

## Влияние наночастиц селена и селенита натрия на активность глутатионпероксидазы в проростках редиса

**Курнушко А. С.<sup>А\*</sup>, Азизбекян С. Г.<sup>Б</sup>, Молчан О. В.<sup>А</sup>**

<sup>А</sup> Институт экспериментальной ботаники имени В.Ф.Купревича Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь. \*E-mail: annkurnushko@mail.ru

<sup>Б</sup> Институт физико-органической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

В последнее время наночастицы (NP<sub>S</sub>) все чаще используются для реализации эффективных стратегий улучшения роста растений, поскольку они обладают рядом преимуществ по сравнению с традиционными материалами. Особый интерес представляют NP<sub>S</sub>, содержащие селен (Se) [1-3]. Se имеет один из самых узких диапазонов между дефицитом и токсичностью. В небольших количествах Se действует на растения как антиоксидант, снижая накопление активных форм кислорода (АФК), стимулирует развитие, повышая устойчивость к окислительному стрессу, качество и урожайность. Глутатионпероксидаза (GPX, EC 1.11.1.9), один из ключевых элементов антиоксидантной системы, играет важную роль в снижении уровня АФК во многих организмах. Растительные GPXs - мономерные белки, которые связаны с путями детоксикации тиоредоксина (Trx) и глутатиона (GSH). Есть предположение, что они более эффективно используют Trx, чем GSH, для снижения уровня H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и органических пероксидов [4]. Анализ субклеточной локализации у различных видов растений показал, присутствие GPXs в хлоропластах, митохондриях, цитоплазматической, ядерной и внеклеточной областях [5]. Растительные GPXs в системе антиоксидантной защиты поддерживают гомеостаз H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и нормализуют реакцию растений на абиотический стресс [6, 7]. Появилось несколько работ, в которых было показано, что применение Se NP<sub>S</sub> повышает активность GPXs у различных растений [8, 9]. Однако эффекты зависели от режима обработки, характеристик NP<sub>S</sub> и вида растения. Следует также отметить, что во многих живых организмах охарактеризованы Se-зависимые GPXs. Однако их функционирование в клетках растений остается дискуссионным вопросом. Также мало изучено влияние Se в наноформе на активность GPXs. Целью данной работы была сравнительная оценка влияния NP<sub>S</sub> Se и селенита натрия при внекорневой обработке на активность GPX в проростках редиса.

Объектом исследования были проростки редиса (*Raphanus sativus* L.) сорта Дайкон. Растения выращивали 7 сут на гидропонной установке. На 5 и 6 сут проростки обрабатывали (внекорневая обработка) суспензией наночастиц селена или раствором селенита натрия в концентрации от 1 до 1000 мг/л. Для определения активности GPX растительную ткань гомогенизировали в Tris-HCl буфере (pH 7.5) при 4°C и центрифугировали при

10000g. Активность измеряли согласно [10] с небольшими изменениями. Для ферментативной реакции смешивали 400 мкл 0,1 мМ GSH, 200 мкл 1,3 мМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 200 мкл натриевого буфера (0.067М, pH 7.5) и 200 мкл супернатанта. Реакционную смесь инкубировали в течение 10 мин при 25°C. Реакцию останавливали добавлением 1 мл 1% ТХУ и центрифугировали при 3100 g в течение 10 мин при 4°C. Для оценки активности неферментативного превращения GSH ТХУ добавляли до супернатанта. Далее смешивали 480 мкл полученного супернатанта (после ферментативной и неферментативной реакции), 2,2 мл 0,32 М Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> и 320 мкл 1мМ 5,5-дитио-бис-2-нитробензойной кислоты, инкубировали в течение 5 мин и измеряли оптическую плотность поглощения при 412 нм с помощью спектрофотометра (СФ-2000, Россия). Содержание белка определяли методом Брэдфорда с использованием БСА в качестве стандарта [11]. Размеры наночастиц (гидродинамические радиусы) определяли с помощью метода динамического рассеяния света на лазерном анализаторе Zetasizer Nano ZSP (Malvern, Великобритания) при разбавлении растворов деионизованной водой в различных соотношениях – от 1 : 10 до 1 : 1000. Массовые доли селена в растворах исследуемых образцов определяли на атомно-эмиссионном спектрометре с индуктивно-связанной плазмой VISTA PRO (Varian, США). Статистическую обработку данных выполняли с использованием табличного процессора MS Excel. Эксперименты проводили в трехкратной повторности. Для оценки достоверности различий между экспериментальными вариантами применяли однофакторный дисперсионный анализ. Различия показателей считали достоверными при P < 0,05 [12Error: Reference source not found].

