

БИОХИМИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ
BIOCHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY

ISSN 2410-6593 (Print), ISSN 2686-7575 (Online)

<https://doi.org/10.32362/2410-6593-2022-17-5-394-409>



УДК 577.151.042; 546.23

НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

Тиолзависимые механизмы действия селеносодержащих препаратов и толилфлуанида на истечение электролитов и активность пероксидазы в растениях кукурузы (*Zea mays* L.)

П.А. Подубояринов^{1,✉}, Н.И. Щетинина¹, И.Я. Моисеева¹, Н.И. Микуляк¹, Н.А. Голубкина², А.П. Каплун³

¹Пензенский государственный университет, Пенза, 440026 Россия

²Федеральный научный центр овощеводства, ВНИИССОК, Московская обл., 143086 Россия

³МИРЭА – Российский технологический университет (Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова), Москва, 119571 Россия

✉ Автор для переписки, e-mail: poluboyarinovpavel@yandex.ru

Аннотация

Цели. Неорганические и органические соединения селена, как и ряд других тиоловых ядов, активируют ферменты в клетках разных организмов, однако механизм индукции ферментативной активности малоизучен, в связи с этим целью настоящей работы стало изучение механизма влияния соединений селена на индукцию активности фермента пероксидазы в тканях растений кукурузы.

Методы. Механизм блокирования сульфгидрильных групп (SH-групп) соединений селена исследовали на растениях кукурузы в сравнении с фунгицидом толилфлуанидом – классическим тиоловым ядом. Истечение электролитов определяли методом кондуктометрии и капиллярного электрофореза, фракции белков по методу Ермакова–Дурыниной, их концентрацию по Брэдфорду, активность пероксидазы по методу Бояркина.

Результаты. Было установлено, что диацетофенонилселенид (ДАФС-25) взаимодействовал с SH-группами, как и фунгицид толилфлуанид, который является классическим органическим тиоловым ядом. ДАФС-25 стимулирует истечение катионов калия

и аммония в 58 и 14 раз, а толлилфлуанид в 4.4 и 1.5 раз в сравнении с контролем. Истечение электролитов из клеток растений кукурузы приводит к увеличению концентрации общего белка и особенно альбуминов. Концентрация альбуминов с ДАФС-25 возрастала в 2.4–4.5 раза, а с толлилфлуанидом – в 2 раза. ДАФС-25 активировал фермент пероксидазу в корнях и надземной части кукурузы на 63% и 112%, а толлилфлуанид на 73% и 63%, что говорит о схожем механизме их действия. L-цистеин снижает активность пероксидазы от действия ДАФС-25, т.е. снимает блокирование SH-групп. Слабее активируют пероксидазу Na_2SeO_3 и L-селеноцистин, которые также взаимодействуют с SH-группами. Содержание селена в растениях кукурузы уменьшается при добавлении L-цистеина в раствор с ДАФС-25, что говорит о снижении его поступления в растения.

Выводы. Исследования показали, что селеносодержащие вещества взаимодействуют с SH-группами клеток растений кукурузы, усиливая истечение электролитов и повышая концентрацию белков в тканях, особенно альбуминов, а, следовательно, увеличивая активность фермента пероксидазы.

Ключевые слова: диацетофенонилселенид, толлилфлуанид, кукуруза, пероксидаза, электролиты, белки

Для цитирования: Полубояринов П.А., Щетинина Н.И., Моисеева И.Я., Микуляк Н.И., Голубкина Н.А., Каплун А.П. Тиолзависимые механизмы действия селеносодержащих препаратов и толлилфлуанида на истечение электролитов и активность пероксидазы в растениях кукурузы (*Zea mays* L.). *Тонкие химические технологии*. 2022;17(5):394–409. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2022-17-5-394-409>

RESEARCH ARTICLE

Thiol-dependent mechanisms of selenium-containing preparations and thiolyfluanide effect on electrolytes leaching and peroxidase activity in *Zea mays* L.

Pavel A. Poluboyarinov^{1,✉}, Natalia V. Shchetinina¹, Inessa Ya. Moiseeva¹, Nadezhda I. Mikulyak¹, Nadezhda A. Golubkina², Alexander P. Kaplun³

¹Penza State University, Penza, 440026 Russia

²Federal Scientific Center of Vegetable Production, VNISSOK, Moscow oblast, 143072 Russia

³MIREA – Russian Technological University (M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies), Moscow, 119571 Russia

✉ Corresponding author, e-mail: poluboyarinovpavel@yandex.ru

Abstract

Objectives. While organic and inorganic derivatives of selenium like thiol poisons are known to activate enzymes in cells of different organisms, the mechanism of enzyme activity induction is poorly studied. Therefore, the aim of the study was to investigate the effect of selenium compounds on peroxidase activity induction in maize tissues.

Methods. Mechanism of sulfhydryl groups blocking in selenium derivatives was studied on maize in comparison with fungicide tolylfluanid—a typical thiol poison. Electrolytes leakage was determined using conductometry and capillary electrophoresis, protein fractions—by the Ermakov–Durinina method, protein concentration—according to Bradford protein assay, and peroxidase activity—by the Boyarkin method.

Results. Diacetophenylselenide (DAPS-25) was shown to react with SH-groups similarly with tolylfluanid fungicide. DAPS-25 increased K^+ and NH_4^+ leakage by 58 and 14 times, while appropriate increases for tolylfluanid were 4.4 and 1.5 times as compared to control. Increased total protein content—especially albumins—was due to electrolyte leakage from maize cells. DAPS-25 increased albumins concentration by 2.4–4.5 times, and tolylfluanid application by 2 times. Similar increase of peroxidase activity in maize roots and sprouts as a result of DAPS-25 (by 63% and 112%) and tolylfluanid (by 73% and 63%) application indicates close mechanism of their effect. Under DAPS-25 loading L-cysteine decreases peroxidase activity, which records the removal of SH-groups blockage. A less intensive effect was registered for sodium selenite and L-selenocystin, also capable of reacting with SH-groups. L-cysteine supplementation to DAPS-25 solution decreases selenium concentration in maize, indicating the decrease of selenium bioavailability.

Conclusions. The results indicated that selenium containing compounds react with SH-groups of maize cells increasing electrolytes leakage, protein content and especially albumins resulting in the increase of peroxidase activity.

Keywords: diacetophenonyl selenide, tolylfluanid, *Zea mays*, peroxidase, electrolytes, proteins

For citation: Poluboyarinov P.A., Shchetinina N.V., Moiseeva I.Ya., Mikulyak N.I., Golubkina N.A., Kaplun A.P. Thiol-dependent mechanisms of selenium-containing preparations and thiolyfluanide effect on electrolytes leaching and peroxidase activity in *Zea mays* L. *Tonk. Khim. Tekhnol.* = *Fine Chem. Technol.* 2022;17(5):394–409 (Russ., Eng.). <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2022-17-5-394-409>

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы широко исследуются каталитические функции микроэлемента селена, формирующего активные селенольные центры антиоксидантных ферментов и в первую очередь четырехселензависимых глутатионпероксидаз, селеносодержащих пептидов и белков [1].

