

УДК 58.039:581.142:577.15:633.11

## РОСТОВЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ И МЕТАБОЛИЗМ ПРОРАСТАЮЩИХ СЕМЯН ПШЕНИЦЫ (*Triticum aestivum* L.) В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДОЗЫ ЭКСТРАКТА ИЗ ОТРАБОТАННОГО СОЛОМЕННОГО СУБСТРАТА ВЕШЕНКИ (*Pleurotus ostreatus*)

© 2022 г. С. С. Тарасов<sup>1,\*</sup>, Е. В. Михалёв<sup>1</sup>, Е. К. Крутова<sup>1</sup>, И. А. Шестеркина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия  
603022 Нижний Новгород, просп. Гагарина, 97, Россия

\*E-mail: tarasov\_ss@mail.ru

Поступила в редакцию 28.09.2021 г.

После доработки 15.12.2021 г.

Принята к публикации 15.03.2022 г.

Исследовали влияние экстракта, приготовленного на основе отработанного соломенного субстрата вешенки (далее экстракт), на ростовые процессы, уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ), окислительной модификации белков (ОМБ), активность тиоловой протеиназы и экспрессию ее гена (*CP*). Показано стимулирующее действие 10%-ного экстракта и ингибирующее влияние 100%-ного экстракта на ростовые процессы прорастающих семян и проростков пшеницы. Выявлено усиление процессов ПОЛ, активности тиоловой протеиназы и экспрессия гена *CP*, при этом уровень ОМБ не изменялся. В семенах, прораставших на 100%-ном экстракте, содержание продукта ПОЛ не отличалось от контроля, а уровень ОМБ был повышен, при этом активность и экспрессия гена цистеиновой протеиназы была подавлена относительно контроля.

**Ключевые слова:** регуляторы роста и развития растений, органические удобрения, прорастание семян, пшеница, окислительная модификация белков, перекисное окисление липидов, экспрессия генов, тиоловые протеиназы.

**DOI:** 10.31857/S0002188122060102

### ВВЕДЕНИЕ

Переработка грибных отходов – не только важный технологический процесс, дающий повышение эффективности производства, но и вносящий существенный вклад в экологизацию промышленности и сельского хозяйства. По сути, рациональное использование отходов грибоводства делает аграрное производство полностью замкнутым и безотходным [1]. Основным направлением в использовании отходов грибного производства является получение удобрений и биостимуляторов [2–4]. Вешенка занимает одно из лидирующих мест в мировом производстве грибов [5], а следовательно, от ее производства остается и много отходов в виде отработанного субстрата, на котором она произрастала. Отработанный субстрат вешенки может быть переработан в виде органических удобрений и регуляторов роста и развития растений.

Органические удобрения занимают особое место в севообороте культурных растений, они играют важную биосферную роль, являясь источником органо-минеральных компонентов не

только для продуцентов, но и источником питания для редуцентов, которые играют важнейшую роль в поддержании баланса в агроэкосистемах [6]. С хозяйственной точки зрения органические удобрения и регуляторы роста и развития способствуют увеличению урожая [7–9], позволяют поддерживать естественное плодородие почв [10, 11], управлять процессами онтогенеза растений [12, 13], способствуют адаптации к стрессовым воздействиям [14], увеличивают количество полезных веществ в растениях [15], а также могут обладать протекторным действием от инфекций [16].

Основными функциональными компонентами органических удобрений и регуляторов роста и развития являются: разлагающееся органическое вещество, свободные аминокислоты, гуминовые вещества (гуминовые и фульвокислоты, гуматы), карбоновые, жирные кислоты, фитогормоны, простые сахара, минеральные компоненты и ряд других веществ в зависимости от их природы [17, 18].

Несмотря на физиологическую, экологическую и хозяйственную важность органических

**Таблица 1.** Нуклеотидная последовательность праймеров для проведения ПЦР

№	Ген	Тип праймера	Последовательность 5'–3'	Номер NCBI
1	CP	Прямой Обратный	CTCTCCGTCTTCAAGGCCAA TCTTGAGCCCCAGGAAGGTC	AY841792.2
2	Актин	Прямой Обратный	CTTCGTTTGGATCTCGCTGG GCCAATCGTGATGACCTGAC	KC775780.1

удобрений и регуляторов роста и развития современная фундаментальная наука уделяет пока недостаточное внимания изучению их влияния на метаболизм растений.

Слабо изученным остается влияние органических удобрений и регуляторов роста и развития в разных концентрациях на процессы окислительной деструкции биомолекул растений, в том числе на процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и окислительной модификации белков (ОМБ). Мало данных также и о влиянии регуляторов роста и развития на гидролиз органического вещества при прорастании семян.

Наиболее удобным объектом, для изучения являются прорастающие семена пшеницы, что обусловлено их быстрой энергией прорастания, положительной реакцией на внесение органических удобрений, а также важным стратегическим значением культуры в хозяйственной деятельности человека [19].

Исходя из всего вышесказанного, цель работы – исследование влияния различных доз экстракта из отработанного соломенного субстрата вешенки (далее экстракт) на ростовые показатели, уровень ПОЛ, ОМБ, активность цистеиновой протеиназы и экспрессию гена *CP* в прорастающих семенах пшеницы.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объекта исследования использовали семена пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Экада-70. Семена замачивали в растворах экстракта с концентрацией 10 и 100%, контролем служили семена, замоченные в водопроводной воде.

Экстракт получали путем высушивания отработанного субстрата с последующей экстракцией в воде. Для этого 10 г сухого вещества заливали 200 мл воды, экстрагировали в течение 6 ч при комнатной температуре, постоянно перемешивая на шейкере. По окончании обработки семян, в них определяли уровень ПОЛ путем определения содержания малонового диальдегида (МДА), уровень ОМБ путем определения производных 2,4-денитрофенилгидразина (2,4-ДНФГ), активность кислой протеиназы и экспрессию ее гена (*CP*). Содержание МДА проводили согласно ме-

тодике, основанной на его способности реагировать с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) с образованием окрашенных производных [20], продукты ОМБ определяли по методике, основанной на способности окисленных белков взаимодействовать с 2,4-ДНФГ [21] с авторской модификацией, применимой к растительным объектам. Растительный материал массой 1 г растирали в фарфоровой ступке с 9 мл фосфатного буфера pH 7.2, полученный гомогенат центрифугировали 15 мин при 3000 g, супернатант использовали для анализа. Активность протеиназы определяли по методике Ансона [22]. Экспрессию гена *CP* в прорастающих семенах определяли полуколичественно с помощью полимеразной цепной реакции по конечной точке, с последующей визуализацией в агарозном геле [23]. Для этого 0.05 г растительного материала гомогенизировали с использованием набора для выделения тотальной РНК (ExtractRNA “Евроген”, Россия). кДНК синтезировали, используя набор для обратной транскрипции ОТ-1 с M-MLV обратной транскриптазой и случайными (random) гексапраймерами (“Синтол”, Россия). В качестве референсного гена использовался ген актина. Подпор праймеров проводили по кодирующему (*CDS*) участку гена в программе Primer-BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>). Полученные олигонуклеотиды представлены в табл. 1. Количественную оценку ампликонов проводили путем анализа агарозного геля и выражали в условных единицах (отн. ед.) [24].