В исследованиях использован наноматериал, синтезированный в виде коллоида на основе нерастворимых наночастиц аморфного Se<sup>0</sup> в виде нанокompозита с биогенным полимером поливинилпирролидон, что обеспечивает безопасность применения (IV класс, вещества малоопасные) в сравнении с высокотоксичным селенитом натрия [13,14].

На рисунке 1 представлены гистограммы распределения размеров частиц Se. Видно, что тестируемый образец характеризуется достаточно высокой полидисперсностью (15 -70 нм). Средний размер NP<sub>S</sub> - около 38 нм.

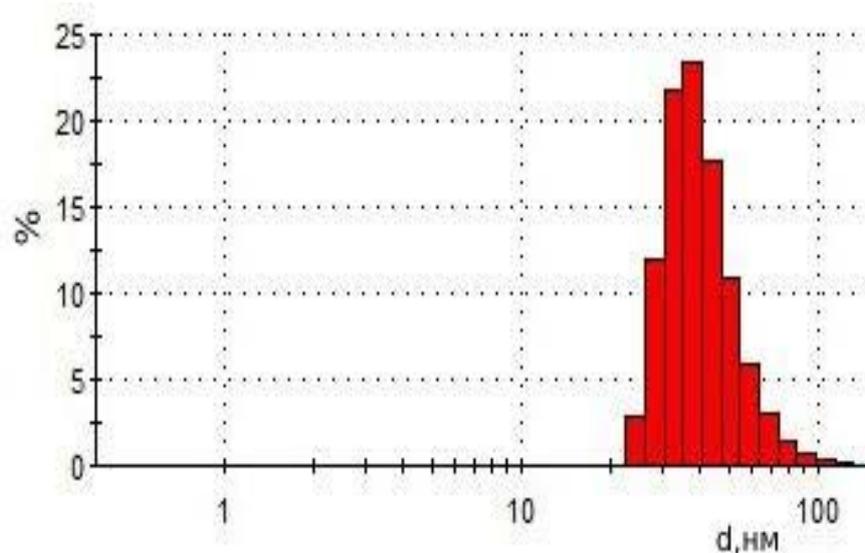


Рис. 1. Размеры Se NPs

Определена активность GPX в разных частях 7-дневных проростков редиса (семядольных листьях, стеблях и корнях) после внекорневой обработки Se NPs и селенитом натрия в широком диапазоне концентраций (рис. 2). Достоверного эффекта препаратов Se на активность фермента в корнях растений обнаружено не было. При этом, в семядольных листьях и стеблях активность GPX повышалась на 25-35% в результате применения Se NPs в концентрациях 1 и 10 мг/л (листья), и 10, 100 и 1000 мг/л (стебли). Обработка раствором селенита натрия не приводила к активации фермента в листьях, а, напротив, вызывала выраженное снижение активности при 100 и 1000 мг/л. В то же время, GPX в стебле стимулировалась при всех используемых концентрациях селенита натрия. Кроме того, активность GPX в стеблях вообще была значительно выше. Это может быть связано с активным клеточным делением и высоким содержанием АФК. Известно, что глутатион регулирует процессы деления, дифференцировки клеток и переход от фазы  $G_1$  к S фазе клеточного цикла [15]. Таким образом, мы можем предположить активную роль селено-зависимой GPX в этих процессах в проростках редиса и стимулирующее действие Se NPs на ее активность.