Неорганические соли селена (селенат и селенит натрия) и органические соединения селена: эбселен, 2-фенилбензоселеназол-1,2-3(2н)-он[2], селенопиран, 9-фенил-сим-нона-гидро-10-селена-антрацен¹, диацетофенилселенид (ДАФС-25), 1,5-дифенил-3-селенапентадион-1,5 [3], (I), оказывают активирующее действие на ряд ферментов: каталазу, пероксидазу, супероксиддисмутазу, глутатиопероксидазу у растений [4–7], бактерий [8],

¹ Блинохватов А.Ф. 9-*R*-сим-нонагидро-10-окса(халькогена) антрацены и соли 9-*R*-сим-октагидро-10-оксония (халькогенония) антрацена. Дис. докт. хим. наук. Саратов: СГУ; 1993. [Blinokhvatom A.F. 9-*R*-sim-nonahydro-10-oxa (chalcogen) anthracene and 9-*R*-sim-octahydro-10-oxonium (chalcogenonia) anthracene salts. Dr. Sci. Thesis (Chem.). Saratov: SGU; 1993.]

насекомых [9], ракообразных [10], сельскохозяйственных животных и птиц [11, 12]. Особо следует отметить, что из 27 органических соединений селена и их 16 серосодержащих аналогов наибольшую активность ферментов фазы II – хиноинредуктазы (К.Ф. 1.6.5.5) и глутатион-S-трансферазы (К.Ф. 2.5.1.18) – индуцировали 9 селеносодержащих соединений: диметилдиселенид, дибензилдиселенид, дифенилдиселенид, бензилселенол, бензолселениновая кислота, эбселен, 2,5-дифенилселенофен, трифенилселенония хлорид, т.е. в основном те препараты, которые взаимодействуют с сульфгидрильными группами клеток гепатомы мышей (Нера-1c1c7) с образованием селеносульфидных связей [13]. Однако механизмы метаболизма селенорганических ксенобиотиков в биологических средах, их влияние на индукцию активности ферментов изучены недостаточно. Известно, что в высоких концентрациях неорганические соединения селена: селенит, селенат натрия, оксид селена, действуют как тиоловые яды, блокируя сульфгидрильные группы белков [14, 15]. К тиоловым ядам также относят тяжелые металлы: ртуть, кадмий и свинец.

Существует взаимосвязь утечки электролитов при повреждении мембран клеток корней пшеницы хлоридом ртути (HgCl_2), увеличении концентрации малонового диальдегида (МДА) и активации каталазы, супероксиддисмутазы, пероксидазы, аскорбатпероксидазы [16]. В условиях стресса и засухи у растений рапса, обработанных селенитом натрия обнаружено увеличение активности каталазы и аскорбатпероксидазы, в отличие от растений, не обработанных селеном, где уровень активности ферментов ниже [17].

Метод ингибиторов широко используется для определения механизма действия различных препаратов. Классическим тиоловым ядом является толилфлуанид (IV) (фунгицид Эупарена Мульти 500 г/кг), не содержащий селен. Относительно механизмов действия известно, что он неспецифически ингибирует биохимические процессы, в которых принимают участие ферменты и коферменты, содержащие сульфгидрильные группы, тиолсодержащие клеточные компоненты [18]. Как и все тиоловые яды, он увеличивает водопроницаемость клеточных мембран, способствует «вытеканию» ионов калия из клетки [19].

Механизм повышения активности ферментов может быть обусловлен синтезом изоферментов *de novo*, изменением конформации молекулы фермента или простетической группы под воздействием ингибитора, или каталитическим действием микроэлемента селена на селензависимые ферменты. Однако, ферменты антиоксидантной защиты (каталаза, пероксидаза, супероксиддисмутазы), утилизирующие пероксиды и свободные радикалы, к селензависимым ферментам не относятся. В большинстве научных исследований прослеживается взаимосвязь, между действием тиоловых ядов – ионов тяжелых металлов, селеновых препаратов – и индукцией активности разных ферментов. Это может быть связано с утечкой электролитов, т.е. модификацией ионных каналов, аквапоринов, и приводить к увеличению концентрации белка в биомассе, а, как следствие, увеличению активности ферментов.

В связи с вышеизложенным, целью исследования является изучение механизма влияния соединений селена на индукцию активности фермента пероксидазы у проростков кукурузы (*Zea mays* L.).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реактивы и приборы. В работе использовали реактивы: пероксид водорода 30%, бензидин, L-цистеина гидрохлорид, ацетон (*Вектон*, Россия), ДАФС-25 (*Сульфат*, Россия), толилфлуанид – фунгицид «Эупарен Мульти» (*BASF*, Германия).

Селенорганический ксенобиотик – ДАФС-25 и толилфлуанид растворяли в ацетоне и добавляли в раствор Кнопа². Селенит натрия и L-селеноцистин растворяли в 0.1 М HCl (*Вектон*, Россия). В контрольные варианты были добавлены растворители – ацетон (х.ч.) и соляная кислота (х.ч.) (*Вектон*, Россия).

Определение электропроводности дистиллированной воды и растворов, проводили на кондуктометре «Эксперт-002-2-6» (*АналитПромПрибор*, Россия) по ГОСТ 6709-72³.

Определение неорганических катионов в воде проводили по методике М 01-31-2011⁴, используя систему капиллярного электрофореза Капель 105М (*ГК «ЛЮМЭКС»*, Россия).

Активность пероксидазы определяли, используя фотометр КФК-3 (*ЗОМЗ*, Россия).

Изучение анатомии клеток корней кукурузы проводили под микроскопом Levenhuk D320L (*Левенгук*, Россия).

Проращивание семян кукурузы. Семена кукурузы (*Zea mays* L.) сорта «Краснодарский 291 АМВ» (*Гавриш*, Россия) и «Утренняя песня» (*Гавриш*, Россия) проращивали в течение 3 суток в термостате при температуре 25–26 °С [20]. Для опытов использовали проростки с длиной корней 1–2 см. Корни контрольных проростков погружали в раствор Кнопа или дистиллированную воду через перфорированную пластиковую пластину, а опытных – в раствор с добавлением препаратов. Корни проростков находились в растворе Кнопа или дистиллированной воде в течение всего времени опыта (3 суток).

