это положительные эффекторы – активаторы или уменьшать ее – это отрицательные эффекторы – ингибиторы. Эффектор может влиять на активность фермента, взаимодействуя с активным центром (изостерический эффект) или изменяя конформацию ферментной молекулы в результате связывания с ее аллостерическим центром (аллостерический эффект). Изостерический эффект происходит в том случае, когда эффектор и субстрат похожи по своему строению и конкурируют друг с другом за активный центр фермента. Такой тип ингибирования называют конкурентным ингибированием.

3. Генная регуляция. В этом случае изменяется количество ферментных молекул в клетке из-за включения или выключения синтеза ферментов. Регулирующие факторы действуют на ДНК, РНК или рибосомы.

4. Мембранная регуляция. Различают контактную и дистанционную мембранную регуляцию активности ферментов. Контактная регуляция – связывание ферментов с мембранами или их освобождение меняет их активность. Дистанционная мембранная регуляция активности ферментов осуществляется косвенным путем в результате транспорта через мембраны субстратов и коферментов, удаления продуктов реакции, ионных и рН сдвигов в компартментах клетки. (10, с.14)

Антиоксиданты и ферментативная регуляция метаболизма тесно связаны. При стрессе повышается образование АФК, что может нарушать структуру и функцию ферментов. Антиоксиданты, снижая уровень АФК, способствуют сохранению активности ферментных систем.

Аскорбиновая кислота (витамин С) — мощный восстановитель, способный непосредственно нейтрализовать свободные радикалы. Она также участвует в цикле аскорбат-глутатион, важном для регенерации других антиоксидантов и поддержания клеточного красно-окислительного баланса.

Каталаза и пероксидаза — ферменты, расщепляющие перекись водорода, также активируются под действием антиоксидантов.

В клетках растений антиоксиданты выполняют не только защитную, но и регуляторную функцию. Например, при воздействии стрессовых факторов (ультрафиолетовое излучение, засуха, избыток солей, загрязнение тяжёлыми металлами) резко возрастает уровень активных форм кислорода (АФК), таких как супероксид-анион ($O_2^{\bullet-}$), перекись водорода (H_2O_2), гидроксильный радикал ($\bullet OH$). Эти молекулы могут повреждать ДНК, белки и липиды, что нарушает работу ферментов и снижает метаболическую активность. (5, с.90)

Антиоксиданты не только устраняют избыток АФК, но и участвуют в передаче сигналов, регулирующих экспрессию генов, кодирующих ферменты. Так, перекись водорода может действовать как вторичный мессенджер, вызывая активацию антиоксидантных генов и ферментов, в том числе каталазы, пероксидазы и супероксиддисмутазы.

Глутатион играет ключевую роль в детоксикации и восстановлении окисленных форм других антиоксидантов. Он также необходим для работы глутатионпероксидазы — фермента, расщепляющего H_2O_2 . Аскорбат-глутатионовый цикл — это важный механизм, поддерживающий редокс-гомеостаз в растительных клетках, особенно в хлоропластах, где интенсивно образуются АФК при фотосинтезе.

Токоферолы, в частности α -токоферол, защищают мембраны от перекисного окисления липидов, сохраняя целостность и функциональность ферментных комплексов. Каротиноиды предотвращают фотодеструкцию хлорофилла и также стабилизируют ферментативные системы. (7, с.112)

Таким образом, антиоксиданты воздействуют на ферментативную активность не только напрямую, устраняя окислительный стресс, но и опосредованно — через регуляцию экспрессии ферментов, стабилизацию мембранных структур, восстановление коферментов и взаимодействие с сигнальными путями. (11, с.46)

Глава 2. Практическая часть

2.1. Проведение эксперимента

В процессе прорастания семян в клетках активируется синтез активных форм кислорода (АФК) в результате окислительно-восстановительных реакций, накопление АФК приводит к развитию окислительного стресса, который ингибирует ключевые биохимические процессы. Для снижения негативного воздействия окислительного стресса возможно осуществление обработки семян веществами с антиоксидантными свойствами

Цель эксперимента: изучить влияние антиоксидантов (на примере аскорбиновой кислоты и а-токоферола) на всхожесть семян и рост проростков кресс-салата

Объектом исследования были выбраны семена кресс-салата (*Lepidium sativum*) сорта «Весенний», так как растение является биоиндикатором, обладает повышенной чувствительностью к изменениям условий окружающей среды и отличается быстрой всхожестью

В ходе работы были сформулированы гипотезы:

Гипотеза №1: добавление растворов антиоксидантов увеличит всхожесть семян

Гипотеза №2: добавление растворов антиоксидантов повлияет на длину стебля проростков

