П. С. Прудников, снс, к. б. н.,
Д. А. Кривушина, мнс, аспирант,
О. Д. Голяева, внс, к. с.-х. н.

ФГБНУ ВНИИ селекции плодовых культур, Орловская область, п/о Жилина
prudnicov@inbox.ru

УДК 581.1:581.19:58.02

DOI 10.31676/2073-4948-2018-53-176-182

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕНА НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В УСЛОВИЯХ ГИПЕРТЕРМИИ И НЕКОТОРЫЕ ЗВЕНЬЯ ПРОДУКЦИОННОГО ПРОЦЕССА СМОРОДИНЫ КРАСНОЙ

Цель исследований состояла в изучении действия селена на активность компонентов антиоксидантной системы в условиях гипертермии, а также влияния данного микроэлемента на основные звенья продукционного процесса растений смородины красной. Показано, что микроэлемент селен в моделируемых условиях гипертермического воздействия на листья смородины красной активизирует в 2,2 раза работу антиоксидантного фермента каталазы. За счет этого отмечается незначительное по сравнению с контролем увеличение в тканях листа активных форм кислорода и, как следствие, происходит слабое развитие перекисного повреждения мембранных липидов. В варианте с селеном под действием гипертермии интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) возросла на 29,3% против 62,3 в контроле. В полевых условиях экзогенное обогащение растений селеном на 50,0% способствует увеличению содержания фотосинтезирующих пигментов и снижает трату ассимилянтов за счет замедления интенсивности дыхания. Растения в варианте с селеном на 19,2% увеличивали среднюю массу ягод в плодовой кисти и на 17,0% их количество в ней. Обработка смородины красной селеном способствовала увеличению устойчивости растений к гипертермии и положительно влияла на компоненты продукционного процесса.

Ключевые слова: антиоксиданты, фотосинтез, дыхание, перекисное окисление липидов, гипертермия, смородина красная.

Summary. The aim of the study was to study the effect of selenium on the activity of the components of the antioxidant system under hyperthermia, as well as the effect of this microelement on the main components in the process of producing red currant plants. It is shown that the selenium microelement under simulated conditions of hyperthermia action on the leaves of red currant activates the work of the antioxidant catalase enzyme by 2,2 times. In connection with this, there is an insignificant increase in the active forms of oxygen in leaf tissues and, as a consequence, a slight development of peroxide damage to membrane lipids in comparison with the control. In the variant with selenium under the influence of hyperthermia, the intensity of LPO increased by 29,3% against 62,3% in the control. In the field conditions, the exogenous plant enrichment with selenium contributes to a 50,0% increase in the content of photosynthetic pigments and makes slower the expenses of organic substances due to respiration intensity lowering. In the variant with selenium, the plants increased the average berry weight in the productive cluster by 19.2%, and by 17,0% - the

number of berries in it. The selenium treatment of red currants contributed to the increase in plant resistance to hyperthermia and positively influenced on the components of the production process.

Keywords: antioxidants, photosynthesis, respiration, lipid peroxidation, hyperthermia, red currant.

Растительные организмы в период вегетации часто испытывают действие неблагоприятных факторов внешней среды. В связи с этим возникает необходимость искать пути увеличения резистентности растений на уровне процессов, участвующих в адаптации. В последние годы особое внимание уделяется функционированию антиоксидантной системы защиты, от работы которой во многом зависит устойчивость растений к факторам стресса [1]. Особый интерес представляет обогащение растений микроэлементами, входящими в состав ферментов антиоксидантной системы: медь, цинк, селен, железо и т. д. Известно, что селен входит в состав глутатионпероксидазы, принимающей участие в поддержании перекисного гомеостаза, и тем самым является одним из компонентов антиоксидантной системы [2]. Вместе с тем протекторные свойства селена в растениях изучены недостаточно, в то время как результаты многочисленных исследований по влиянию селена на животные организмы и человека уже привели к использованию препаратов селена в медицине. Большинство работ в растениеводстве посвящено распределению селена в растении [3]. Знания о действии селена на рост и продуктивность растений весьма противоречивы [4, 5]. Наряду с этим в литературе имеются единичные сведения о способности селена усиливать адаптационный потенциал однолетних растений [4, 6, 7]. Нет сведений о влиянии селена на формирование устойчивости плодовых и ягодных растений в условиях действия гипертермии, а также его участия в регуляции основных физиологических процессов. Выяснение механизмов термоустойчивости может быть отнесено к числу основных направлений современной физиологии растений.