Для определения фракций белков (альбуминов, глобулинов, проламинов и глютелинов) и активности пероксидазы неотделенные корни кукурузы погружали в растворы Кнопа, содержащие селенсодержащие препараты и толилфлуанид в разных концентрациях на 3 суток. Затем проростки разделяли на корни и надземную часть (далее проростки), измельчали, растирали и центрифугировали. Белки экстрагировали по методу Ермакова–Дурыниной [21]. Содержание отдельных фракций белков определяли по методу Брэдфорда [22]. Контролем

² Чесноков В.А., Базырина Е.Н., Бушуева Т.М., Ильинская Н.Л. *Выращивание растений без почвы*. Ленинград: Издательство Ленинградского университета; 1960. 170 с. [Chesnokov V.A., Bazyrina E.N., Bushueva T.M., Il'inskaya N.L. *Growing plants without soil*. Leningrad: Izd. Leningrad. Univ.; 1960. 170 p.]

³ ГОСТ 6709-72. Межгосударственный стандарт. Вода дистиллированная. Технические условия. М.: Стандартинформ; 2010. [GOST 6709-72. Interstate Standard. Distilled water. Specifications. Moscow: Standartinform; 2010.]

⁴ https://www.lumex.ru/complete_solutions/11ar03_01_02_1.php. Дата обращения: 18.04.2020. / Accessed April 18, 2020.

служили проростки кукурузы, корни которых находились в растворе Кнопа без добавления препаратов.

Активность пероксидазы определяли по методу Бояркина при длине волны 610 нм. Метод основан на измерении времени, за которое в опытном растворе достигается определенная оптическая плотность ($E = 0.250$). Рассчитывалось изменение оптической плотности за 1 с в расчете на 1 г сырой ткани. В качестве субстрата использовали бензидин, в результате окисления которого образуется соединение синего цвета [23].

Определение наличия элементарного селена проводили качественной реакцией по Файглюю и Весту [24]. Общее содержание селена в корнях и проростках кукурузы определяли флуориметрическим методом с диаминафталином⁵.

Статистический анализ осуществляли с использованием теста Дункана и компьютерной статистической программе Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

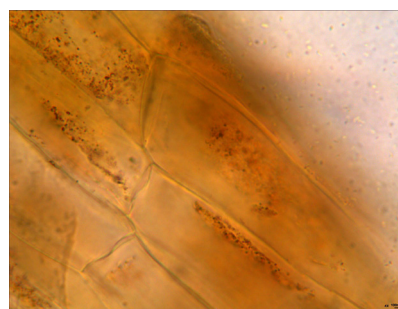
Влияние ДАФС-25 и толилфлуанида на истечение электролитов из клеток корней растений кукурузы

При добавлении ДАФС-25 в раствор Кнопа на корнях проростков кукурузы идет реакция с образованием красной модификации элементарного селена (рис. 1а). При микроскопировании можно отметить образование гранул элементарного селена и сильный плазмолиз, что говорит об увеличении водопроницаемости клеточных мембран и истечения электролитов из клеток корня. Повышение водопроницаемости клеточных мембран характерно для некоторых тиоловых ядов [19].

Плазмолиз клеток корней кукурузы также отмечался в варианте с толилфлуанидом (рис. 1б). Таким образом, отделение протопласта от стенки клеток корня кукурузы взаимосвязано с наличием тиолового яда в растворе Кнопа.

Тиоловые яды могут нарушать работу калиевых каналов [19] и вызывают истечение электролитов из клеток. Для определения истечения электролитов из клеток корней, в качестве питательного раствора использовали дистиллированную воду вместо раствора Кнопа (табл. 1).

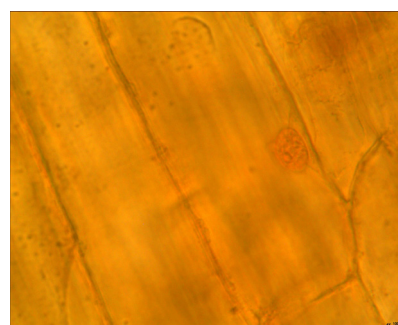
⁵ МУК 4.1.033-95. Методы контроля. Химические факторы. Определение селена в продуктах питания. Методические указания. М.: Информ.-изд. центр Госкомсанэпиднадзора России; 1995. [MUK 4.1.033-95. Methods of control. Chemical factors. Determination of selenium in food. Methodical instructions. Moscow: Inform.-izd. Tsentr Goskomsanepidnadzora Rossii; 1995.]



(а)



(б)



(в)

Рис. 1. Вид корней проростков кукурузы при 100-кратном увеличении: (а) ДАФС-25 в растворе Кнопа (0.025 мг Se/л, 0.16 ммоль/л); (б) толилфлуанид (0.16 ммоль/л), (в) контроль.

Fig. 1. Maize roots with 100× magnification: (a) DAPS-25 in Knop's solution (0.025 mg Se/L, 0.16 mM/L), (b) tolylfluamide (0.16 mM/L), (c) control.

Таким образом, по данным табл. 1, можно судить о том, что ДАФС-25 способствует истечению электролитов из клеток корня, увеличивает водопроницаемость клеточных мембран, вызывая плазмолиз. Определение катионов, методом капиллярного электрофореза, показало наличие ионов аммония, калия, натрия, магния и кальция (табл. 2).

Анализ электрофореграмм и табл. 2 свидетельствует о том, что ДАФС-25 стимулирует истечение из клеток корня преимущественно катионов калия, а также катионов аммония, который по ионному радиусу очень похож на ион калия [25], что говорит о вероятной модификации ионных калиевых каналов ДАФС-25. В ионных калиевых каналах и аквапоридах присутствуют остатки аминокислоты цистеина [26], что делает их чувствительными

Таблица 1. Электропроводность растворов из-под корней проростков кукурузы сорта «Краснодарский 291 АМВ» (мкСм/см²)***Table 1.** Electrical conductivity of solution from roots of maize, *Krasnodarsky 291 AMV* ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$)*

| Сутки Days | Контроль, мкСм/см Control, $\mu\text{S}/\text{cm}$ | ДАФС-25, 0.025 мг Se/л, мкСм/см DAPS-25, 0.025 mg Se/L, $\mu\text{S}/\text{cm}$ |
|---------------|---|--|
| 3 | 2.13 ± 0.17 a | 2.04 ± 0.14 a |
| 4 | 13.61 ± 0.54 b | 70.24 ± 3.51 b |
| 6 | 12.97 ± 0.65 b | 265.20 ± 26.52 c |

* Значения в столбцах с одинаковыми буквами статистически не различаются согласно тесту Дункана при величине достоверности $p < 0.05$. / Values in columns with the same letters are not statistically different according to Duncan's test with a significance value of $p < 0.05$.