Ростовые показатели оценивали общепринятыми методами, определяли энергию прорастания, лабораторную всхожесть, морфометрию проростков (длину корней и побегов), общую массу и массовую долю сухого вещества.

Данные обработаны статистическими методами, рассчитывали среднее арифметическое ( $M$ ) и стандартные отклонения ( $\sigma$ ) с использованием программы Microsoft Excel 2010. Достоверность различий оценивали по параметрическому  $t$ -критерию Стьюдента и непараметрическому критерию Крускала–Уоллиса [25].

**Таблица 2.** Всхожесть и энергия прорастания семян пшеницы в зависимости от дозы экстракта

Вариант	3-и сут (энергия прорастания)	7-е сут (всхожесть)
	всхожесть, %	
ПК	86.4 ± 1.4	98.0 ± 0.3
П10	95.4 ± 0.4*	98.4 ± 0.2
П100	78.2 ± 2.2*	91.2 ± 0.6*

Примечание. ПК – контроль, П10, П100 – варианты прораставших семян в 10%- и 100%-ном растворах экстракта отработанного соломенного субстрата вешенки. То же в табл. 3, на рис. 1–4.

\* $P \leq 0.05$  относительно контроля по  $t$ -критерию Стьюдента. То же в табл. 3, на рис. 1–4.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для изучения воздействия экстракта на содержание продуктов ПОЛ, ОМБ, активность тиоловой протеиназы и экспрессию ее гена в прорастающих семенах пшеницы время инкубации было ограничено 24 ч, именно через 24 ч максимально запускаются исследованные физиологические процессы в период раннего прорастания семян [26–28]. Выбор концентраций экстракта был обусловлен имеющимися в литературе данными о ростактивирующем и ингибирующем действии компонентов органических удобрений и регуляторов роста и развития растений [29], и поэтому были исследованы высокие – 100% и низкие – 10% дозы экстракта.

Результаты показали неоднозначное действие исследованных доз экстракта как на ростовые процессы, так и на физиолого-биохимические показатели прораставших семян и проростков пшеницы. Показан как статистически значимый ( $P \leq 0.05$ ) эффект 10- и 100%-ной дозы экстракта, так и в некоторых случаях его отсутствие ( $P \geq 0.05$ ).

Проведенный эксперимент показал существенное влияние дозы экстракта на показатели энергии прорастания и всхожести семян пшеницы. Зафиксировано ингибирующее влияние 100%-ного экстракта на всхожесть и энергию прорастания семян, а 10%-ный экстракт, напротив, оказал стимулирующие действие (табл. 2). Установлено увеличение средней массы растений, длины корней и побегов проростков. Под

действием 100%-ного экстракта зафиксировано уменьшение длины побега недельных проростков пшеницы (табл. 3).

Содержание сухого вещества в проростках статистически значимо не отличалось во всех исследованных вариантах ( $P \geq 0.05$ ). В суточных семенах, прораставших на 10%-ном экстракте, отмечено меньшее содержание сухого вещества по отношению к контролю. В семенах, культивируемых на 100%-ном экстракте, содержание сухого вещества было, напротив, больше, чем в контрольных образцах (рис. 1).

В семенах, которые проросли в 10%-ном экстракте, зафиксировано увеличенное содержание МДА по сравнению с контролем ( $P \leq 0.05$ ). Содержание исследованного продукта ПОЛ в семенах, культивируемых с использованием 100%-ного экстракта, статистически значимо не отличалось от аналогичных показателей в контроле ( $P \geq 0.05$ ) (рис. 2а). Результаты исследования суммарного содержания всех фракций, образовавшихся в процессе ОМБ, показало картину, отличную от таковой по содержанию продуктов ПОЛ. В прораставших семенах пшеницы при применении 10%-ного экстракта отмечено отсутствие достоверного изменения суммарного содержания продуктов ОМБ. Содержание 2,4-динитрофенилгидразонов в прораставших семенах, культивируемых на 100%-ном экстракте, было существенно больше, чем в контроле (рис. 2б) ( $P \leq 0.05$ ).

Показаны фракционный состав исследованных продуктов ОМБ, аналогичная динамика суммарного содержания продуктов ОМБ и всех исследованных фракций, образовавшихся в результате данного процесса (рис. 3). Отчетливо видно преобладание альдегид- и кетон-денитрофенилгидразонов нейтрального характера, при этом не отмечено преобладания какого-либо из этих продуктов. Содержание алифатических альдегид- и кетон-денитрофенилгидразонов основного характера было меньше. Стоит также отметить в этом случае и явный перевес в содержании альдегид-денитрофенилгидразонов по сравнению с кетон-денитрофенилгидразонами.

Оборот окисленных белков тесно связан с их протеолизом. Ключевую роль в расщеплении белков на начальных этапах прорастания семян

**Таблица 3.** Показатели прорастания семян пшеницы в зависимости от дозы экстракта

Вариант	Средняя масса одного проростка, г	Средняя длина корня одного проростка Лк, см	Средняя длина побега одного проростка Лп, см	Массовая доля сухого вещества, %
ПК	0.265 ± 0.013	2.59 ± 0.15	3.13 ± 0.083	15.3 ± 0.6
П10	0.353 ± 0.017*	3.79 ± 0.25*	4.14 ± 0.08*	15.2 ± 1.0
П100	0.228 ± 0.009	2.18 ± 0.26	2.21 ± 0.11*	14.5 ± 1.4

