

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕКТИВНОГО СВЕТА НА УСТОЙЧИВОСТЬ *MELILOTUS ALBUS* К СЕЛЕНУ *IN VITRO*

И.Ф. Головацкая, Т.В. Лошкарева, Е.В. Бойко, Н.И. Лаптев

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», Томск, Россия, golovatskaya.irina@mail.ru

Аннотация. Показаны различия морфофизиологических параметров проростков *Melilotus albus*, выращенных *in vitro* на среде МС со 100 мкМ селенитом натрия под белым, синим, красным и зеленым светом. Действие селена вызывало окислительный стресс, величина которого зависела от условий освещения. Совместное действие красного света и селена увеличивало интенсивность перекисного окисления липидов, возможно, в связи с активным накоплением элемента в проростках.

Ключевые слова: *Melilotus albus*, фотосинтетические пигменты, пролин, перекисное окисление липидов, селен

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-229-232

Одним из важных минеральных элементов для жизнедеятельности животных и человека является селен, поскольку его дефицит обуславливает нарушения, прежде всего, деятельности иммунной системы и повышает риск возникновения сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний. Поступление данного элемента в человеческий организм происходит в основном за счет растений, аккумулирующих селен из почвы. Селен имеет значение и для растений, поскольку оказывает стимулирующее действие на рост, устойчивость к факторам окружающей среды, вызывающих окислительный стресс, и патогенам [Блинохватов и др., 2001]. Исторически сложилось так, что большинство растений не накапливают селен, поэтому существует интерес к изучению механизмов влияния селена на развитие и метаболизм растений. Особенно интересны растения-аккумуляторы селена.

Неотъемлемым фактором окружающей среды является свет, интенсивность и качество которого зависят от структуры и плотности фитоценозов. Еще Н.П. Воскресенской [1965], а в последующем и другими авторами [Карначук, Головацкая, 1998] показано, что свет разного спектрального состава регулирует рост и метаболизм растительных организмов. Имеются единичные работы по влиянию селективного света на накопление селена и продуктов первичного и вторичного обмена [Головацкая и др., 2013]. Не выяснены механизмы регуляции светом устойчивости растений к селену.

В связи с этим целью наших исследований было изучение зависимости устойчивости растений *Melilotus albus* к селену от действия света разного спектрального состава в отсутствие его симбионтов.

Объектом данного исследования служило растение-концентратор селена донник белый (*Melilotus albus*), который в природе живет с симбионтом *Sinorhizobium meliloti*. Однако культивирование растений в стерильных условиях предотвращало взаимодействие с симбионтами, поэтому характерное свойство накопление селена, а, следовательно, и устойчивость к нему, вероятно, были снижены.

Стерилизацию семян проводили смесью, содержащей 0.1% H_2O_2 в 96% растворе этилового спирта. В связи с твердой оболочкой семян их дополнительно скарифицировали. Стерильные семена *M. albus* культивировали на жидкой безгормональной 50% питательной среде Мурасиге-Скуга (50% МС) в темноте и на белом, красном (КС), синем (СС) и зеленом (ЗС) свету под люминесцентными лампами фирмы «Philips» (Нидерланды) с интенсивностью светового потока 120 мкмоль

фотонов/м²с. Для изучения устойчивости растений донника к селену проростки выращивали с добавлением селенита натрия («Sigma», США) в концентрации 100 мкМ (опыт) в течение 7-ми суток. Контролем служила среда 50% МС, не содержащая селена. Для обработки растений использовали селенит натрия, что связано с его большей эффективностью встраивания в органические соединения по сравнению с селенатом натрия. Селенит натрия добавляли в питательную среду после ее автоклавирования. В конце эксперимента определяли ростовые показатели, интенсивность перекисного окисления, содержание фотосинтетических пигментов и пролина.