Таблица 2. Катионы электролита из-под корней проростков кукурузы сорта «Краснодарский 291 АМВ» (мг/л)***Table 2.** Cations of solutions from roots of maize, *Krasnodarsky 291 AMV* (mg/L)*

| Варианты Variants | Катионы / Cations | | | | |
|--|-------------------|----------------|---------------|------------------|------------------|
| | NH_4^+ | K^+ | Na^+ | Mg^{2+} | Ca^{2+} |
| Контроль Control | 0.34 ± 0.01 a | 3.57 ± 0.04 a | 1.82 ± 0.04 a | 0.37 ± 0.01 a | 0.96 ± 0.013 a |
| ДАФС-25 DAPS-25 | 19.72 ± 0.78 b | 52.17 ± 1.56 b | 4.69 ± 0.15 b | 7.22 ± 0.02 b | 4.84 ± 0.17 b |
| Кратность увеличения истечения катионов, ДАФС-25, раз Multiplicity of increase in the expiration of cations, DAPS-25, times | 58.0 | 14.6 | 2.6 | 19.5 | 5.0 |

* Значения в столбцах с разными буквами различаются при величине достоверности $p < 0.001$. / Values in columns with different letters are significantly different at $p < 0.001$.

к воздействию тиольных ядов – ионов ртути [27] и серебра [28] и последующему блокированию ионных каналов.

Аналогично происходило истечение электролитов из клеток корня в опыте с другим сортом кукурузы с добавлением ДАФС-25 и толилфлуанида (табл. 3).

Истечение электролитов в данном опыте наиболее активно проходило в варианте с

ДАФС-25 и в значительно меньшей степени в варианте с толилфлуанидом. Анализ методом капиллярного электрофореза также показал наличие ионов аммония, калия, натрия, магния и кальция (табл. 4).

Истечение ионов аммония из клеток корней кукурузы в 42 и 1.5 раза превосходит контроль в вариантах с ДАФС-25 и толилфлуанидом, а ионов калия в 16.7 и 4.4 раза соответственно.

Таблица 3. Электропроводность растворов из-под корней проростков кукурузы сорта «Утренняя песня» (мкСм/см²)***Table 3.** Electrical conductivity of solution from roots of maize, *Utrennyaya Pesnya* ($\mu\text{S}/\text{cm}^2$)*

| Сутки Days | Контроль Control | ДАФС-25, 0.025 мг Se/л, 0.16 ммоль/л DAPS-25, 0.025 mg Se/L, 0.16 mmol/L | Толлилфлуанид, 0.16 ммоль/л Tolylfluaniid, 0.16 mmol/L |
|---------------|---------------------|---|---|
| 3 | 2.047 ± 0.08 | 1.890 ± 0.1 | 1.789 ± 0.05 |
| 6 | 6.12 ± 0.36 | 101.7 ± 6.1 | 21.79 ± 1.1 |

* Значения с одинаковыми индексами статистически не различаются согласно тесту Дункана при $p < 0.05$. / Values with the same indices do not differ statistically according to the Duncan's test at $p < 0.05$.

Таблица 4. Катионы электролита из-под корней проростков кукурузы сорта «Утренняя песня» (мг/л)*
Table 4. Electrolyte cations of solution from roots of maize, *Utrennyaya Pesnya* (mg/L)*

| Варианты Variants | Катионы / Cations | | | | |
|--|-------------------|----------------|----------------|------------------|------------------|
| | NH_4^+ | K^+ | Na^+ | Mg^{2+} | Ca^{2+} |
| Контроль Control | 0.164 ± 0.01 a | 1.16 ± 0.04 a | 0.268 ± 0.04 a | 0.41 ± 0.01 a | 1.76 ± 0.01 a |
| ДАФС-25 DAPS-25 | 6.90 ± 0.78 b | 19.36 ± 1.56 b | 0.96 ± 0.15 b | 3.58 ± 0.02 b | 3.39 ± 0.17 b |
| Толлифлуанид Tolylfluaniid | 0.25 ± 0.03 c | 5.10 ± 0.15 c | 0.56 ± 0.01 c | 0.77 ± 0.02 c | 2.26 ± 0.05 c |
| Кратность увеличение истечения катионов, ДАФС-25/толлифлуанид, раз Multiplicity increase in the expiration of cations, DAPS-25/tolylfluaniid, times | 42.0/1.52 | 16.7/4.4 | 3.56/2.0 | 8.7/1.88 | 1.9/1.3 |

* Значения в столбцах с разными буквами статистически различаются согласно тесту Дункана при $p < 0.05$. / Values in columns with different letters are statistically different according to Duncan's test at $p < 0.05$.

Истечение ионов натрия и кальция в 3.6 и 1.9 раз выше в вариантах с ДАФС-25 и толлифлуанидом. Концентрация ионов магния в растворе выше в 8.7 и 1.9 раз в вариантах с ДАФС-25 и толлифлуанидом по сравнению с контролем. В целом, толлифлуанид более селективен в отношении ионных каналов, чем ДАФС-25, и способствует истечению в основном катионов калия. Следует отметить отсутствие белка в исследованных растворах, что говорит об отсутствии разрушения клеточной стенки корней растений.

В наших исследованиях ДАФС-25 (I) взаимодействует с восстановленным глутатионом и L-цистеином с образованием элементарного селена и ацетофенона (II) [29–31]. В результате первой реакции образуется ацетофенон и S-(ацетофенилселенил)цистеин (III) (рис. 2). Это селеносульфидное соединение (III) детектируется методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Аналогичное вещество – S-(ацетофенилселенил)глутатион – образуется при взаимодействии восстановленного глутатиона и ДАФС-25.

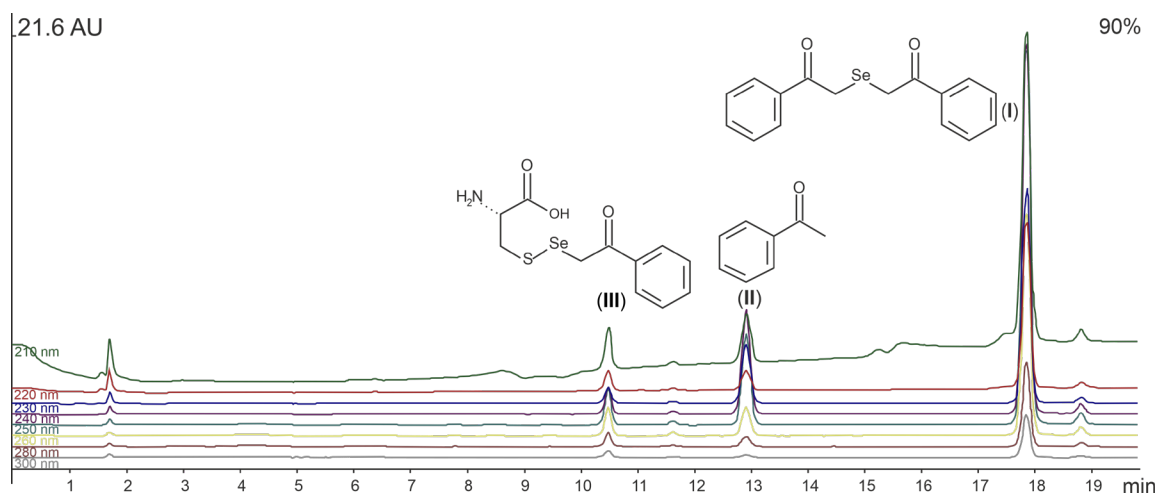


Рис. 2. Хроматограмма реакционной смеси, полученной при взаимодействии ДАФС-25 и цистеина (молярное соотношение 1:1, pH 7.0).