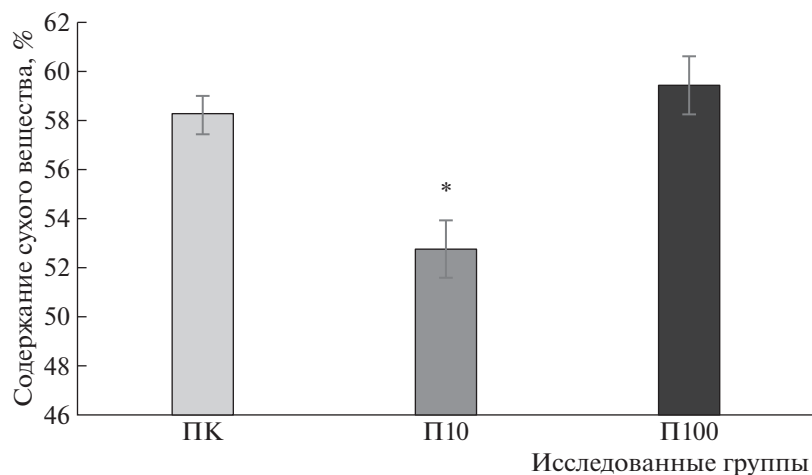


Рис. 1. Содержание сухого вещества в 1-суточных прораставших семенах пшеницы в зависимости от дозы экстракта.

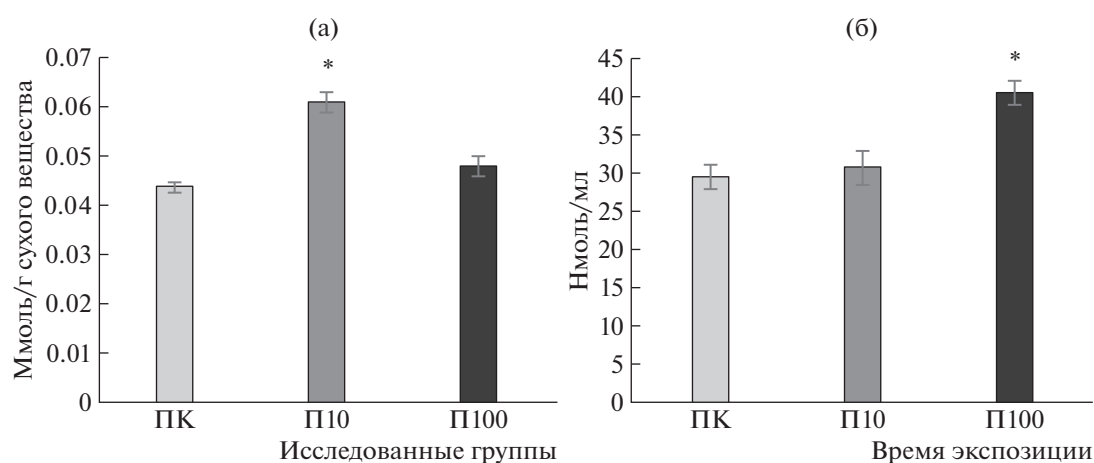


Рис. 2. Содержание МДА (а) и суммарное содержание всех продуктов ОМБ (б) в прораставших семенах пшеницы в зависимости от дозы экстракта.

играют тиоловые протеиназы [30, 31]. Расщеплению подвергаются как нормальные, так и окисленные белки. Протеолиз окисленных белков, по сути, приводит к их утилизации, и он может рассматриваться как компонент поддержания баланса окислительного гомеостаза прорастающих семян наряду с антиоксидантной системой защиты [32–37].

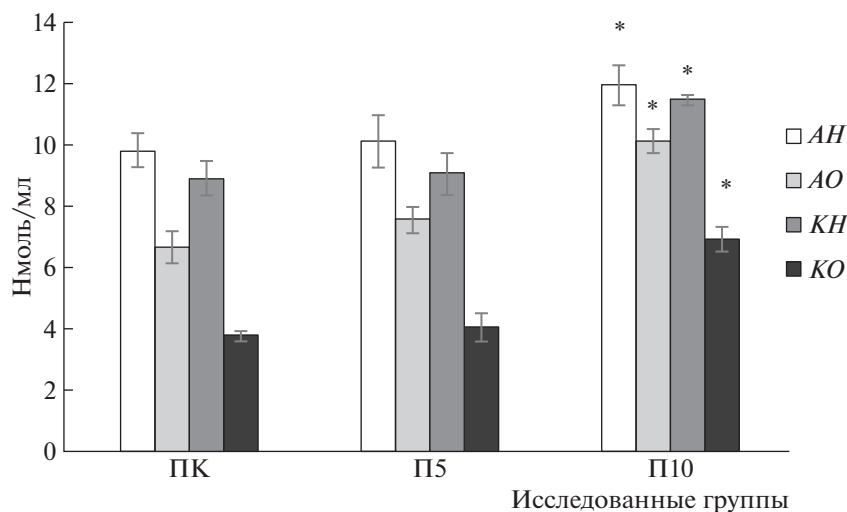
В ходе эксперимента было установлено, что активность тиоловой протеиназы в прораставших семенах пшеницы, культивируемых на 10%-ном экстракте, была существенно больше ( $P \leq 0.05$ ) по сравнению с контролем. Активность исследованных протеиназ в семенах, культивируемых на 100%-ном экстракте, уменьшалась относительно контроля (рис 4а).

Активность ферментов тесно связана с их биосинтезом. Ключевым этапом образования новых молекул ферментов является транскрипция. Ис-

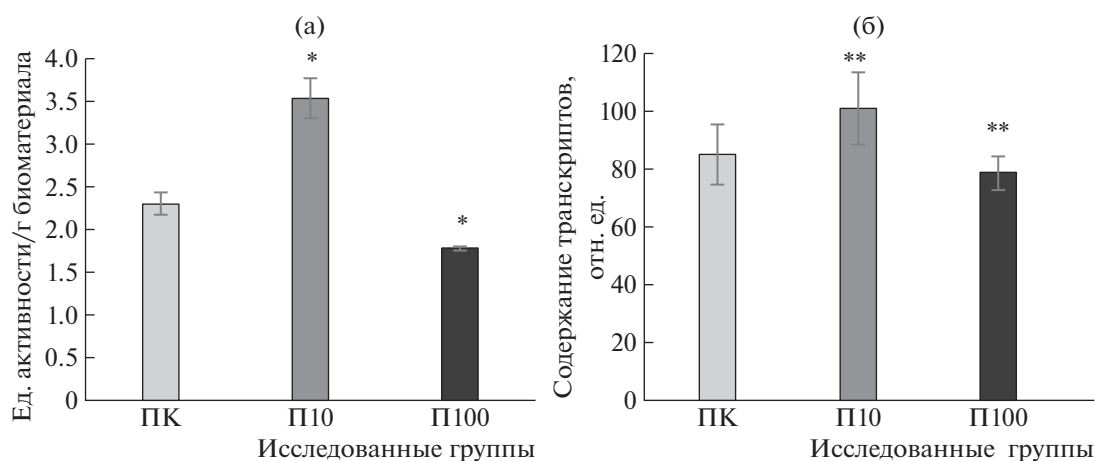
следования уровня транскрипции, наряду с активностью изученного фермента, формируют более детальную картину физиолого-биохимической реакции прорастающего семени на действие компонентов изученного экстракта.