Цель исследований состояла в изучении действия селена на активность компонентов антиоксидантной системы в условиях гипертермии, а также влияния данного микроэлемента на основные звенья продукционного процесса растений смородины красной.

Для изучения влияния селена проводили некорневую обработку растений смородины красной (сорт Дана, селекции ВНИИСПК) раствором селенита натрия в концентрации $5,78 \cdot 10^{-5} \text{M}$ спустя две недели после цветения. Всего было три обработки, каждая из которых повторялась через 10 дней. Контролем служила некорневая обработка растений водой. Для оценки протекторного действия селена изолированные листья растений помещали черешком в стаканы с водой и подвергали воздействию высокой температуры 50°C . Контроль — изолированные листья растений в емкости с водой при нормальных условиях (н. у.). Время экспозиции 1 ч.

О влиянии селена на работу антиоксидантной системы после окончания действия гипертермии судили по количеству накопления в листьях пролина, определение которого проводилось с помощью нингидринового реактива [8] и активности каталазы – на основе учета количества кислорода, выделяющегося в результате разложения перекиси водорода ферментом [9]. Анализ продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) — малонового диальдегида (МДА) — оценивали по реакции взаимодействия с тиобарбитуровой кислотой [10]. Содержание активных форм кислорода устанавливали на примере определения количества перекиси водорода на основе качественной реакции с тетрахлористым титаном [11]. Для изучения влияния селена на элементы продукционного процесса определяли количественное содержание фотосинтезирующих пигментов [12], фотохимическую активность (ФХА) изолированных хлоропластов [13], интенсивность дыхания [9], содержание суммы сахаров в ягодах [14], а также количество ягод в плодовой кисти и массу ягод в кисти. Анализы проводили в 5-кратной повторности. Достоверность результатов оценивали по стандартным методикам с использованием программ EXCEL. В таблицах представлены средние данные за два года исследований (2016–2017 гг.)

В результате исследований выявлено, что при действии гипертермии 50 °С в течение 1 ч в листьях контрольных растений происходило значительное развитие перекисного окисления мембранных липидов, о котором судили по количеству малонового диальдегида. Так, у контрольных растений под действием высокой температуры уровень содержания МДА увеличился на 62,3% по сравнению с листьями, находящимися при нормальных условиях, что свидетельствует о значительном структурно-функциональном повреждении клеток (табл. 1).

Таблица 1. Влияние селена на содержание в листьях смородины красной малонового диальдегида и перекиси водорода при действии гипертермии

Вариант	Содержание МДА, мкМоль/г		Содержание H_2O_2 , мкМоль/г	
	контроль	селен	контроль	селен
Нормальные условия (н.у.)	13,01	14,28	1,45	1,40
Гипертермия	21,12	18,46	2,55	1,83
НСР _{0,05}	0,93	1,07	0,72	0,53

Обработка растений растворами селенита натрия на фоне действия стрессора оказывала протекторный эффект и снижала уровень липопероксидации в тканях. Так, при обогащении растений селеном количество МДА возросло на 29,3%.

Интенсификация перекисного окисления липидов мембран под воздействием гипертермии связана с увеличением образования активных форм кислорода, которые включают свободно-радикальные процессы. В контрольных растениях при действии высокой температуры количество перекиси водорода в тканях листа увеличилось на 75,9% по сравнению с контролем при н. у. (табл. 1). В растениях, обогащенных селеном, под влиянием стресса уровень H_2O_2 увеличился на 31,0%, что не составляло существенного отличия от контроля по селену при н. у. Отсутствие достоверного увеличения в содержании перекиси водорода в варианте с селеном под действием гипертермии связано с активацией ферментов, утилизирующих H_2O_2 . Согласно нашим исследованиям в варианте с микроэлементом в условиях действия стресса отмечалось значительное (в 2,2 раза по сравнению с н. у.) увеличение активности антиоксидантного фермента каталазы, расщепляющей перекись до воды и кислорода (табл. 2). Кроме того, селен, согласно литературным данным, способен увеличивать как биосинтез, так и интенсификацию пероксидаз, являющихся антиоксидантными ферментами. Согласно исследованиям, на картофеле селенит натрия увеличивал активность пероксидазы под воздействием низких температур [7]. Кроме того, известно, что в состав пероксидаз входит изофермент глутатионпероксидаза, которая в своем составе содержит четыре атома селена [2].