Fig. 2. Chromatogram of a reaction mixture obtained in DAPS-25 and cysteine interaction (molar ratio 1:1, pH 7.0).

Возможно, что ДАФС-25 взаимодействует с цистеиновыми остатками в аквапоринах и калиевых каналах, увеличивая водопроницаемость клеточных мембран корней кукурузы (рис. 3а).

Кроме этого, истечение электролитов из клеток растений и их плазмолиз при добавлении толилфлуанида (IV) говорит об общем механизме действия обоих веществ в модификации ионных каналов (рис. 3б).

Влияние ДАФС-25 и толилфлуанида на содержание и фракции белков растений кукурузы

При потере электролитов и обезвоживании организма наблюдается повышение концентрации белков и в первую очередь альбуминов [32]. Известно, что суммарный белок растений включает в себя альбумины и проламины – преимущественно низкомолекулярные, водорастворимые

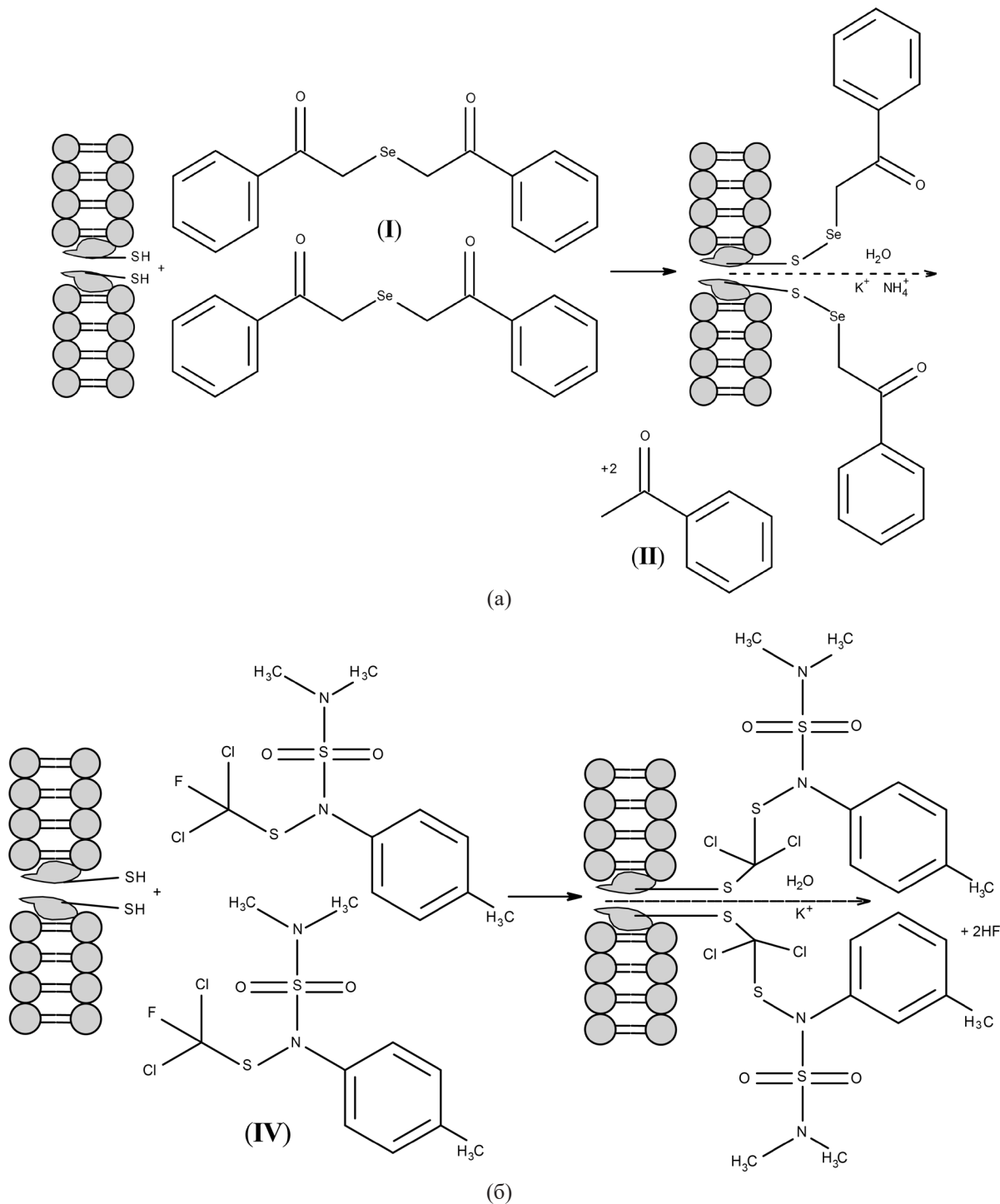


Рис. 3. Схема взаимодействия ДАФС-25 (а) и толилфлуанида (б) с сульфгидрильными группами в ионных каналах клеток растений кукурузы.

Fig. 3. Interaction of DAPS-25 (a) and tolylfluamide (b) with sulfhydryl groups in ionic channels of maize cells.

и спирторастворимые белки, а также глобулины – белки, растворимые в растворах солей. Последнюю группу так называемых запасных высокомолекулярных белков составляют щелочерастворимые белки – глютелины.

Истечение электролитов из клеток растений кукурузы вызывает их обезвоживание и увеличивает концентрацию белков в них (рис. 4).