Для изучения уровня транскрипции использовали метод ПЦР. Результаты эксперимента показали схожую динамику активности тиоловой протеиназы и количество образовавшихся транскриптов иРНК. Экспрессия гена *CP* в образцах, культивируемых на 10%-ном экстракте была больше относительно контроля. Содержание транскриптов иРНК гена *CP* в прораставших семенах с использованием 100%-ного экстракта было меньше, чем в контроле (рис. 4б).

Выявленные закономерности влияния экстракта на ростовые показатели, динамику содержания сухого вещества, уровень процессов ПОЛ,



**Рис. 3.** Фракционное содержание продуктов ОМБ в прораставших семенах пшеницы в зависимости от дозы органического удобрения: *AH* – алифатические альдегид-денитрофенилгидразоны нейтрального характера, *AO* – алифатические альдегид-денитрофенилгидразоны основного характера, *KH* – алифатические кетон-денитрофенилгидразоны нейтрального характера, *KO* – алифатические кетон-денитрофенилгидразоны основного характера.



**Рис. 4.** Активность цистеиновой протеиназы (а) и экспрессия гена *CP* (б) в прораставших семенах пшеницы в зависимости от дозы органического удобрения.

\*\*Достоверные различия в сравнении с контролем по критерию Крускала–Уоллиса.

ОМБ и протеолиза запасного белка показали, что компоненты, находящиеся в экстракте, могли как активировать процессы прорастания, так и подавлять ростовые процессы и увеличивать накопление окисленных метаболитов. Аналогичное воздействие экстракта зафиксировано и при исследовании активности тиоловой протеиназы и экспрессии гена *CP*. Физиолого-биохимическое действие экстракта, по всей видимости, было обусловлено концентрациями действующих веществ.

Снижение содержания сухого вещества в прораставших семенах в 10%-ном экстракте, по-видимому, было обусловлено активацией процессов катаболизма, что усиливало процессы освое-

ния питательных веществ, и снижало долю сухого вещества в тканях. Активация процессов катаболизма способствует накоплению в клетках химической энергии, что, безусловно приводит к усилению биосинтетических процессов, а это способствует ускоренному росту и развитию растений, это по-видимому и объясняет активацию ростовых процессов в проростках при применении 10%-ного экстракта.

Большее содержание сухого вещества и отставание ростовых показателей относительно контроля были обусловлены, вероятно, ингибирующим действием высоких доз экстракта на различные растактивирующие процессы в семенах, в

том числе на протеолиз, изученный в данной работе.

Представленные результаты редокс-метаболизма вероятнее всего были связаны со следующими обстоятельствами: с одной стороны, увеличение содержания МДА в семенах, прораставших в 10%-ном экстракте, по-видимому было обусловлено активацией дыхания, что приводило к увеличению содержания АФК и усилению процессов ПОЛ, но с другой стороны, зафиксировано отсутствие статистически значимого воздействия данной дозы на процессы ОМБ, что можно объяснить протекторным действием компонентов экстракта на белки, а также вероятной активацией прооксидантно-антиоксидантной системы растений [38–40] и более быстрой деградацией окисленных метаболитов. Накопление продуктов ОМБ, вероятнее всего, было связано с торможением общих физиологических процессов прорастания семян [41], что замедлило расщепление органических веществ семени, в том числе и окисленных, также угнетало работу антиоксидантной системы и подавляло работу ферментов, участвовавших в метаболизме продуктов ОМБ.

Анализируя возможные пути воздействия компонентов экстракта на исследованные процессы, стоит уделить внимание его составу, т.к. он содержит гуминовые и фульвокислоты [42–44], мономеры основных биополимеров [45–47], хитозан [48], фитогормоны [49] и пр.

Гуминовые и фульвокислоты входят в состав многих органических удобрений и бистимуляторов [50]. Например, показана способность данных соединений ингибировать кластогенные явления, вызываемые малеиновым гидразидом в прорастающих семенах травянистых растений [51], что дает возможность предполагать их защитное действие, в том числе и на уровне процессов окисления биомолекул. Известно влияние данных соединений на фитогормональный статус, в частности, показана их способность в определенных концентрациях увеличивать содержание индолилуксусной (ИУК) и жасминовой кислот (ЖК) в корнях и цитокининов в листьях [52]. Известная способность жасмонатов защищать растения от стрессовых воздействий [53–55], в том числе путем активации антиоксидантной системы [56], дает основания считать, что увеличение ЖК свидетельствует о закалывающем эффекте гуминовых и фульвокислот, и этим можно объяснить защитное действие на белки в семенах, прораставших на 10%-ном экстракте.

Другие важные неотъемлемые компоненты в составе исследованного экстракта — биомолекулы и продукты их распада. Изучено влияние экзогенных сахаров на стрессоустойчивость растений [57, 58]. Например, в работе [59] показано защит-

ное действие экзогенной глюкозы и сахарозы на прорастающие семена кукурузы в условиях солевого стресса, при этом отмечено снижение уровня ПОЛ и  $H_2O_2$ , что согласовалось с данными о защитном влиянии 10%-ного экстракта на белки.

Наличие экзогенных аминокислот может также воздействовать на исследованные показатели, активируя напрямую антиоксидантную систему, так и опосредованно воздействуя на сопутствующую микрофлору, которая путем выработки гормонов действует на прорастающие семена [60].

Известно также, что хитозан в низких концентрациях (5 мкг/мл) может стимулировать прорастание семян, индуцировать экспрессию гена, связанного с ауксином, ускорять биосинтез и транспорт ИУК и снижать активность оксидазы ИУК, что приводит к увеличению концентрации ИУК в побегах и корнях [61], а также увеличивать биомассу корней и побегов и активировать антиоксидантную систему защиты [62].

Еще одним объяснением отсутствия увеличения в содержании продуктов ОМБ в прорастающих семенах пшеницы, культивируемой на 10%-ном экстракте, можно назвать наличие экзогенных фитогормонов [63–65], которые модулируют системы тиоредоксин/ферредоксин в пользу защиты белков от окисления [66], повышают активность антиоксидантных ферментов [67].