Таблица 2. Влияние селена на компоненты антиоксидантной системы в листьях смородины красной при действии гипертермии.

Вариант	Активность каталазы, мл O_2 /мин		Содержание пролина, мг/кг	
	контроль	селен	контроль	селен
Нормальные условия (н. у.)	5,28	5,42	20,74	20,70
Гипертермия	7,60	12,00	29,48	24,43
НСР _{0,05}	0,94	1,48	1,53	2,18

В контрольных растениях под действием стресса недостаточная активность каталазы на фоне высокого образования перекиси водорода и интенсификации ПОЛ способствовала значительному, на 42,0% увеличению содержания в листьях свободного пролина (табл. 2). Известно, что пролин накапливается в клетках и тканях растений под воздействием стресса для нейтрализации активных форм кислорода. Одна из причин его накопления — недостаточная активность ферментов антиоксидантной системы [15]. Действительно, в варианте с селеном под действием гипертермии на фоне высокой активности каталазы, несущественного увеличения образования перекиси водорода и меньшей, чем в контроле, интенсивности ПОЛ, уровень пролина повысился на 18,0% по сравнению с н. у.

При исследовании фотосинтетической деятельности растений смородины красной показано, что уровень хлорофилла и каротиноидов в листьях под влиянием селена значительно возрастал. При обогащении селеном количество зеленого пигмента в листьях растений увеличилось на 50,0%, а каротиноидов на 48,0%. Увеличение хлорофилла под влиянием обработок, возможно, связано с повышением доли каротиноидов в светособирающих комплексах фотосистем (ФС I и II). Известно, что каротиноиды кроме светособирающей функции, предохраняют зеленый пигмент от фотоокисления [16]. Вместе с тем, не исключено и влияние селена на увеличение активности биосинтеза хлорофилла.

Таблица 3. Влияние селена на содержание в листьях красной смородины пигментов, интенсивность ФХА изолированных хлоропластов и процесс дыхания.

Вариант	Пигменты, мг/г		ФХА хлоропластов, мкМоль $K_3[Fe(CN)_6]/хл.ч$	Интенсивность дыхания, мл $CO_2 / г.ч$
	хлорофилл	каротиноиды		
Контроль	1,38	0,50	18,82	1,05
Селен	2,07	0,74	16,70	0,46
НСП _{0,05}	0,17	0,10	1,09	0,26

При анализе потенциальных возможностей фотосинтеза обнаружено, что обработка селеном снижала скорость световых реакций, о которых судили по фотосинтетической активности изолированных хлоропластов. В варианте с селеном скорость реакции Хилла на 12,7% была ниже контроля (табл. 3). Снижение световых реакций фотосинтеза вероятно связано как с более высоким уровнем пигментов, так и с низкой (в 2,3 раза против контроля) интенсивностью дыхания, а следовательно, малой тратой сухого вещества.

Модификация селеном адаптивности, фотосинтетической деятельности и дыхания вызвала изменения и в учитываемых показателях плодовой кисти (табл. 4). Под влиянием селенита натрия при повышении на 17,0% количества ягод в плодовой кисти увеличилась и ее масса на 19,2%. Вместе с тем селен не оказал влияния на содержание сахаров в ягодах растений.

Таблица 4. Влияние селена на показатели плодовой кисти и содержание суммы сахаров в ягодах смородины красной.