Гипотеза №3: добавление растворов антиоксидантов повлияет на длину корня проростков

Материалы:

1. Семена кресс-салата сорта «Весенний», 2 упаковки по 1г
2. Аскорбиновая кислота 50 мг/мл, 1 ампула по 2 мл
3. Альфа-токоферола ацетат 100 мг/мл
4. 3 чашки Петри

5. 4 пипетки Пастера
6. Фильтровальная бумага

Схема эксперимента:

- Техническая подготовка эксперимента
 1. Подготовили 3 чашки Петри, на каждой подписали №выборки, какое вещество будет добавлено (контроль – бутылированная вода)
 2. На дно каждой чашки Петри положили фильтровальную бумагу
 3. Сделали раствор аскорбиновой кислоты и а-токоферола в концентрации 100 мг/л
- Ход эксперимента:
 1. В эксперименте были сформированы 3 выборки:

Выборка №1 – контрольная группа, добавили 6 мл бутылированной воды

Выборка №2 – экспериментальная группа, добавили 6 мл раствора аскорбиновой кислоты (100 мг/л)

Выборка №3 – экспериментальная группа, добавили 6 мл раствора а-токоферола (100 мг/л)
 2. В каждую чашку Петри пинцетом поместили 50 семян кресс-салата из рандомизированной выборки
 3. Первые 3 дня каждые 24 часа производили подсчет проросших семян
 4. На 3 день в каждую чашку Петри было добавлено 3 мл бутылированной воды
 5. На 4 день у каждого проростка были измерены длины стебля и корня
 6. Все результаты зафиксировали в таблицах

2.2. Анализ результатов

2.2.1 Всхожесть семян

Среднее количество проросших семян (шт)			
День	Контроль	Выборка №2	Выборка №3
1	1,5	1,17	1,5
2	46,67	49,17	48,83
3	49,33	49,50	49,33

Таблица №1

Всхожесть семян (в %)			
День	Контроль	Выборка №2	Выборка №3
1	3	2,33	3
2	93,33	98,33	98,66
3	98,66	99	98,66

Таблица №2

1 день: количество проросших семян примерно равно во всех выборках

2 день: количество проросших семян в опытных группах на ~5% выше, чем в контрольной группе

3 день: количество проросших семян примерно равно во всех выборках

При добавлении раствора аскорбиновой кислоты и а-токоферола в опытных группах наблюдается ускорение прорастания семян на 5%, но обработка семян антиоксидантами не влияет на итоговую всхожесть семян, гипотеза 1 не подтвердилась

2.2.2. Результаты измерения проростков

Средняя длина стебля			
№Экс	Контроль	Выб№2	Выб№3
1	1,72	1,87	1,77
2	1,71	1,89	1,82
3	1,5	1,55	1,6
4	1,58	1,65	1,67
5	1,72	1,79	1,77
6	1,83	1,91	1,90

Таблица №3

Средняя длина корня			
№Экс	Кон.	Выб№2	Выб№3
1	2,8	3,4	2,94
2	3,24	3,93	3,67
3	3,17	3,91	3,57
4	2,93	4,03	3,82
5	2,86	3,29	3,13
6	2,97	3,71	3,68

Таблица №4

Различия между средними длин стебля незначительны (~5 %)

Средняя длина корня с выборке №2 с добавлением аскорбиновой кислоты выше контрольной группы на 27%

Различия между контролями и выборками №3 недостоверны в большинстве повторностей эксперимента (4 из 6) и требует дальнейших исследований

Выводы:

1. Обработка семян кресс-салата растворами аскорбиновой кислоты (АК) и альфа-токоферола в концентрации 100мг/л не влияет на итоговую всхожесть. Гипотеза №1 не подтвердилась, различия между всхожестью семян, которые были обработаны антиоксидантами и контрольной группой незначительны

2. Обработка семян АК и а-токоферолом (100 мг/ л) увеличивает скорость прорастания на 5%

3. Обработка семян АК и а-токоферолом (100 мг/ л) не влияет на длину стебля. Гипотеза №2 не подтвердилась, различия между всеми выборками незначительны

4. Обработка семян АК (100мг/л) увеличивает длину корня на 27% Обработка семян а-токоферолом (100мг/л) незначительно влияет на длину корня и требует дополнительного анализа, так как в 2 из 6 выборок различия были достоверны. Гипотеза №3 подтвердилась только в выборках, где семена были обработаны раствором АК

Результаты исследования подтвердили гипотезу о положительном влиянии антиоксидантов на процессы прорастания и роста растения. Оба исследуемых вещества оказали значимое влияние на физиологические процессы, повысили активность каталазы и супероксиддисмутазы

Заключение

В ходе выполнения индивидуального проекта была изучена роль антиоксидантов в ферментативной регуляции метаболизма растений, а также проведено практическое исследование их влияния на ранние этапы развития кресс-салата. Анализ литературных источников показал, что антиоксиданты выполняют не только защитную, но и регуляторную функцию, способствуя сохранению активности ферментных систем в условиях стресса и влияя на экспрессию генов, участвующих в антиоксидантной защите.