Усиление процессов ОМБ, снижение активности тиоловой протеиназы и экспрессии гена *CP* в семенах прораставших в 100%-ном экстракте, вероятнее всего объясняется слишком большим содержанием вышеупомянутых компонентов. Та же самая глюкоза, которая оказывает положительное влияние на изученные процессы, в высоких концентрациях способна, напротив, ингибировать прорастание семян, индуцируя NO, который усиливает деструктивные процессы [68], и замедлять гидролиз запасного вещества в эндосперме [69]. Известна способность глюкозы и других моносахаров в больших концентрациях усиливать транскрипцию генов *ABI3* и *RGL2*, которые играют важную роль в передаче сигналов гормонов, что индуцирует задержку прорастания семян [70]. Показана способность глюкозы подавлять распад абсцизовой кислоты (АБК) [71], что приводит к увеличению концентрации данного гормона в прорастающих семенах.

Известно, что тиоловые протеиназы пшеницы являются альбуминами, т.е. водорастворимыми белками, и они в достаточном количестве сосредоточены в эндосперме семян [72, 73]. Таким образом, данные ферменты при набухании быстро вступают в реакции. Запуск процессов катаболизма под действием 10%-ного экстракта увеличивает количество макроэргов, что по-видимому приводит к усилению активности цистеиновой про-

теиназы. Другой вероятный путь усиления активности фермента взаимосвязан с увеличением транскриптов иРНК. Показана активация экспрессии гена *CP* под действием гиббереллинов (ГА) [74, 75], которые могли содержаться в исследованном экстракте, а также синтезироваться под действием других его компонентов. Известно также, что для правильного развития семян злаков необходим баланс между содержанием цистеиновых протеаз и фитостатинов, который поддерживается за счет антагонистической активности ГА и АБК, регулирующих экспрессию соответствующих генов. Регуляция транскрипции цистеиновых протеаз и фитостатинов определяется *цис*-действующими элементами, расположенными в промоторах этих генов, а также экспрессией их соответствующих факторов транскрипции (ФТ) и взаимодействиями между различными ФТ [76].

Уменьшение активности тиоловой протеиназы вероятно было связано с увеличением синтеза фитостатинов в связи с увеличением концентрации соответствующих фитогормонов.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, изучено влияние экстракта, приготовленного на основе отработанного соломенного субстрата вешенки (далее экстракт), на ростовые процессы, уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ), окислительной модификации белков (ОМБ), активность тиоловой протеиназы и экспрессию ее гена (*CP*) на ростовые процессы прорастающих семян и проростков пшеницы. Показано стимулирующее действие 10%-ного экстракта и ингибирующее влияние 100%-ного экстракта. Выявлено усиление процессов ПОЛ, активности тиоловой протеиназы и экспрессия гена *CP*, при этом уровень ОМБ не изменялся. В семенах, прораставших на 100%-ном экстракте, содержание продукта ПОЛ не отличалось от контроля, а уровень ОМБ был повышен, при этом активность и экспрессия гена цистеиновой протеиназы была подавлена относительно контроля.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Grimm D., Wösten H.A.B. Mushroom cultivation in the circular economy // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2018. V. 102 № 18. P. 7795–7803. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9226-8>
2. Rao J.R., Watabe M., Stewart T.A., Millar B.C., Moore J.E. Pelleted organo-mineral fertilisers from composted pig slurry solids, animal wastes and spent mushroom compost for amenity grasslands // *Waste Manag.* 2007. V. 7 № 9. P. 1117–28. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2006.06.010>
3. Chang K.L., Chen X.M., Sun J., Liu J.Y., Sun S.Y., Yang Z.Y., Wang Y. Spent mushroom substrate biochar as a potential amendment in pig manure and rice straw composting processes // *Environ. Technol.* 2017. V. 38. № 13–14. P. 1765–1769. <https://doi.org/10.1080/09593330.2016.1234000>
4. Wan Mahari W.A., Peng W., Nam W.L., Yang H., Lee X.Y., Lee Y.K., Liew R.K., Ma N.L., Mohammad A., Sonne C., Van Le Q., Show P.L., Chen W.H., Lam S.S. A review on valorization of oyster mushroom and waste generated in the mushroom cultivation industry // *J. Hazard. Mater.* 2020. V. 400. P. 123156. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123156>
5. Rühl M., Kües U. Mushroom production. 2007. ISBN-13: 978-3-940344-11-3. P. 555–586.
6. Moretti B., Bertora C., Grignani C., Lerda C., Celi L., Sacco D. Conversion from mineral fertilisation to MSW compost use: Nitrogen fertiliser value in continuous maize and test on crop rotation // *Sci. Total. Environ.* 2020. V. 705. P. 135308. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135308>
7. Lim S.L., Wu T.Y., Lim P.N., Shak K.P. The use of vermicompost in organic farming: overview, effects on soil and economics // *J. Sci. Food Agric.* 2015. V. 95. № 6. P. 1143–1156. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6849>
8. Liu Z., Rong Q., Zhou W., Liang G. Effects of inorganic and organic amendment on soil chemical properties, enzyme activities, microbial community and soil quality in yellow clayey soil // *PLoS One.* 2017. V. 6.12 (3). e0172767. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172767>
9. Hou M.M., Lü F.L., Zhang H.T., Zhou Y.T., Lu G.Y., Ayaz M., Li Q.H., Yang X.Y., Zhang S.L. Effect of organic manure substitution of synthetic nitrogen on crop yield and N<sub>2</sub>O emission in the winter wheat–summer maize rotation system // *Huan Jing Ke Xue.* 2018. V. 39. № 1. P. 321–330. <https://doi.org/10.13227/j.hjxk.201707010>
10. Murrell E.G., Cullen E.M. Conventional and organic soil fertility management practices affect corn plant nutrition and *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) larval performance // *Environ. Entomol.* 2014. V. 43. № 5. P. 1264–1274. <https://doi.org/10.1603/EN14008>
11. Yang S., Xiao Y.N., Xu J. Organic fertilizer application increases the soil respiration and net ecosystem carbon dioxide absorption of paddy fields under water-saving irrigation // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2018. V. 25 (10). P. 9958–9968. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1285-y>
12. Ugena L., Hýlová A., Podlešáková K., Humplík J.F., Doležal K., Diego N., Spíchal L. Characterization of biostimulant mode of action using novel multi-trait high-throughput screening of arabidopsis germination and rosette growth // *Front Plant Sci.* 2018. V. 9. P. 1327. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01327>
13. Masondo N.A., Kulkarni M.G., Finnie J.F., Van Staden J. Influence of biostimulants—seed—priming on *Ceratotheca triloba* germination and seedling growth under low tem-

