

УДК 57.017.64

**НАНОКОМПОЗИТЫ СЕЛЕНА С ПОЛИСАХАРИДНЫМИ МАТРИЦАМИ  
СТИМУЛИРУЮТ РОСТ КАРТОФЕЛЯ *IN VITRO*, ИНФИЦИРОВАННОГО  
ВОЗБУДИТЕЛЕМ КОЛЬЦЕВОЙ ГНИЛИ****А. И. Перфильева<sup>1,\*</sup>, О. А. Ножкина<sup>1</sup>, И. А. Граскова<sup>1</sup>, А. В. Дьякова<sup>2</sup>, А. Г. Павлова<sup>2</sup>,  
Г. П. Александрова<sup>3</sup>, И. В. Клименков<sup>2,4</sup>, Б. Г. Сухов<sup>3</sup>, академик РАН Б. А. Трофимов<sup>3</sup>**

Поступило 25.05.2019 г.

Впервые исследовали влияние наноконпозитов (НК) селена в матрицах арабиногалактана (НК Se/Ag) и крахмала (НК Se/Кр) на вегетацию растений картофеля *in vitro*, активность пероксидазы и содержание активных форм кислорода (АФК). Ранее было выявлено, что эти наноконпозиты селена обладают противомикробным эффектом по отношению к фитопатогенной бактерии *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (*Cms*). В настоящей работе показано, что НК Se/Ag (6,4% Se) и НК Se/Кр (12% Se) не оказывают негативного влияния на здоровый и инфицированный *Cms* картофель, стимулируя его прирост, количество листьев и массу вегетативной части. Наноконпозит Se/Ag обладает положительным влиянием на растения картофеля благодаря повышению его иммунного статуса за счёт увеличения содержания АФК и повышения активности пероксидазы. С применением элементного анализа показано, что исследуемые наноконпозиты не накапливаются в тканях картофеля после его обработки ими. Полученные результаты позволяют рассматривать НК Se/Ag и НК Se/Кр в качестве потенциальных агентов для оздоровления картофеля от патогенных бактерий.

**Ключевые слова:** картофель, наноконпозиты, селен, крахмал, арабиногалактан, активные формы кислорода, пероксидаза, *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*.

DOI: <https://doi.org/10.31857/S0869-56524893325-330>

Нанотехнологии активно внедряются в различные аспекты хозяйственной деятельности человека, в частности в сельское хозяйство [1–4], однако в фитопатологии наноконпозитные материалы практически не применяются.

Ранее в качестве потенциальных агентов для оздоровления картофеля от патогенных бактерий мы исследовали наноконпозиты (НК) Se в природных полимерных матрицах в предположении, что при обработке растений такими НК бактерии будут погибать, однако растение при этом не пострадает.

Установлено, что ряд НК Se с арабиногалактаном (Ag) (с различным содержанием (%) Se: 1,23; 3,4; 6,4%), Se с крахмалом (содержание Se 12%) обладает антибактериальными свойствами [5–8]. Влияние на растения показано только для одного НК Se с арабиногалактаном Ag (содержание Se 1,23%), синтезированного из оксида селена [8].

<sup>1</sup>Сибирский институт физиологии и биохимии растений  
Сибирского отделения Российской Академии наук, Иркутск

<sup>2</sup>Иркутский государственный университет

<sup>3</sup>Иркутский институт химии

Сибирского отделения Российской Академии наук

<sup>4</sup>Лимнологический институт Сибирского отделения

Российской Академии наук, Иркутск

\*E-mail: [alla.light@mail.ru](mailto:alla.light@mail.ru)

В настоящей работе представлены новые результаты о влиянии НК Se с Ag (6,4% Se) и НК Se с крахмалом (12,0% Se) на картофель *in vitro*, заражённый возбудителем кольцевой гнили *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (*Cms*).