Количественное определение фотосинтетических пигментов хлорофилла *a* (Хла), хлорофилла *b* (Хлб) и каротиноидов основано на их способности поглощать лучи определенной длины волны. Оптическую плотность спиртовых вытяжек из семядолей измеряли при различных длинах волн (720, 664, 648, 470 нм) с помощью спектрофотометра (Genesys 10S UV-Vis Thermo Electron, Германия). Для расчета содержания пигментов в семядолях использовали формулы [Lichtenthaler, 1987] с учетом их сырой массы. Содержание пролина в проростках *M. albus* определяли по реакции с нингидрином в кислой среде с образованием окрашенного продукта и оптической плотности растворов при длине волны 520 нм [Bates et al., 1973]. В качестве теста на интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) использовали уровень малонового диальдегида (МДА), образующегося в клетках при деградации полиненасыщенных жирных кислот с помощью АФК. Для этого использовали метод, основанный на способности МДА реагировать с тиобарбитуровой кислотой, образуя окрашенный комплекс с максимальной оптической плотностью при 532 нм [Heath, Parker, 1968]. Ростовые показатели 7-дневных проростков *M. albus* определяли на фотографиях, сделанных с помощью видеокамеры, в программе Moticom 2300.

В результате, исследования особенностей роста проростков донника белого на свету разного спектрального состава показали, что при одинаковой интенсивности потока фотонов белый свет с широким диапазоном спектра был эффективней в регуляции фотоморфогенеза, чем отдельные участки спектра электромагнитного излучения: формировалась большая площадь поверхности семядоли, и сильнее тормозился рост гипокотилия. По эффективности качества света в стимуляции роста семядоли участки спектра расположили в следующем порядке: белый свет>синий свет>зеленый свет=красный свет, тогда как в ингибировании роста гипокотилия: белый свет=синий свет>зеленый свет=красный свет. Особенности действия белого света, вероятно, связаны с его энергетической ролью, спектральной спецификой фотосинтетических пигментов, а также с активацией большего числа регуляторных фоторецепторов. Тогда как селективный свет активировал только отдельные фотосенсоры. Так, красный свет поглощается преимущественно фитохромами, а синий свет – криптохромами, на белом свету активны те, и другие пигменты. ЗС оказывает неоднозначное действие: частично активировывает фитохром и инактивирует криптохром [Головацкая, Карначук, 2015].

Действие 100 мкМ селена тормозило растяжение структурных элементов проростка донника, что уже свидетельствовало о негативном эффекте этой концентрации элемента. При этом наибольший ингибирующий эффект проявлялся на уровне семядолей, наименьший – на уровне гипокотилей.

Максимальное ингибирование селеном растяжения семядолей проявилось на СС и составило 52%, против такового на ЗС и КС (32 и 37% соответственно), относительно контроля на соответствующем участке спектра. Совместное действие света разного качества и селена оказывало приблизительно одинаковой силы торможение растяжения гипокотилей и составило в среднем 21–27% на СС, ЗС и КС.

Кроме того, наблюдалась спектральная фотоспецифичность в регуляции селеном роста корней. Наибольшее торможение роста корня селеном отмечено на КС, что могло быть связано с активным накоплением элемента в подземном органе на этом участке спектра [Головацкая и др., 2013]. В то время как на СС рост корня в присутствии селена ускорялся на 78%, что, вероятно, и приводило к изменению донорно-акцепторных отношений между органами и к отставанию в росте семядолей.

Ростовые процессы семядоли сопровождались изменением фотосинтетических реакций. На ЗС отмечено наименьшее содержание Хла в семядоле по сравнению с другими участками спектра. Этот эффект был отмечен нами ранее и для других видов растений [Карначук, Головацкая, 1998]. Действие селена двукратно снижало уровень Хла на СС и КС, однако повышало его на ЗС, последнее согласовывалось с увеличением уровня антиоксидантов каротиноидов на средневолновом участке спектра. В то же время снижение содержания каротиноидов на КС, способствовало увеличению уровня Хлв. Последний эффект мог свидетельствовать об увеличении окислительного стресса на длинноволновом участке спектра.