Вариант	Масса кисти, г	Кол-во ягод в кисти, шт.	Сумма сахаров, мг/г
Контроль	5,25	12,48	11,99
Na_2SeO_3	6,26	14,16	12,14
НСП _{0,05}	0,54	0,99	0,31

Таким образом, показано, что под влиянием обработок смородины красной антиоксидантом селеном в условиях действия гипертермии за счет интенсификации микроэлементом компонентов антиоксидантной системы происходит незначительное по сравнению с контролем увеличение в тканях листа активных форм кислорода и, как следствие, отмечается слабое развитие перекисного повреждения мембранных липидов. В полевых условиях экзогенное обогащение растений селеном способствует увеличению содержания основных фотосинтезирующих пигментов и снижает трату ассимилянтов за счет замедления интенсивности дыхания. В связи с этим растения в варианте с селеном увеличивали как среднюю массу плодовой кисти, так и количество ягод в ней.

Список использованной литературы

1. Лукаткин А. С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. — Саранск: Мордов. ун-та, 2002. — 208 с.
2. Takahashi K., Avissar N., Whitan J., Cohen H. Purification and characterization of human plasma glutathione peroxidase: a selenoglycoprotein distinct from the known cellular enzyme // Arch. Biochem. Biophys., 1987. — Vol. 256. — P. 677-686.
3. Zaed A.M., Lytle C.M., Terry N. Accumulation and volatilization of different chemical species of selenium by plants // Plant, 1998. — Vol. 206. — P. 284-292.
4. Вихрева В.А. Влияние селена на рост, развитие и адаптивный потенциал козлятника восточного (*Galega orientalis*): автореф. дисс. ... — М.: МСХА, 2001. — 28 с.
5. Солдатов С.А. Влияние селената натрия на рост, развитие и проявление пола у двудомных растений конопли (*Cannabis sativa* L.): автореф. дисс. ... к. б. наук. — М., 2005. — 28 с.
6. Кузнецов В.С., Холодова В.П., Кузнецов В.В., Ягодин Б.А. Селен регулирует водный статус растений при засухе // Доклады Академии Наук, 2003. — Т. 390. — №5. — С. 713-715.
7. Прудников П.С. Влияние селена на физиолого-биохимические процессы при адаптации растений картофеля к гипотермии: автореф. дисс. ... к. б. наук. — М., 2007. — 28 с.
8. Bates L. S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies // Plant and Soil, 1973. — Vol. 39. — P. 205-207.
9. Третьяков Н.Н. Практикум по физиологии растений. — М.: Агропромиздат, 1990. — 271 с.
10. Стальная, И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / В кн.: В.Н. Ореховича (ред.) Современные методы в биохимии. — М.: Медицина, 1977. — С. 66-68.
11. Kumar G.N.M., Knowles N.R. Changes in lipid peroxidation and lipolytic and free radical scavenging enzyme activities during aging and sprouting of potato (*Solanum tuberosum*) seed-tubers // Plant. Physiol, 1993. — Vol. 102. — P. 115-124.
12. Гавриленко В.А., Ладыгина М.Е., Хандобина Л.М. Большой практикум по физиологии растений. Фотосинтез. Дыхание / Под ред. Рубина Б.А. — М.: Высшая школа, 1975. — 392 с.

13. Зеленский М.И., Клементьева И.И. Потенциометрический метод исследования фотохимической активности хлоропластов // Методы комплексного изучения фотосинтеза / Под ред. Быкова О.Д., — Л.: ВИР, 1969. — С. 127-141.
14. Туркина М.В., Соколова С.В. Изучение мембранного транспорта сахарозы в растительной ткани // Физиол. раст. 1972. — Т.19. — Вып. 5. — С. 912-919.
15. Alia, Saradhi, P.P., Mohanty, P. Involvement of proline in protecting thylakoid membranes against free radical-induced photodamage // J. Photochem. Photobiol., 1997. — Vol. 38. — P. 253-257.
16. Карнаухов В.Н. Биологические функции каротиноидов. — М.: Наука, 1988. — 240 с.

P.S. Prudnikov, D.A. Krivushina

Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding, Orel region, p / o Zilina

**SELENIUM EFFECT ON ANTIOXIDANT SYSTEM ACTIVITY UNDER
HYPERTHERMIA AND SOME COMPONENTS OF THE RED CURRANT
PRODUCTION PROCESS**