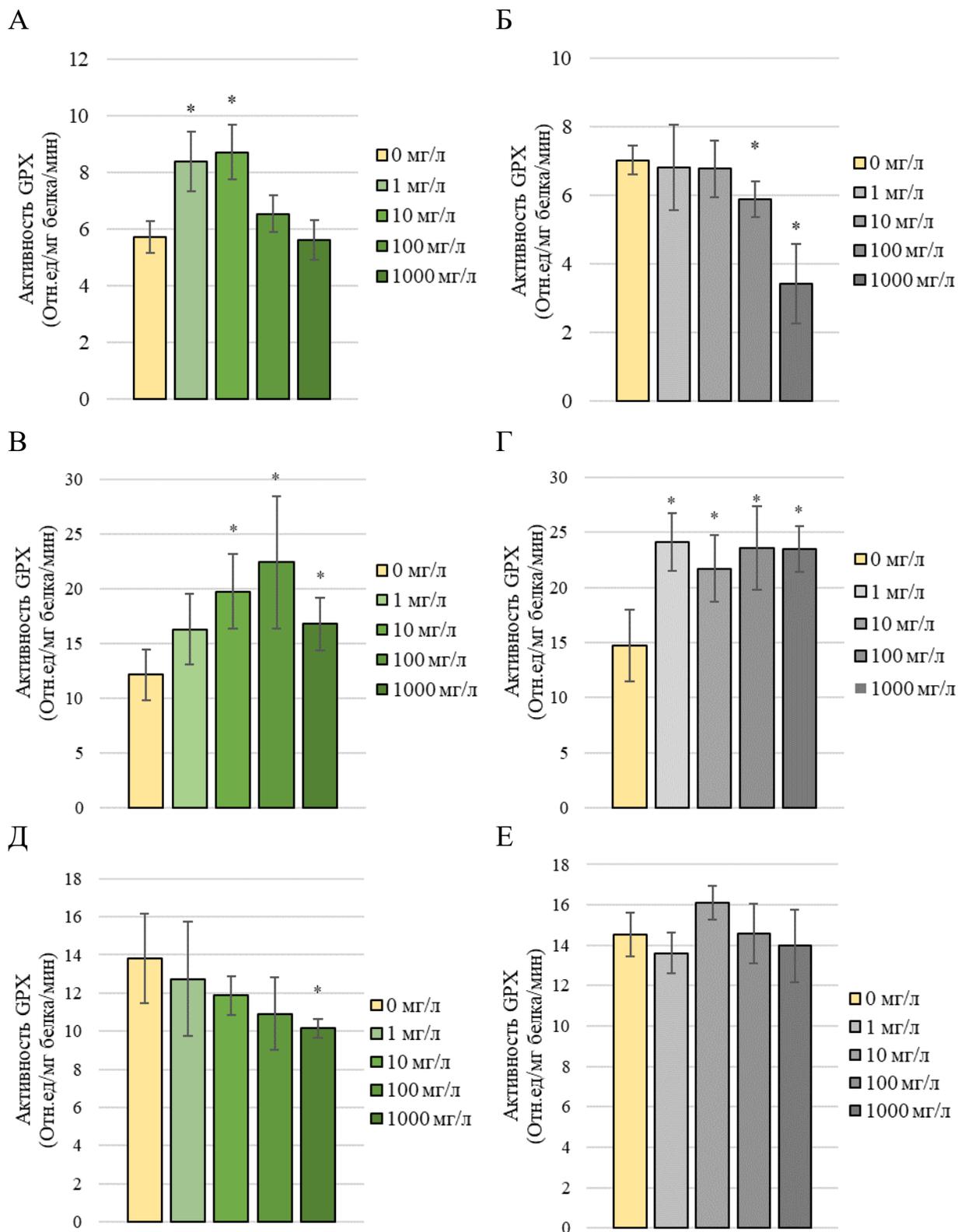


Рис. 2. Влияние наночастиц Se NPs (а,в,д) и селенита натрия (б,г,е) на активность GRX в семядольных листьях (а,б), стеблях (в,г) и корнях (д,е) 7-дневных проростков редиса. Данные представлены в виде средних значений со стандартным отклонением, \* – достоверные отличия от контроля ( $p < 0,05$ )

Полученные результаты согласуются с данными других авторов, показавших, что обработка семян редиса нанокompозитами Se на основе арабиногалактана, крахмала и каррагинана способствовала достоверному росту активности GPX в побеге и корне 5-дневных проростков [8]. Внесение Se NPs в субстрат вызывало стимуляцию фермента в листьях томата [8]. В то же время применение Se NPs не приводило к повышению GPX активности в плодах перца *Capsicum annuum* L. Напротив, активность снижалась по сравнению с контролем при использовании частиц в концентрациях от 1 до 45 мг/л [16]. Различия в действии Se NPs на активность GPX, скорее всего, объясняются особенностями характеристик наноматериалов, режимов обработки, видов и физиологического состояния растений.

Таким образом, было показано, что после внекорневой обработки проростков редиса наночастицами селена повышается активность GPX в семядольных листьях и стеблях. Селенит натрия оказывал стимулирующее действие на GPX только в стебле, при этом высокие концентрации снижали активность фермента в листьях.