Синтез НК Se с Ag (НК Se/Ag) проводили окислением *buc*(2-фенилэтил)фосфинодиселенофосфината натрия пероксидом водорода в водном растворе Ag [5]. Синтез НК Se с крахмалом (НК Se/Кр) осуществляли на основе готового препарата крахмала [9].

В работе использовали штамм бактерий *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* Ac-1405, возбудителя кольцевой гнили картофеля. Бактерии выращивали на GPY [10].

Для проведения эксперимента растения картофеля *in vitro* сорта Лукьяновский заражали *Cms*, через 2 сут вносили НК. Картофель инкубировали 26 сут, отслеживая каждые 2 сут длину растений и количество листьев, в конце опыта определяли длину междоузлий, массу корней и массу вегетативной части (ВЧ) каждого растения.

Активность общей гваяколзависимой пероксидазы определяли по методу Бояркина спустя 1 сут коинкубации растений с НК.

Содержание активных форм кислорода (АФК) в тканях картофеля определяли спектрофотометрически при 560 нм с применением ксиленолового оранжевого.

Для выявления и визуализации областей продукции АФК в корнях картофеля растения заражали *Sms*, далее 2 сут обрабатывали НК, спустя 1 ч кокультивирования осуществляли подготовку проб для анализа с применением CellROX Deep Red Reagent и DAPI.

Накопление Se в тканях растений после обработки картофеля нанокompозитами изучали с применением рентгеновского спектрального энергодисперсионного микроанализа (РСЭДМА).

Обработка НК Se/Ag не оказывала негативного влияния на картофель в течение 26 сут (рис. 1а). Эффект предшественников НК в настоящей работе не исследовался, такие опыты были проведены ранее [8]. Нанокompозит Se/Kp стимулировал прирост растений (рис. 1б). Заражение *Sms* после 6 сут