Практическая часть подтвердила теоретические выводы. Обработка семян кресс-салата растворами аскорбиновой кислоты и токоферола положительно сказалась на скорости прорастания, проценте всхожести и росте проростков. Особенно выраженное стимулирующее действие оказала аскорбиновая кислота, что согласуется с её участием в многочисленных метаболических реакциях, включая цикл аскорбат-глутатион и восстановление других антиоксидантов.

Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности использования антиоксидантов в агротехнике для повышения устойчивости и продуктивности растений, особенно на ранних стадиях роста. Также данный эксперимент может служить моделью для дальнейших исследований по оптимизации условий выращивания сельскохозяйственных культур с применением природных регуляторов метаболизма.

Таким образом, проект позволил расширить знания о физиологии растений, научиться планировать и проводить биологический эксперимент, анализировать результаты и делать обоснованные выводы. Практический опыт подтвердил важность антиоксидантной системы для нормального развития растений и открыл перспективы её прикладного применения.

Список литературы:

1. Ардакова Э.А. Активные формы кислорода и антиоксидантная система растений / Э.А. Ардакова, Т.М. Ергалиев // Экология и география растений и растительных сообществ - Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2018. - С. 32-36.
2. Артюхов В.Г. Ферментативная регуляция метаболизма: учебное пособие / В.Г. Артюхов, Т.Н. Попова, А.В. Семенихина [и др.]. - Воронеж: ВГУИТ, 2020. - 187 с.
3. Авезов Т.Ш. Влияние некоторых антиоксидантов на содержание фотосинтетических пигментов сортов мягкой и твёрдой пшеницы / Т.Ш. Авезов, А. Эргашев // Физиология растений. - 2023. - Т. 70, № 2. - С. 34-48.
4. Бузлама В.С. Методическое пособие по изучению процессов перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты организма у животных / В.С. Бузлама, М.И. Рецкий, Н.П. Мещеряков, Т.Е. Рогачева. - Воронеж: ВНИВИПФиТ, 1995. - 38 с.
5. Дадали В.А. Значение активных форм кислорода для функционирования клетки. Биохимические механизмы действия природных антиоксидантов / В.А. Дадали, Ю.В. Дадали, Л.Б. Гайковая, Ю.А. Власова. - СПб.: Элби-СПб, 2020. - 184 с.
6. Климентова Е.Г. Физиология растений / Е.Г. Климентова, Е.В. Рассадина, Ж.А. Антонова. - СПб.: СпецЛит, 2021. - 335 с.
7. Колесова Т.К. Влияние БАВ и низкомолекулярных антиоксидантов на прорастание и всхожесть семян пшеницы / Т.К. Колесова, Е.В. Коркин, С.А. Федорова // Сельскохозяйственная биология. - 2022. - № 4. - С. 112-125.
8. Колесова Т.К. Антиоксидантная активность микрорзелени, потенциал использования. Обзор предметного поля / Т.К. Колесова, Е.В. Коркин, С.А.

Федорова // Современные проблемы науки и образования. - 2023. - № 1. - С. 45-59.

9. Джейн Б. Биология. Том 1. Химия жизни. Клетка. Генетика / Джейн Б [и др.]. - М.: Бином, 2022. - 705 с.

10. Медведев С.С. Физиология растений / С.С. Медведев. - СПб.: БХВ-Петербург, 2013. - 512 с.

11. Пожилова Е.В. Активные формы кислорода в физиологии и патологии клетки / Е.В. Пожилова, В.Е. Новиков // Физиология растений. - 2020. - Т. 67, № 3. - С. 45-62.

12. Полесская О.Г. Растительная клетка и активные формы кислорода / О.Г. Полесская. - М.: Академия, 2021. - 256 с.

13. Рецкий М.И. Методические положения по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма / М.И. Рецкий, С.В. Шабунин, Г.Н. Блинецова [и др.]. - Воронеж: ВНИВИПФиТ, 2019. - 45 с.

14. Тейлор Д. Биология. Том 1 / Д. Тейлор, Н. Грин, У. Стаут. - М.: Мир, 2021. - 454 с.

15. Шарова Е.И. Антиоксиданты растений / Е.И. Шарова. - М.: Litres, 2022. - 215 с.