В качестве показателя степени повреждающего действия того или иного стрессора может служить повышенное образование МДА, который является своеобразным маркером развития окислительного стресса. Анализ уровня этого вещества показал существенное увеличение в 1.5–2.5 раза интенсивности ПОЛ в семядолях относительно гипокотилей, что могло свидетельствовать о большей функциональной активности этих органов, например, интенсивности фотосинтетических реакций, производящих определенный уровень АФК. Добавление селена в питательную среду снижало ПОЛ в семядолях, но повышало в гипокотилеях. Наибольшая интенсивность ПОЛ отмечалась в присутствии 100 мкМ селена на КС и минимальное – на СС (2-кратное уменьшение относительно КС). Такая локализация окислительных процессов могла быть связана с неоднородным распределением элемента вдоль проростка, обусловленная буферностью корня и отдельных клеток гипокотыля.

Гетероциклическая аминокислота пролин является широко распространенным метаболитом, обладающим протекторными свойствами. При действии засухи, засоления, тяжелых металлов и УФ-облучения показана её аккумуляция в растениях. Накапливаясь в растении, пролин проявляет осмопротекторные и антиоксидантные свойства. Сравнительный анализ содержания пролина у контрольных и опытных растений служит показателем эффективности защитного ответа. В побеге проростков донника наибольшая аккумуляция пролина отмечена на ЗС, его уровень уменьшался в ряду зеленый свет>красный свет>синий свет. В присутствии селена содержание пролина увеличивалось на 82% на СС, тогда как на ЗС и КС на 60–65% по сравнению с соответствующим световым контролем. Наибольшему увеличению содержания пролина на СС соответствовало снижение интенсивности ПОЛ, однако на ЗС и КС сохранялась высокая интенсивность окислительных процессов.

В соответствии с нашими более ранними данными, низкие концентрации селенита натрия (0,1 и 1 мкМ) выступали как антиоксиданты. Полученные в ходе настоящего исследования данные свидетельствуют о прооксидантной функции высоких концентраций селенита натрия (100 мкМ) в стерильных проростках донника белого.

Таким образом, показаны различия морфофизиологических параметров проростков *Melilotus albus*, выращенных *in vitro* с селенитом натрия под белым, синим, красным и зеленым светом. Действие 100 мкМ селена вызывало окислительный стресс, величина которого зависела от условий освещения. Совместное действие КС и селена увеличивало интенсивность перекисного окисления липидов, возможно, в связи с активным накоплением элемента в проростках.

Литература

Блинохватов А.Ф., Вихрева В.А., Хрянин В.Н. Селен – адаптоген и стимулятор роста растений. – М: МСХА, 2001. – 82 с.

Воскресенская Н.П. Фотосинтез и спектральный состав света. – М.: Наука, 1965. – 220 с.

Головацкая И.Ф., Кулагина Ю.М., Крахалева А.В., Карначук Р.А. Влияние селена на морфогенез и биохимические параметры растений *Triticum aestivum* L. в зависимости от селективного света // Агрехимия. – 2013. – № 5. – С. 558–565.

Карначук Р.А., Головацкая И.Ф. Гормональный статус, рост и фотосинтез растений, выращенных на свету разного спектрального состава // Физиология растений. – 1998. – Т. 45, № 6. – С. 925–934.

Bates L.E., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies // Plant Soil. – 1973. – V. 39. – P. 205–207.

Heath R.L., Parker L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation // Archives of Biochemistry and Biophysics. – 1968. – V. 125. – P. 189–198.

Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids, the pigments of photosynthetic biomembranes // Methods in enzymology / Eds. R. Douce, L. Packer. Academic Press Inc., New York. : Plant Cell Membranes, 1987. –V. 148. – P. 350–382.

INFLUENCE OF SELECTIVE LIGHT ON THE *MELILOTUS ALBUS* RESISTANCE TO SELENIUM *IN VITRO*

I.F. Golovatskaya, T.V. Loshkareva, E.V. Boyko, N.I. Laptev

Tomsk State University, Tomsk, Russia, golovatskaya.irina@mail.ru

Abstract. The differences in morphophysiological parameters of *Melilotus albus* seedlings grown *in vitro* on MS medium with 100 μ M sodium selenite under white, blue, red and green light are shown. The selenium action caused oxidative stress. The stress amount depended on the lighting conditions. The combined action of red light and selenium increased the intensity of lipid peroxidation, possibly due to the active accumulation of the element in the seedlings.

Keywords: *Melilotus albus*, photosynthetic pigments, proline, lipid peroxidation, selenium