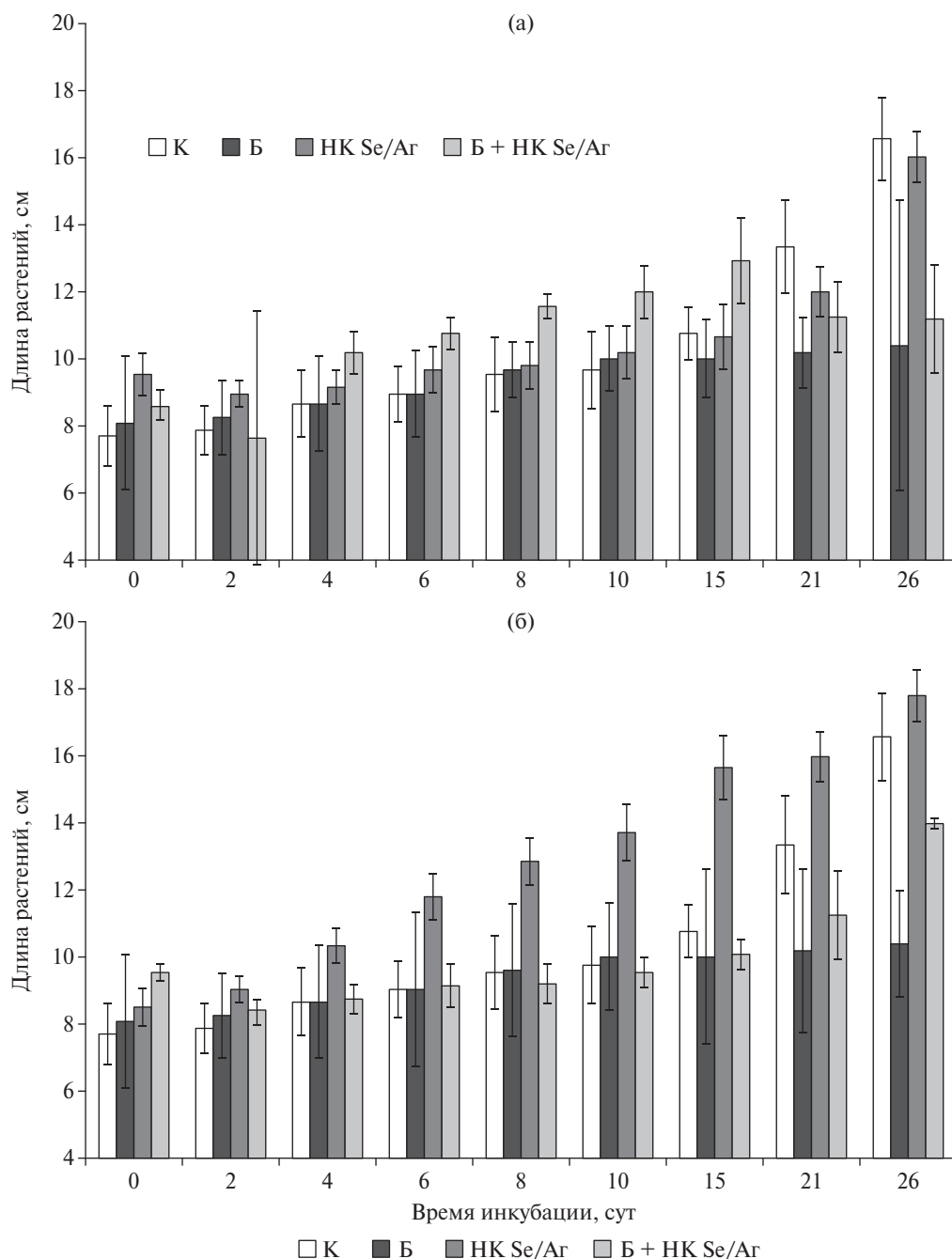


Рис. 1. Влияние заражения *Sms* и обработок НК Se на прирост картофеля. Влияние НК Se/Ag (а) и НК Se/Kp (б) на прирост картофеля.

коинкубации снижало прирост растений. *Cms* + НК Se/Ag стимулировало прирост с 3-х по 7-е сут (рис. 1а). Вероятно, НК способствовал повышению защитных механизмов растения на этом этапе инкубации. Обратная ситуация наблюдается в варианте *Cms*+НК Se/Кр: после 8 сут инкубации исследуемый показатель повышался (рис. 1).

У заражённых растений картофеля было меньше листьев по сравнению с контролем (рис. 2). Первые две недели наблюдения НК Se/Ag и НК Se/Кр стимулировали образование листьев, далее этот показатель был на уровне контроля. *Cms* + НК Se/Ag в течение первых двух недель значительно стимулировало образование листьев. При дальнейшем наблюдении за этими растениями отмечено снижение этого показателя. Вероятно, к тому времени весь вносимый НК был утилизирован *Cms* и оставшиеся бактерии начали размножение, вызывая закупоривание проводящих сосудов в стеблях картофеля, что препятствовало образованию листьев и снижению прироста растений. *Cms* + НК Se/Кр стимулировало количество листьев у картофеля (рис. 2). При этом не наблюдался “эффект вытягивания” растений как при обработке НК, так и при *Cms* + НК (табл. 1).

Наноккомпозит Se/Ag стимулировал как образование корней у здорового картофеля, так и прирост ВЧ по сравнению с контролем (табл. 1). По-видимому, это связано с воздействием НЧ. На перце *Capsicum annuum* сорта LJ-king показано, что выращивание растений на среде с НЧ Fe, Zn и Cu стимулирует корнеобразование [11]. Также наблюдаемый эффект, вероятно, объясняется наличием биологической активности Ag [12]. Заражение значительно снижало исследуемые показатели, однако обработка НК Se/Ag уменьшала негативный эффект *Cms* (табл. 1). Наноккомпозит Se/Кр и *Cms* + НК Se/Кр снижали биомассу корней и не влияли на вегетативную часть растения (табл. 1).