- peratures, low osmotic potential and salinity stress // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2018. V. 147. P. 43–48. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.08.017>
14. *Campobenedetto C., Grange E., Mannino G., van Arkel J., Beekwilder J., Karlova R., Garaballo C., Contartese V., Berteau 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>
  15. *Yook J.S., Kim M., Pichiah P.B., Jung S.J., Chae S.W., Cha Y.S.* The Antioxidant properties and inhibitory effects on HEPG2 cells of chicory cultivated using three different kinds of fertilizers in the absence and presence of pesticides // *Molecules.* 2015. V. 20 (7). P. 12061–12075. <https://doi.org/10.3390/molecules200712061>
  16. *Pereira C., Dias M.I., Petropoulos S.A., Plexida S., Chrysargyris A., Tzortzakis N., Calhelha R.C., Ivanov M., Stojković D., Soković M., Barros L., C.F.R. Ferreira I.* The Effects of biostimulants, biofertilizers and water-stress on nutritional value and chemical composition of two spinach genotypes (*Spinacia oleracea* L.) // *Molecules.* 2019. V. 24 P. 4494. <https://doi.org/10.3390/molecules24244494>
  17. *Яхин О.И., Лубянов А.А., Яхин И.Ф.* Физиологическая активность биостимуляторов и эффективность их применения // *Агрохимия.* 2016. № 6. С. 72–94.
  18. *Monda H., Cozzolino V., Vinci G., Spaccini R., Piccolo A.* Molecular characteristics of water-extractable organic matter from different composted biomasses and their effects on seed germination and early growth of maize // *Sci. Total Environ.* 2017. V. 590–591. P. 40–49. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.026>
  19. *Lu C., Hawkesford M.J., Barraclough P.B., Poulton P.R., Wilson I.D., Barker G.L., Edwards K.J.* Markedly different gene expression in wheat grown with organic or inorganic fertilizer // *Proc. Biol. Sci.* 2005. V. 272(1575). P. 1901–1908. <https://doi.org/10.1098/rspb.2005.3161>
  20. *Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г.* Метод определения малонового диальдегида // *Современные методы в биохимии.* М.: Медицина, 1977. С. 66–68.
  21. *Дубинина Е.Е.* Окислительные модификации белков сыворотки крови человека, метод ее определения // *Вопр. мед. химии.* 1995. Т. 41. № 1. С. 24–26.
  22. *Александрова И.Ф., Веселов А.П., Ефременко Ю.П.* Протеолитическая активность прорастающих семян пшеницы при тепловом стрессе // *Физиология растений.* 1999. Т. 46. № 1. С. 223.
  23. *Gál A.B., Carnwath J.W., Dinnyes A., Herrmann D., Niemann H., Wrenzycki C.* Comparison of real-time polymerase chain reaction and end-point polymerase chain reaction for the analysis of gene expression in preimplantation embryos // *Reprod. Fert. Dev.* 2006. V. 18. № 3. P. 365–371. PMID: <https://doi.org/10.1071/rd0501216554012>
  24. *Schmittgen T.D., Zakrajsek B.A., Mills A.G., Gorn V., Singer M.J., Reed M.W.* Quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction to study mRNA decay: comparison of endpoint and real-time methods // *Anal. Biochem.* 2000. V. 285(2). P. 194–204. PMID: <https://doi.org/10.1006/abio.2000.475311017702>
  25. *Гланц С.* Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999. 459 с.
  26. *Han C., Yang P.* Studies on the molecular mechanisms of seed germination // *Proteomics.* 2015. V. 15 № 10. P. 1671–1679. <https://doi.org/10.1002/pmic.201400375>
  27. *Liu Y., Han C., Deng X., Liu D., Liu N., Yan Y.* Integrated physiology and proteome analysis of embryo and endosperm highlights complex metabolic networks involved in seed germination in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *J. Plant Physiol.* 2018. V. 229. P. 63–76. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.06.011>
  28. *Kim M.J., Kwak H.S., Kim S.S.* Effects of germination on protein,  $\gamma$ -aminobutyric acid, phenolic acids, and antioxidant capacity in wheat // *Molecules.* 2018. V. 23. № 9. P. 2244. <https://doi.org/10.3390/molecules23092244>
  29. *Arnao M.B., Hernández-Ruiz J.* Melatonin: plant growth regulator and/or biostimulator during stress? // *Trends Plant Sci.* 2014. V. 19 № 12 P. 789–797. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.07.006>
  30. *Jones C.G., Tucker G.A., Lycett G.W.* Pattern of expression and characteristics of a cysteine proteinase cDNA from germinating seeds of pea (*Pisum sativum* L.) // *Biochim. Biophys. Acta.* 1996. V. 1296 № 1. P. 13–15. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(96\)00098-2](https://doi.org/10.1016/0167-4838(96)00098-2)
  31. *Tsuji A., Tsukamoto K., Iwamoto K., Ito Y., Yuasa K.* Enzymatic characterization of germination-specific cysteine protease-1 expressed transiently in cotyledons during the early phase of germination // *J. Biochem.* 2013. V. 153. № 1. P. 73–83. <https://doi.org/10.1093/jb/mvs125>
  32. *Grune T., Davies K.J.* Breakdown of oxidized proteins as a part of secondary antioxidant defenses in mammalian cells // *Biofactors.* 1997. V. 6 № 2. P. 165–172. <https://doi.org/10.1002/biof.5520060210>
  33. *Davies K.J.* Oxidative stress: the paradox of aerobic life // *Biochem. Soc. Symp.* 1995. V. 61. P. 1–31. <https://doi.org/10.1042/bss0610001>
  34. *Pickering A.M., Davies K.J.* Degradation of damaged proteins: the main function of the 20S proteasome // *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 2012. V. 109. P. 227–248. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397863-9.00006-7>
  35. *Donegan N.P., Marvin J.S., Cheung A.L.* Role of adaptor TrfA and ClpPC in controlling levels of SsrA-tagged proteins and antitoxins in *Staphylococcus aureus* // *J. Bacteriol.* 2014. V. 196. № 23. P. 4140–4151. <https://doi.org/10.1128/JB.02222-14>
  36. *Raynes R., Pomatto L.C., Davies K.J.* Degradation of oxidized proteins by the proteasome: Distinguishing between the 20S, 26S, and immunoproteasome proteolytic pathways // *Mol. Aspects Med.* 2016. V. 50. P. 41–55. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2016.05.001>
  37. *Reeg S., Jung T., Castro J.P., Davies K.J.A., Henze A., Grune T.* The molecular chaperone Hsp70 promotes the proteolytic removal of oxidatively damaged proteins by the proteasome // *Free Radic. Biol. Med.* 2016. V. 99. P. 153–166. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.08.002>