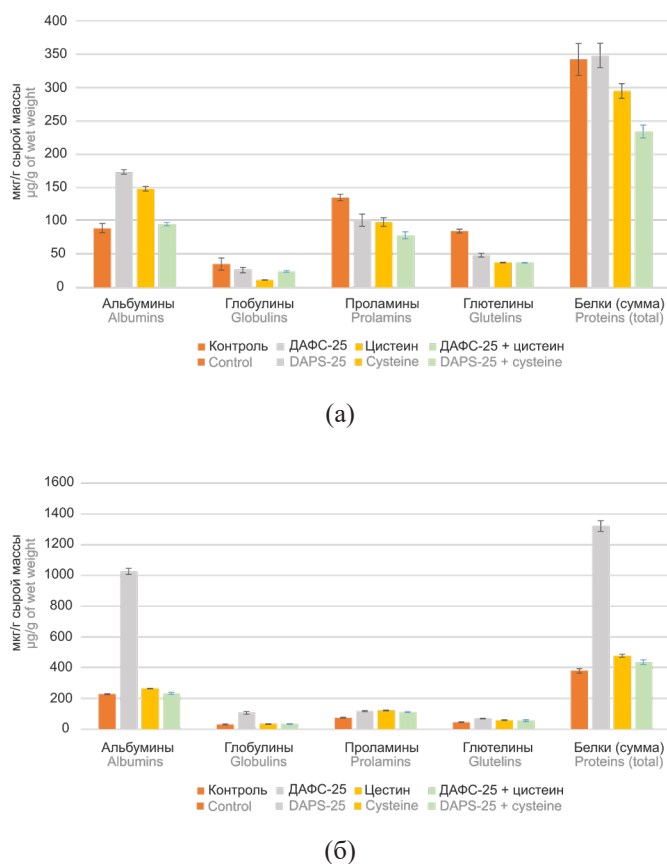


Рис. 4. Влияние ДАФС-25, цистеина и их смеси на количественный состав фракций белка в корнях (а) и надземной части (б) проростков кукурузы (сорт «Краснодарский 291 АМВ»).

Fig. 4. Effect of DAPS-25, cysteine, and their mixture on quantitative composition of protein fractions in roots (a) and sprouts (b) of maize seedlings (*Krasnodarsky 291 AMV*).

ДАФС-25 увеличивал содержание альбуминов в надземной части в 4.5 раза, глобулинов – в 3.5 раза, проламинов и глютелинов – в 1.5 раза, а белка в сумме в 3.5 раза. По-видимому, ДАФС-25 вызывает обезвоживание клеток корней кукурузы за счет потери электролитов, что приводит к повышению концентрации белков. В другом опыте, с толилфлуанидом и ДАФС-25 также происходило увеличение фракции альбуминов и концентрации общего белка в корнях и надземной части проростков кукурузы (рис. 5).

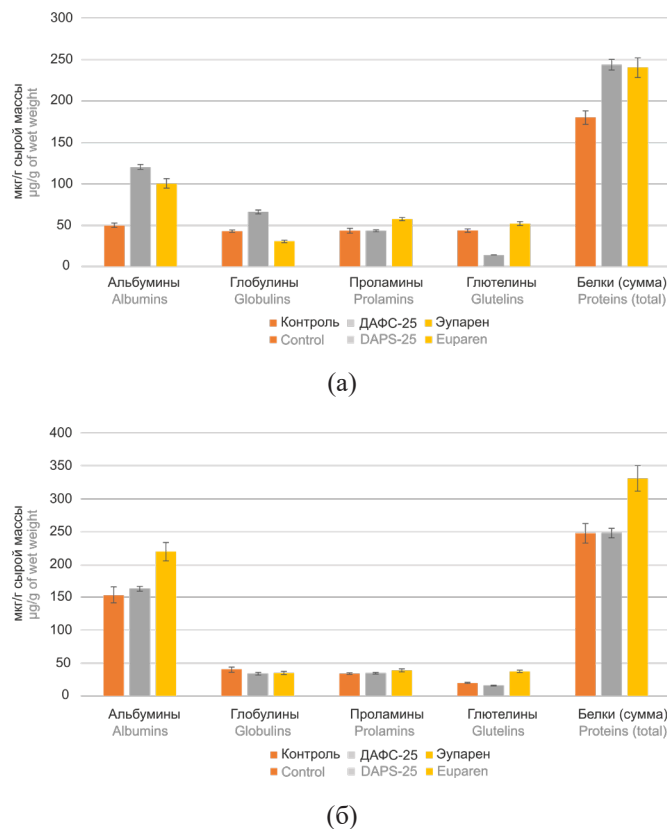


Рис. 5. Влияние ДАФС-25 и толилфлуанида на количественный состав фракций белка в корнях (а) и надземной части (б) проростков кукурузы (сорт «Утренняя песня»).

Fig. 5. Effect of DAPS-25 and tolylfluanide on quantitative composition of protein fractions in roots (a) and sprouts (b) of maize seedlings (*Utrennyaya Pesnya*).

Как и в предыдущем исследовании, содержание альбуминов в корнях в варианте с ДАФС-25 возросло в 2.4 раза, с толилфлуанидом в 2 раза. В надземной части содержание альбуминов изменялось менее значительно: в варианте с ДАФС-25 возросло на 6%, с толилфлуанидом в 1.4 раза. Концентрация остальных фракций белков изменяется менее значительно.

Таким образом, в вариантах с тиоловыми ядами – ДАФС-25 и толилфлуанидом – повышалось содержание фракции альбуминов и общего белка как в корнях, так и в надземной массе растений, что говорит об их обезвоживании.

Антидотом тиоловых ядов является аминокислота L-цистеин, которая содержит сульфгидрильную группу. Добавление L-цистеина в раствор Кнопа, содержащий ДАФС-25, показало, что содержание фракции альбуминов и суммарного белка в растениях кукурузы отличались от контроля не более чем на 10–20%. L-цистеин нивелировал действие ДАФС-25 (рис. 5), т.е. являлся его антидотом.

Влияние ДАФС-25 и толилфлуанида на активность пероксидазы в растениях кукурузы

Повышение содержания белка в тканях растений за счет потери электролитов под воздействием тиоловых ядов также должно приводить к повышению содержания белков-ферментов, и, как следствие, увеличению их активности. ДАФС-25 оказывал существенное влияние на активность пероксидазы как в корнях, так и проростках кукурузы (рис. 6а, 6б).

ДАФС-25 почти во всех концентрациях резко стимулировал активность фермента. Наиболее значительное увеличение активности пероксидазы наблюдалось в первые сутки под действием самой высокой концентрации ДАФС-25 – 0.025 мг Se/л (63% в корнях и 112% в надземной части), менее значительное – при концентрации 0.0025 мг Se/л (29% в корнях и 57% в надземной части). В конце эксперимента ДАФС-25 в концентрации 0.00025 мг Se/л оказывал стимулирующее действие на активность пероксидазы в варианте

с корнями – 29% (рис. 7а) и слабое ингибирующее влияние в проростках – 8.6% (рис. 7б). В контроле в ходе эксперимента активность пероксидазы в проростках изменялась мало, в корнях слегка повышалась.