Для выявления стрессового состояния у растений при их обработке НК Se/Ag было исследовано изменение активности пероксидазы, а также содержание АФК в тканях картофеля. Обнаружено, что активность фермента значительно повышалась после заражения, что характерно для растения восприимчивого сорта картофеля Лукьяновский (табл. 1). Наноккомпозит Se/Ag стимулировал исследуемый показатель, что свидетельствует о вероятном усилении защитной реакции растения на биотический стресс. Обработка растений НК Se/Кр не влияла

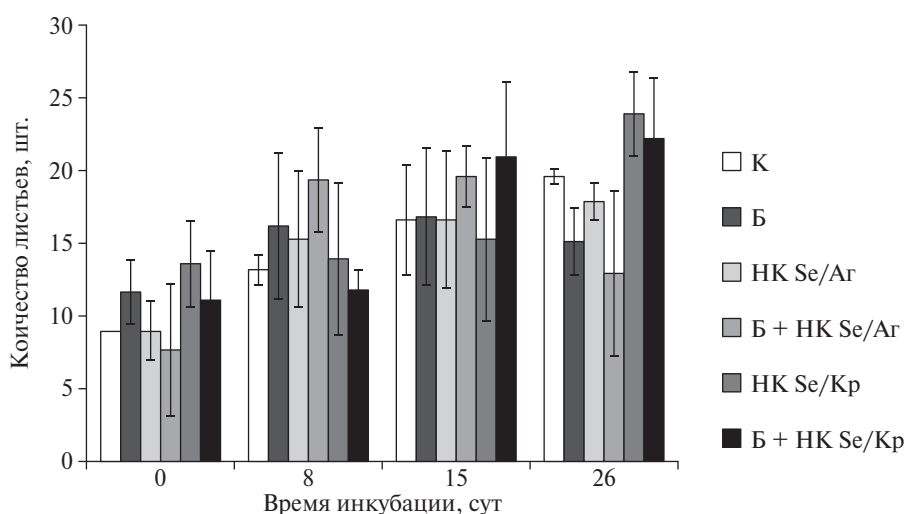


Рис. 2. Влияние заражения *Cms* и обработок НК Se на количество листьев у картофеля.

Таблица 1. Влияние заражения *Cms* и НК Se на биометрические характеристики и активность пероксидазы у растений картофеля in vitro

	Длина междоузлий, см	Масса корней, г	Масса ВЧ, г	Активность пероксидазы, у.е.
К	1,18±0,03	0,29±0,02	0,70±0,18	0,26±0,005
Б	1,03±1,15	0,03±0,02	0,47±0,12	0,42±0,004
НК Se/Ag	1,27±0,25	0,5±0,03	0,78±0,15	0,38±0,001
НК Se/Кр	0,9±0,1	0,1±0,03	0,84±0,5	0,30±0,002
Б+НК Se/Ag	1,15±1,10	0,07±0,08	0,60±0,34	0,48±0,008
Б+НК Se/Кр	1,2±0,2	0,1±0,007	0,8±0,05	0,47±0,009

на активность пероксидазы здоровых растений, несколько повышая активность фермента у растений картофеля, заражённых *Cms*.

Поскольку среди исследуемых НК наибольшее положительное влияние на картофель продемонстрировал НК Se/Ag, далее провели серию экспериментов по исследованию его воздействия на содержание АФК в тканях картофеля в динамике (рис. 3). Содержание АФК в контрольных растениях было невысоким в течение всего периода наблюдения. *Cms* приводила к резкому увеличению АФК. Наноконкомпозит Se/Ag повышал содержание АФК на первых минутах наблюдения. *Cms* + НК Se/Ag способствовало значительному увеличению АФК в течение всего периода наблюдения.

Наличие АФК в тканях корня заражённого картофеля, как обработанного НК Se/Ag, так и без об-

работки, представлено на рис. 4. Синим цветом обозначены ядра клеток, красным — АФК. Наноконкомпозит Se/Ag усиливал образование АФК в тканях инфицированного картофеля. Вероятно, НК способен индуцировать в растении защитные механизмы для борьбы со стрессом. Известно, что АФК являются сигнальными молекулами, активируют множество защитных программ клетки при стрессах [13–15].