### **Библиографические ссылки**

1. Selenium nanoparticles induce growth and physiological tolerance of wastewater-stressed carrot plants / A. I. El-Batal [et al.] // *Biologia*. – 2023. – Vol. 78, N 9. – P. 2339–2355.
2. Green synthesis of Se nanoparticles and its effect on salt tolerance of barley plants / G. Habibi, Y. Aleyasin // *Int. J. Nano Dimens.* – 2020. – Vol. 11, N 2. – P. 145–157.
3. Seed priming with the selenium nanoparticles maintains the redox status in the water stressed tomato plants by modulating the antioxidant defense enzymes / M. Ishtiaq [et al.] // *Plants*. – 2023. – Vol 12, N 7. – P. 1556.
4. Glutathione peroxidases in plants: innumerable role in abiotic stress tolerance and plant development / Madhu [et al.] // *Journal of Plant Growth Regulation*. – 2023. – Vol. 42, N 2. – P. 598–613.
5. Plant glutathione peroxidases: emerging role of the antioxidant enzymes in plant development and stress responses / K. Bela [et al.] // *Journal of Plant Physiology*. – 2015. – Vol. 176. – P. 192–201.
6. Genomewide characterization of glutathione peroxidase (GPX) gene family in rapeseed (*Brassica napus* L.) revealed their role in multiple abiotic stress response and hormone signaling / W. Li [et al.] // *Antioxidants*. – 2021. – V. 10, N 9. – P. 1481.
7. Comprehensive identification of glutathione peroxidase (GPX) gene family in response to abiotic stress in pepper (*Capsicum annuum* L.) / W. Wang [et al.] // *Gene*. – 2023. – Vol. 881. – P. 147625.
8. Нурминский В. Н. [и др.] Ростостимулирующая активность нанокompозитов селена в природных полимерных матрицах при прорастании семян культурных растений // Доклады Российской академии наук. Науки о жизни. – 2020. – Т. 495. – №. 1. – С. 607–611.
9. Impact of selenium and copper nanoparticles on yield, antioxidant system, and fruit quality of tomato plants / H. Hernandez-Hernandez [et al.] // *Plants*. – 2019. – Vol. 8, N 10. – P. 355.

10. The application of selenium and copper nanoparticles modifies the biochemical responses of tomato plants under stress by *Alternaria solani* / T. Quiterio-Gutierrez [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2019. – Vol. 20, N 8. – P. 1950.
11. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M. M. Bradford // Analytical biochemistry. – 1976. – Vol. 72, N 1-2. – P. 248–254.
12. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика / П. Ф. Рокицкий. – Минск: Выш. шк., 1973. – 320 с.
13. Влияние солей и наночастиц селена и кремния на рост мицелия *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc. и *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. и прорастание семян злаковых культур / А. С. Курнушко [др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2023. – Т. 68, № 4. – С. 332–344.
14. Межгосударственный стандарт. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. – М.: Стандартинформ, 2007. – 7 с.
15. Cell division and turgor-driven stem elongation in juvenile plants: a synthesis / U. Kutschera, K. J. Niklas // Plant Science. – 2013. – Vol. 207. – P. 45–56.
16. Selenium nanoparticles improve quality, bioactive compounds and enzymatic activity in jalapeno pepper fruits / M. A. Sarinana-Navarrete [et al.] // Agronomy. – 2023. – Vol. 13, N 3. – P. 652.

### **Анализ участия пероксида водорода в системном изменении содержания фитогормонов при распространении переменного потенциала**

**Ладейнова М. М.<sup>A\*</sup>, Кузнецова Д. В.<sup>A</sup>, Мудрилов М. А.<sup>A</sup>,  
Печёрина А. А.<sup>A</sup>, Воденеев В. А.<sup>A</sup>**

<sup>A</sup> Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского, Институт биологии и биомедицины, кафедра биофизики, Нижний Новгород, Россия.

\*E-mail: ladeynova.m@yandex.ru

В ответ на действие неблагоприятных факторов окружающей среды в растениях происходит генерация и передача стрессовых сигналов, которые обеспечивают скоординированные изменения физиологических процессов. Локальные стимулы вызывают распространение дистанционных сигналов и системные изменения содержания фитогормонов. Актуальным вопросом являются механизмы индукции системных изменений содержания фитогормонов. Предполагается участие активных форм кислорода (АФК) и электрических сигналов, в частности переменного потенциала (ВП), в индукции биосинтеза гормонов в нераздражённых частях растения при локальной стимуляции. Электрические и АФК-сигналы, вероятно, связаны между собой, и их взаимодействие лежит в основе специфических механизмов инициации системного биосинтеза фитогормонов. Таким образом, целью данной работы является анализ участия пероксида водорода