Аналогично с другим сортом кукурузы, в варианте с ДАФС-25 отмечается повышение активности пероксидазы по сравнению с контролем (рис. 7в, 7г). В корнях кукурузы активность пероксидазы в варианте с толилфлуанидом на 73%, а с ДАФС-25 на 36% выше контроля. В надземной части в начале опыта активность пероксидазы выше в варианте с толилфлуанидом на 60%, а в конце опыта в варианте с ДАФС-25 на 95%. Таким образом, толилфлуанид, как и ДАФС-25, увеличивает активность пероксидазы, имея сходный механизм действия.

Известно, что тиолзависимые окислительно-восстановительные механизмы могут модулировать активность аденозинтрифосфат-зависимого K^+ канала в бета-клетке поджелудочной железы [33]. Окисление сульфгидрильных групп ртутьсодержащим

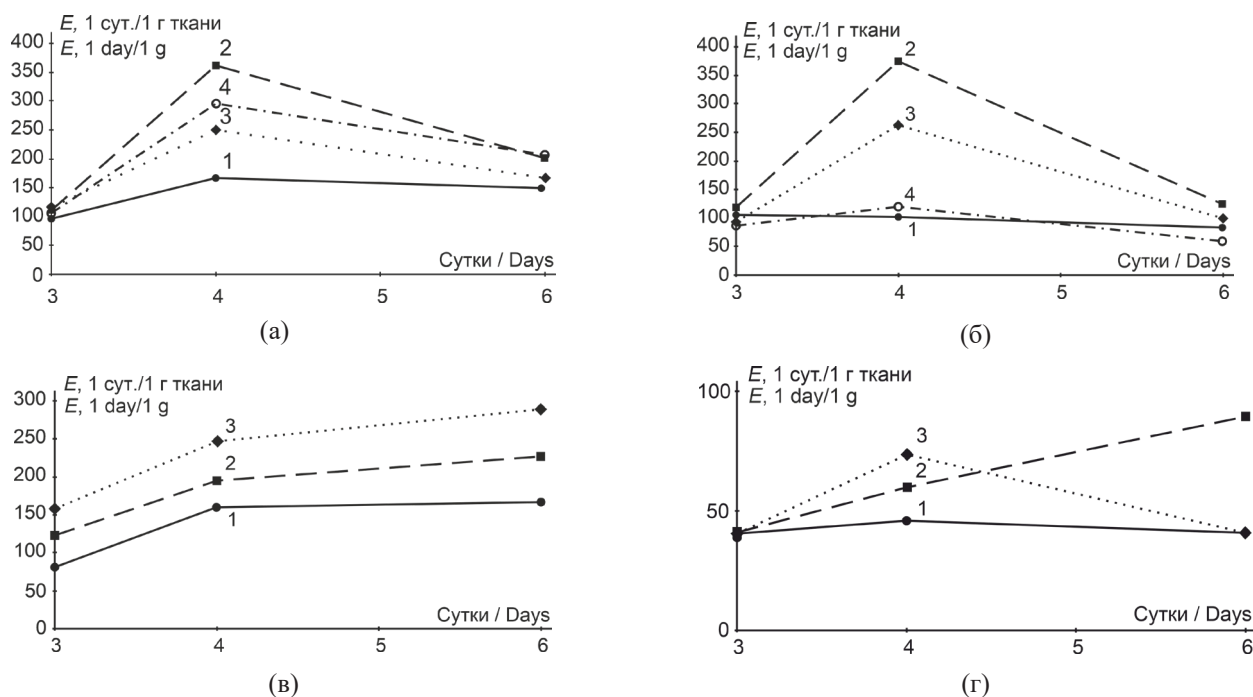


Рис. 6. Влияние ДАФС-25 на пероксидазную активность в корнях (а) и надземной части (б) проростков кукурузы (сорт «Краснодарский 291 АМВ»). 1 – Контроль; 2 – 0.025 мг Se/л; 3 – 0.0025 мг Se/л; 4 – 0.00025 мг Se/л.

Влияние ДАФС-25 и толилфлуанида на активность пероксидазы в корнях (в) и надземной части (г) проростков кукурузы (сорт «Утренняя песня»). 1 – Контроль; 2 – ДАФС-25 (0.025 мг Se/л); 3 – толилфлуанид.

По оси ординат – изменение оптической плотности (E_{610}); по оси абсцисс – время обработки, начиная с 3 суток от момента начала проращивания кукурузы.

Fig. 6. Effect of DAPS-25 on peroxidase activity in roots (a) and sprouts (b) on maize seedlings (*Krasnodarsky 291 AMV*).

1 – Control; 2 – 0.025 mg Se/L; 3 – 0.0025 mg Se/L; 4 – 0.00025 mg Se/L. Effect of DAPS-24 and tolylfluamide on peroxidase activity in roots (c) and sprouts (d) of maize seedlings (*Utrennyaya Pesnya*). 1 – Control;

2 – DAPS-25 (0.025 mg Se/L); 3 – tolylfluamide. The ordinate is the change in optical density (E_{610});

the abscissa axis is the processing time, starting from 3 days from the moment of the beginning of the corn germination.

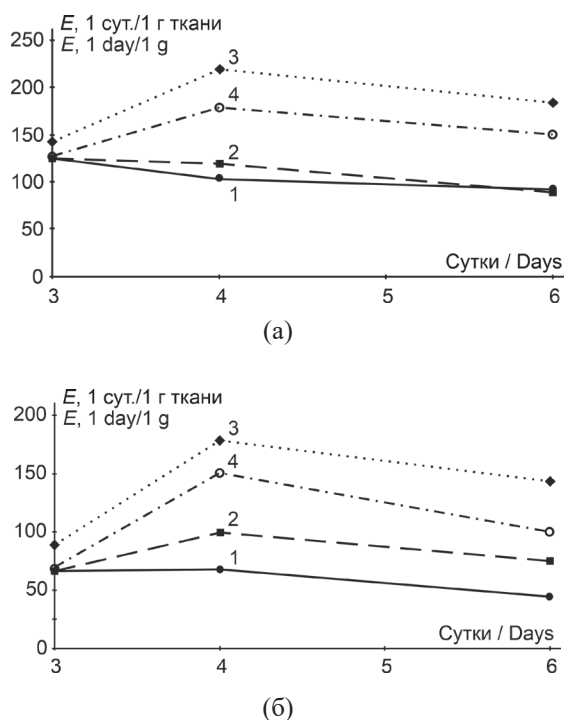


Рис. 7. Изменение активности пероксидазы в корнях (а) и надземной части (б) проростков кукурузы, в варианте с ДАФС-25 при добавлении L-цистеина. По оси ординат – изменение оптической плотности (E_{610}); по оси абсцисс – время обработки, начиная с 3 суток от момента начала проращивания кукурузы. 1 – Контроль; 2 – 0.1% L-цистеин; 3 – 0.025 мг Se/л ДАФС-25; 4 – 0.025 мг Se/л ДАФС-25 + 0.1% L-цистеин.