38. Прадедова Е.В., Нумаева О.Д., Салеев Р.К. Редокс-процессы в биологических системах // Физиология растений. 2017. Т. 54. № 6. С. 433–445.
39. Davies K.J. Degradation of oxidized proteins by the 20S proteasome // Biochimie. 2001. V. 83 (3–4). P. 301–310. [https://doi.org/10.1016/s0300-9084\(01\)01250-0](https://doi.org/10.1016/s0300-9084(01)01250-0)
40. Rahal A., Kumar A., Singh V., Yadav B., Tiwari R., Chakraborty S., Dhama K. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay // Biomed. Res. Int. 2014. P. 761264. DOI: PMCID: PMC3920909 <https://doi.org/10.1155/2014/761264>
41. Rupani P.F., Embrandiri A., Ibrahim M.H., Ghole V., Lee C.T., Abbaspour M. Effects of different vermicompost extracts of palm oil mill effluent and palm-pressed fiber mixture on seed germination of mung bean and its relative toxicity // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2018. V. 25. № 36. P. 35805–35810. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1875-8>
42. Brunetti G., Soler-Rovira P., Matarrese F., Senesi N. Composition and structural characteristics of humified fractions during the co-composting process of spent mushroom substrate and wheat straw // J. Agric. Food Chem. 2009. V. 57 (22). P. 10859–10865. <https://doi.org/10.1021/jf903014f>
43. Pisarek I., Głowacki M., Czernia M. The impact of *Pleurotus ostreatus* on organic matter transformation processes // Water Sci. Technol. 2012. V. 66. № 12. P. 2666–2673. <https://doi.org/10.2166/wst.2012.502>
44. Qi Y., Zhu J., Fu Q., Hu H., Rong X., Huang Q. Characterization and Cu sorption properties of humic acid from the decomposition of rice straw // Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 2017. V. 24. № 30. P. 23744–23752. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9999-9>
45. Zhu H., Sheng K., Yan E., Qiao J., Lv F. Extraction, purification and antibacterial activities of a polysaccharide from spent mushroom substrate // Int. J. Biol. Macromol. 2012. V. 50 (3). P. 840–843. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.11.016>
46. Lou Z.M., Wang Z.X., Zhou X.X., Fu R.Q., Liu Y., Xu X.H. Compositional variation of spent mushroom substrate during cyclic utilization and its environmental impact // Huan Jing Ke Xue. 2016. V. 37 (1). P. 397–402.
47. Lou Z., Sun Y., Bian S., Ali Baig S., Hu B., Xu X. Nutrient conservation during spent mushroom compost application using spent mushroom substrate derived biochar // Chemosphere. 2017. V. 169. P. 23–31. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.11.044>
48. Bilbao-Sainz C., Chiou B.S., Williams T., Wood D., Du W.X., Sedej I., Ban Z., Rodov V., Poverenov E., Vinokur Y., McHugh T. Vitamin D-fortified chitosan films from mushroom waste // Carbohydr. Polym. 2017. V. 167. № 1. P. 97–104. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.03.010>
49. Pham M.T., Huang C.M., Kirschner R. The plant growth-promoting potential of the mesophilic wood-rot mushroom *Pleurotus pulmonarius* // J. Appl. Microbiol. 2019. V. 127. № 4. P. 1157–1171. <https://doi.org/10.1111/jam.14375>
50. Ramdani N., Hamou A., Lousdad A., Al-Douri Y. Physicochemical characterization of sewage sludge and green waste for agricultural utilization // Environ. Technol. 2015. V. 36 (9–12). P. 1594–1604. <https://doi.org/10.1080/09593330.2014.998716>
51. Ferrara G., Loffredo E., Senesi N. Aquatic humic substances inhibit clastogenic events in germinating seeds of herbaceous plants // J. Agric. Food Chem. 2001. V. 49. № 3. P. 1652–1657. <https://doi.org/10.1021/jf0011438>
52. De Hita D., Fuentes M., Fernández V., Zamarreño A.M., Olaetxea M., García-Mina J.M. Discriminating the short-term action of root and foliar application of humic acids on plant growth: Emerging role of jasmonic acid // Front Plant Sci. 2020. V. 28. № 11. P. 493. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00493>
53. Wasternack C. Action of jasmonates in plant stress responses and development -applied aspects // Biotechnol. Adv. 2014. V. 32 (1). P. 31–39.
54. Dar T.A., Uddin M., Khan M.M.A., Hakeem K.R., Jaleel H. Jasmonates counter plant stress: a review // Environ. Exp. Bot. 2015. V. 115. P. 49–57.
55. Samota M.K., Bhatt L., Garg N., Geat N. Defense induced by jasmonic acid: a review // Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci. 2017. V. 6 (5). P. 2467–2474.
56. Таланова В.В., Титов А.Ф., Репкина Н.С., Игнатенко А.А. Влияние метилжасмоната на экспрессию генов WCS и активность антиоксидантных ферментов при холодовой адаптации пшеницы // Докл. РАН. 2018. Т. 482. № 1. С. 101–104.
57. Ling T.F., Xuan W., Fan Y.R., Sun Y.G., Xu S., Huang B.K., Huang S.R., Shen W.B. The effect of exogenous glucose, fructose and NO donor sodium nitroprusside (SNP) on rice seed germination under salt stress // Zhi Wu Sheng Li Yu Fen Zi Sheng Wu Xue Xue Bao. 2005. V. 31. № 2. P. 205–212.
58. Sami F., Yusuf M., Faizan M., Faraz A., Hayat S. Role of sugars under abiotic stress // Plant Physiol. Biochem. 2016. V. 109. P. 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.09.005>
59. Zhao Y., Yang K.J., Li Z.T., Zhao C.J., Xu J.Y., Hu X., Shi X.X., Ma L.F. Alleviation of salt stress during maize seed germination by presoaking with exogenous sugar // Ying Yong Sheng Tai Xue Bao. 2015. V. 26 (9). P. 2735–2742.
60. Ghalehshahi H.G., Balalaie S., Aliahmadi A., Moghimi R. Synthesis of 4-N- $\alpha$ -coumaryl amino acids and investigation of their antioxidant, antimicrobial activities and fluorescence spectra // Amino Acids. 2018. V. 50 (10). P. 1461–1470. <https://doi.org/10.1007/s00726-018-2624-5>
61. Li R., He J., Xie H., Wang W., Bose S.K., Sun Y., Hu J., Yin H. Effects of chitosan nanoparticles on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) // Int. J. Biol. Macromol. 2019. V. 126. P. 91–100. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.118>
62. Colman S.L., Salcedo M.F., Mansilla A.Y., Iglesias M.J., Fiol D.F., Martín-Saldaña S., Alvarez V.A., Chevalier A.A., Casalagué C.A. Chitosan microparticles improve tomato seedling biomass and modulate hormonal, redox and defense pathways // Plant Physiol. Biochem. 2019. V. 143. P. 203–211. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.09.002>