Методом РСЭДМА исследовали наличие и содержание Se в тканях картофеля спустя 2 сут после обработки НК. В контрольных растениях, в растениях, обработанных НК Se/Ag, НК Se/Кр, как отдельно, так и совместно с *Cms*, не было выявлено Se. Вероятно, его содержание ниже предела определения метода. Это свидетельствует о том, что используемые НК относительно безопасны для обработки растений, так как Se не накапливаются в них.

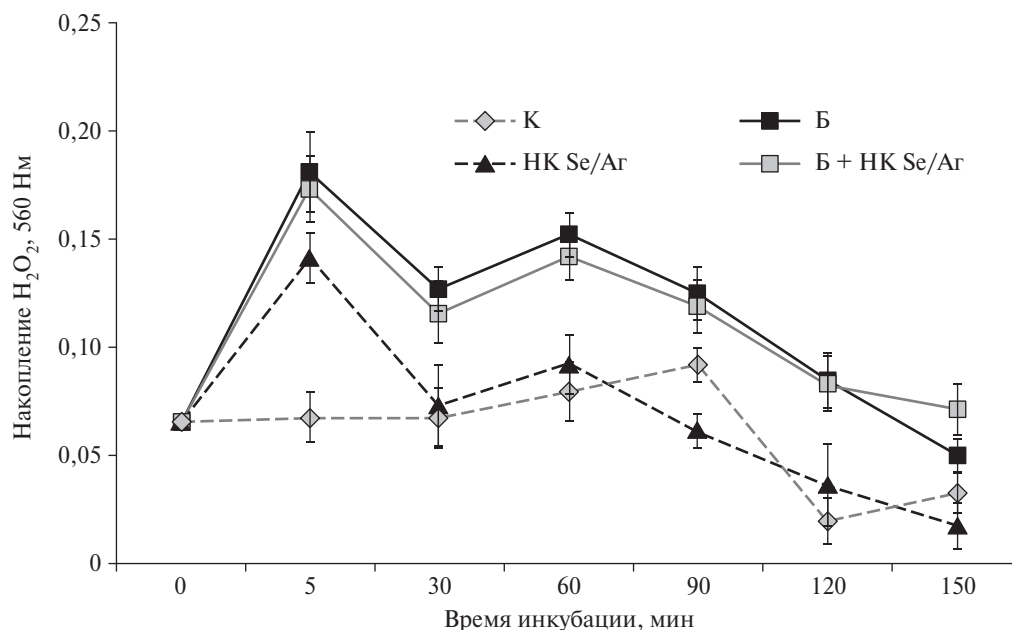


Рис. 3. Влияние заражения *Cms* и обработок НК Se на содержание H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в тканях картофеля.

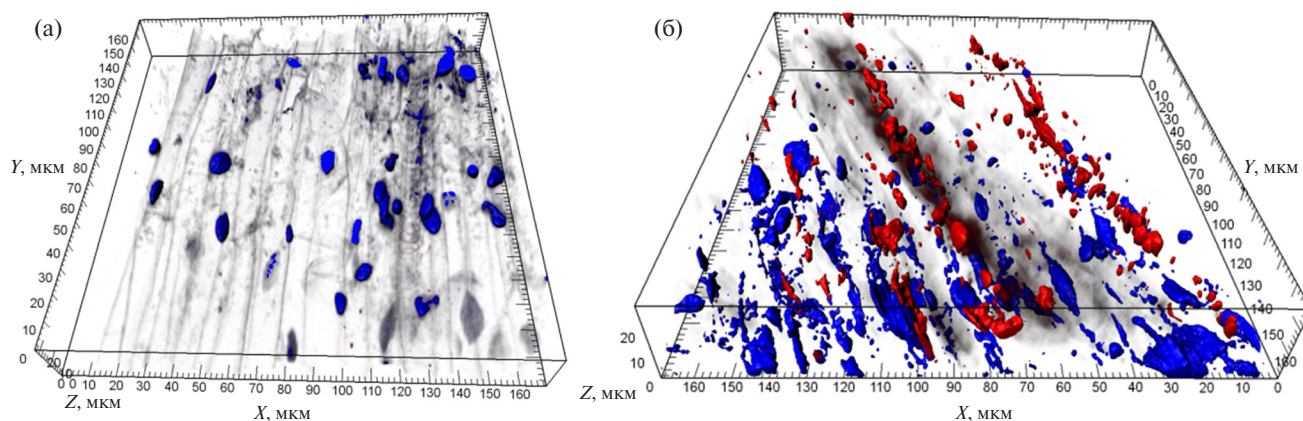


Рис. 4. Влияние заражения *Cms* и обработок НК Se на содержание АФК в тканях картофеля.

Таким образом, в работе проведено изучение влияния НК Se в природных матрицах на инфицированные *Sms* растения картофеля *in vitro*. Обнаружено, что НК Se/Ag обладает положительным эффектом на картофель, повышает его прирост даже у заражённых растений. По-видимому, такой эффект связан с повышением иммунного статуса растения за счёт увеличения содержания АФК и активности пероксидазы. Наноккомпозит Se/Кр стимулировал прирост картофеля и количество листьев у растений, как свободных от инфекции, так и заражённых *Sms*. Показано, что после обработки растений НК Se/Ag и НК Se/Кр селен в тканях картофеля не накапливается. Исследуемые НК не только обладают выраженным бактерицидным и бактериостатическим эффектом [7], при этом стимулируют рост растений. Наноккомпозиты Se/Ag и Se/Кр можно рассматривать в качестве потенциальных экологически безопасных агентов для оздоровления сельскохозяйственных растений от патогенных бактерий.

**Благодарности.** Работа выполнена с использованием ЦКП “Биоресурсный центр” СИФИБР СО РАН.

**Источники финансирования.** Работа поддержана грантом Президента Российской Федерации для “молодых учёных — кандидатов наук” № МК-1220. 2019.11, грантом РФФИ и Правительства Иркутской области № 17–416–380001.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Prasad R., Bhattacharyya A., Nguyen Q.D // *Front Microbiol.* 2017. V. 20. № 8. P. 1014. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01014.
2. Шкиль Н.Н., Шкиль Н.А., Бурмистров В.А., Юхин Ю.М. // *Сиб. вест. сель.-хоз. науки.* 2017. Т. 47. № 2. С. 85–90.
3. Raliya R., Saharan V., Dimkpa C., Biswas P. // *J. Agric Food Chem.* 2018. V. 5. № 66 (26) P. 6487–6503. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b02178.
4. He X., Deng H., Hwang H.M. // *J. Food Drug Anal.* 2019. V. 27(1). P. 1–21. DOI: 10.1016/j.jfda.2018.12.002.
5. Перфильева А.И., Ножкина О.А., Граскова И.А., Сидоров А.В., Лесничая М.В., Александрова Г.П., Долмаа Г., Клименков И.В., Сухов Б.Г. // *Изв. АН. Сер. хим.* 2018. № 1. С. 157–163. DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-626-629.
6. Папкина А.В., Перфильева А.И., Живетьев М.А., Боровский Г.Б., Граскова И.А., Лесничая М.В., Клименков И.В., Сухов Б.Г., Трофимов Б.А. // *ДАН.* 2015. Т. 461. № 2. С. 239–241. DOI: 10.7868/S0869565215030305.
7. Perfilova A.I., Moty'leva S.M., Klimenkov I.V., Graskova I.A., Skhov B.G., Trofimov B.A. // *Nanotechnologies in Russia.* 2017. V. 12. № 9/10. P. 553–558. DOI: 10.1134/S1995078017050093.
8. Papkina A.V., Perfilova A.I., Zhivet'yev M.A., Borovskii G.B., Graskova I.A., Klimenkov I.V., Lesnichaya M.V., Sukhov B.G., Trofimov B.A. // *Nanotechnologies in Russia.* 2015. V. 10. № 5/6. P. 484–491. DOI: 10.1134/S1995078015030131.
9. Карпова Е.А., Сухов Б.Г., Колесникова Л.И., Власов Б.Я., Ильина О.П., Артемьев А.В., Лесничая М.В., Погодаева Н.Н., Сайванова С.А., Кузнецов С.В., Трофимов Б.А. // Патент на изобретение *RUS 2557992.30.12.2013.*
10. Roozen N.J.M., Van Vuurde J.W.L. // *Netherlands J. Plant Pathology.* 1991. V. 97. № 5. P. 321–334.
11. Нечитайло Г.С., Богословская О.А., Ольховская И.П., Глуценко Н.Н. // *Российские нанотехнологии.* 2018. Т. 13. № 3/4. С. 57–63.
12. Дубровина В.И., Медведева С.А., Витязева С.А., Колесникова О.Б., Александрова Г.П., Гуцол Л.О., Грищенко Л.А., Четверякова Т.Д. Структура и иммуномодулирующее действие арабиногалактана лиственницы сибирской и его металлопроизводных. Иркутск, 2007. 145 с.
13. Suzuki N., Koussevitzky S., Mittler R., Miller G. // *Plant Cell Environ.* 2012. V. 35. № 2. P. 259–270. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2011.02336.x.
14. Choudhury F.K., Rivero R.M., Blumwald E., Mittler R. // *Plant J.* 2017. V. 90. № 5. P. 856–867. DOI: 10.1111/tpj.13299.
15. Liebthal M., Dietz K.J. // *Methods Mol Biol.* 2017. P. 1631:23–39. DOI: 10.1007/978-1-4939-7136-7\_2.