63. Sharma I., Ching E., Saini S., Bhardwaj R., Pati P.K. Exogenous application of brassinosteroid offers tolerance to salinity by altering stress responses in rice variety Pusa Basmati-1 // *Plant Physiol. Biochem.* 2013. V. 69. P. 17–26.  
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.04.013>
64. Li Z., Li Y., Zhang Y., Cheng B., Peng Y., Zhang X., Ma X., Huang L., Yan Y. Indole-3-acetic acid modulates phytohormones and polyamines metabolism associated with the tolerance to water stress in white clover // *Plant Physiol. Biochem.* 2018. V. 129. P. 251–263.  
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.06.009>
65. Yu X., Zhang W., Zhang Y., Zhang X., Lang D., Zhang X. The roles of methyl jasmonate to stress in plant // *Funct. Plant Biol.* 2019. V. 46 (3). P. 197–212.  
<https://doi.org/10.1071/FP18106>
66. Ben Massoud M., Sakouhi L., Karmous I., Zhu Y., El Ferjani E., Sheehan D., Chaoui A. Protective role of exogenous phytohormones on redox status in pea seedlings under copper stress // *J. Plant Physiol.* 2018. V. 221. P. 51–61.  
<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2017.11.014>
67. Zhao P., Wang Y., Lin Z., Zhou J., Chai H., He Q., Li Y., Wang J. The alleviative effect of exogenous phytohormones on the growth, physiology and gene expression of *Tetraselmis cordiformis* under high ammonia-nitrogen stress // *Bioresour. Technol.* 2019. V. 282. P. 339–347.  
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.031>
68. Zhao M.G., Liu R.J., Chen L., Tian Q.Y., Zhang W.H. Glucose-induced inhibition of seed germination in *Lotus japonicus* is alleviated by nitric oxide and spermine // *J. Plant Physiol.* 2009. V. 166 (2). P. 213–218.  
<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2008.03.001>
69. To J.P., Reiter W.D., Gibson S.I. Mobilization of seed storage lipid by *Arabidopsis* seedlings is retarded in the presence of exogenous sugars // *BMC Plant Biol.* 2002. V. 2. P. 4. DOI: PMID: PMC113751  
<https://doi.org/10.1186/1471-2229-2-4>
70. Yuan K., Wysocka-Diller J. Phytohormone signalling pathways interact with sugars during seed germination and seedling development // *J. Exp. Bot.* 2006. V. 57 (12). P. 3359–3367.  
<https://doi.org/10.1093/jxb/erl096>
71. Zhu G., Ye N., Zhang J. Glucose-induced delay of seed germination in rice is mediated by the suppression of ABA catabolism rather than an enhancement of ABA biosynthesis // *Plant Cell Physiol.* 2009. V. 50 (3). P. 644–651.  
<https://doi.org/10.1093/pcp/pcp022>
72. Waldschmidt-Leitz E., Hochstrasser K. On the albumins of barley and wheat. VII. On seed proteins // *Hoppe Seylers. Z. Physiol. Chem.* 1961. V. 324. P. 243–249.  
<https://doi.org/10.1515/bchm2.1961.324.1.243>
73. Bancel E., Bonnot T., Davanture M., Alvarez D., Zivy M., Martre P., Déjean S., Ravel C. Proteomic data integration highlights central actors involved in einkorn (*Triticum monococcum* ssp. *monococcum*) grain filling in relation to grain storage protein composition // *Front Plant Sci.* 2019. V. 4. № 10. P. 832.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00832>
74. Watanabe H., Abe K., Emori Y., Hosoyama H., Arai S. Molecular cloning and gibberellin-induced expression of multiple cysteine proteinases of rice seeds (oryzains) // *J. Biol. Chem.* 1991. V. 266 (25). P. 16897–16902.
75. Kiyosaki T., Matsumoto I., Asakura T., Funaki J., Kuroda M., Misaka T., Arai S., Abe K. Gliadin, a gibberellin-inducible cysteine proteinase occurring in germinating seeds of wheat, *Triticum aestivum* L., specifically digests gliadin and is regulated by intrinsic cystatins // *FEBS J.* 2007. V. 274. № 8. P. 1908–1917.  
<https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2007.05749.x>
76. Szewińska J., Simińska J., Bielawski W. The roles of cysteine proteases and phytocystatins in development and germination of cereal seeds // *J. Plant Physiol.* 2016. V. 207. P. 10–21.  
<https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.09.008>

## Growth Indicators and Metabolism of Germinating Seeds of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Depending on the Dose of the Extract from Substrate after Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) Cultivation

S. S. Tarasov<sup>a, #</sup>, E. V. Mikhalev<sup>a</sup>, E. K. Krutova<sup>a</sup>, and I. A. Shesterkina<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Nizhny Novgorod State Agricultural Academy  
prosp. Gagarinf Avenue 97, Nizhny Novgorod 603022, Russia

<sup>#</sup>E-mail: tarasov\_ss@mail.ru

The work is devoted to the study of the effect of an extract based on the spent straw substrate of oyster mushroom (hereinafter extract) on growth processes, the level of lipid peroxidation (LPO), oxidative modification of proteins (OMP), the activity of thiol proteinase and the expression of its gene (CP). The stimulating effect of 10% extract and the inhibiting effect of 100% extract on the growth processes of germinating seeds and wheat seedlings are shown. There was an increase in LPO processes, thiol proteinase activity, and expression of the CP gene; the LPO level did not change. In seeds germinating in 100% extract, the content of LPO product did not differ from the control, the level of OMP was increased, the activity and expression of the CP gene was suppressed relative to the control.

**Key words:** plant growth and development regulators, organic fertilizers, seed germination, wheat, oxidative modification of proteins, lipid peroxidation, gene expression, thiol proteinases.