## SELENIUM NANOCOMPOSITES WITH POLISAKHARIDNY MATRIXES STIMULATE GROWTH OF *IN VITRO* POTATOES INFECTED WITH THE RING ROT DISEASE

A. I. Perfileva<sup>1</sup>, O. A. Nozhkina<sup>1</sup>, I. A. Graskova<sup>1</sup>, A. V. Dyakova<sup>2</sup>, A. G. Pavlova<sup>2</sup>,  
G. P. Aleksandrova<sup>3</sup>, I. V. Klimenkov<sup>2,4</sup>, B. G. Sukhov<sup>3</sup>, Academician of the RAS B. A. Trofimov<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, Siberian Branch  
of the Russia Academy of Sciences, Irkutsk, Russian Federation*

<sup>2</sup>*Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation*

<sup>3</sup>*Irkutsk Institute of Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,  
Irkutsk, Russian Federation*

<sup>4</sup>*Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russian Federation*

Received May 25, 2019

In article for the first time investigated influence of nanocomposites of selenium in matrixes of an arabinogalactan (Se/Ag) and starch (Se/St) on vegetation of *in vitro* plants potatoes, peroxidase activity and reactive oxygen species. Earlier it was shown that these nanocomposites of selenium have antimicrobial effect to a phytopathogenic bacterium of *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (*Cms*). In this real work it is shown that the Se/Ag (6,4% of Se) and Se/St (12% of Se) have no negative impact on the healthy and infected with *Cms* potatoes, stimulating its growth, quantity of leaves and mass of a vegetative part. NC Se/Ag has a positive effect on potato plants by increasing its immune status by increasing ROS content and increasing peroxidase activity. With application of the element analysis it is shown that the studied nanocomposites do not collect in potatoes fabrics after its processing by them. The Se/Ag and Se/St as potential agents for improvement of potatoes from pathogenic bacteria allow to consider the received results.

**Keywords:** nanocomposite, selenium, potatoes, starch, arabinogalactan, reactive oxygen species, peroxidase, *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*.