Fig. 7. Changes in peroxidase activity in roots (a) and sprouts (b) of maize seedlings treated with DAPS-25 and L-cysteine. The ordinate is the change in optical density (E_{610}); the abscissa axis is the processing time, starting from 3 days from the moment of the beginning of the corn germination. 1 – Control; 2 – 0.1% L-cysteine; 3 – 0.025 mg Se/L DAPS-25; 4 – 0.025 mg Se/L DAPS-25 + 0.1% L-cysteine.

тимеросалом и 2,2'-дитио-бис-(5-нитропиридином) (DTBNP) в микромолярных концентрациях вызывает быстрое блокирование канала, обратимое тиолами – дитиотреитолом и цистеином. Также избыток тиолов восстанавливает работу аквапоринов, заблокированных ионами ртути, серебра и других тяжелых металлов [26–28]. По всей видимости, ДАФС-25, взаимодействуя с сульфгидрильными группами, блокирует ионные каналы, что приводит к истечению электролитов из клетки (табл. 2 и 4), и, как следствие, к увеличению концентрации белков (рис. 5, 6) и активности пероксидазы (рис. 7). Соответственно, избыток L-цистеина должен восстановить работу ионных каналов, прекратить истечение электролитов из клетки, уменьшить концентрацию белков практически до значений контроля, и, как следствие, снизить активность пероксидазы.

В нашем исследовании, аминокислота L-цистеин снижает активность пероксидазы как в корнях, так и в надземной части кукурузы (рис. 7а, 7б).

В данном опыте пероксидаза показывала наибольшую активность в первые сутки в варианте с ДАФС-25 в концентрации 0.025 мг Se/л как в корнях, так и в надземной части (на 69% и 129% превышая контроль соответственно). В смеси ДАФС-25 (0.025 мг Se/л) с L-цистеином (0.1%) происходило значительное снижение активности пероксидазы до 42% и 79% в сравнении с вариантом, где был добавлен только ДАФС-25. Снижение активности пероксидазы говорит об уменьшении блокирующего действия ДАФС-25 в отношении ионных каналов клеток растений кукурузы, уменьшению истечения электролитов и снижению концентрации белков, в том числе фермента пероксидазы.

Аналогичное, но намного более слабое воздействие на повышение активности пероксидазы оказывает неорганическая соль селена – селенит натрия

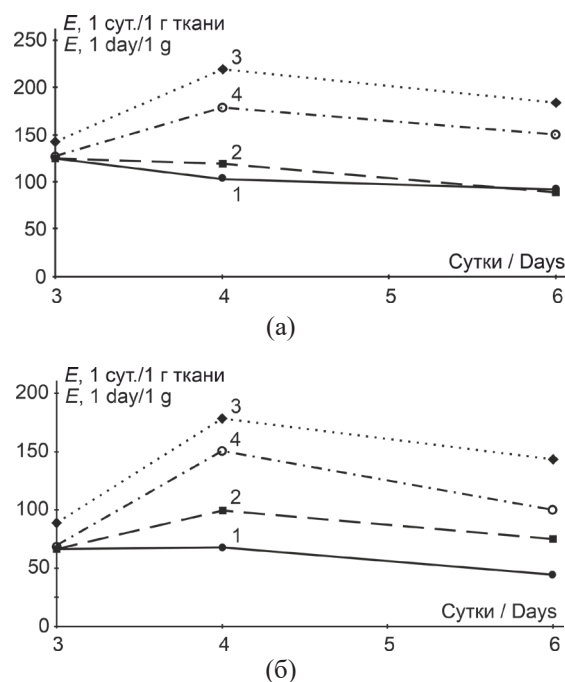


Рис. 8. Влияние селенита натрия Na_2SeO_3 на активность пероксидазы в корнях (а) и надземной части (б) проростков кукурузы. По оси ординат – изменение оптической плотности (E_{610}); по оси абсцисс – время обработки, начиная с 3 суток от момента начала проращивания кукурузы. 1 – Контроль; 2 – 0.025 мг Se/л; 3 – 0.0025 мг Se/л; 4 – 0.00025 мг Se/л.

Fig. 8. Effect of sodium selenite Na_2SeO_3 on peroxidase activity in roots (a) and sprouts (b) of maize seedlings. The ordinate is the change in optical density (E_{610}); the abscissa axis is the processing time, starting from 3 days from the moment of the beginning of the corn germination. 1 – Control; 2 – 0.025 mg Se/L; 3 – 0.0025 mg Se/L; 4 – 0.00025 mg Se/L.

в корнях (рис. 8а) и надземной части растений кукурузы (рис. 8б), который также взаимодействует с сульфгидрильными группами, как и ДАФС-25, образуя селенодисульфиды [34].

В целом, все концентрации селенита натрия начиная с самой высокой (0.025 мг Se/л) низкая концентрация (0.00025 мг Se/л) незначительно стимулирует активность пероксидазы в корнях, ближе к завершению опыта и несколько сильнее в надземной части проростков кукурузы. Вероятно, что относительно слабая стимуляция активности пероксидазы связана с затруднением транспорта отрицательно заряженного селенита-иона внутрь клетки. Так, например, тимеросал, который плохо проникает для мембран, ингибирует активность каналов только при нанесении на внутриклеточную поверхность плазматической мембраны. Напротив, DTBNP, который является липофильным веществом, вызывал блокирование калиевого канала и, как следствие, деполяризацию мембранного потенциала даже при внеклеточном применении [35].

В опыте с аминокислотой L-селеноцистином, которая также взаимодействует с сульфгидрильными группами, пероксидазоподобная активность была повышена на 8.8–30.3% как в корнях, так и в надземной части растения в течение всего опыта (рис. 9).

Самая низкая концентрация L-селеноцистина (0.00025 мг Se/л) слабо стимулирует активность пероксидазы в корнях и надземной части проростков кукурузы. Более значительное увеличение активности пероксидазы наблюдается под действием средней концентрации (0.0025 мг Se/л) и в меньшей степени под действием высокой (0.025 мг Se/л) в надземной части проростков кукурузы.

Полученные данные позволяют говорить о сходной зависимости увеличения активности пероксидазы в проростках кукурузы селенита и L-селеноцистина. По-видимому, L-селеноцистин, как аминокислота и менее полярное соединение, чем селенит, легче поступает в клетку и, взаимодействуя с сульфгидрильными группами клетки, вызывает более сильную индукцию активности

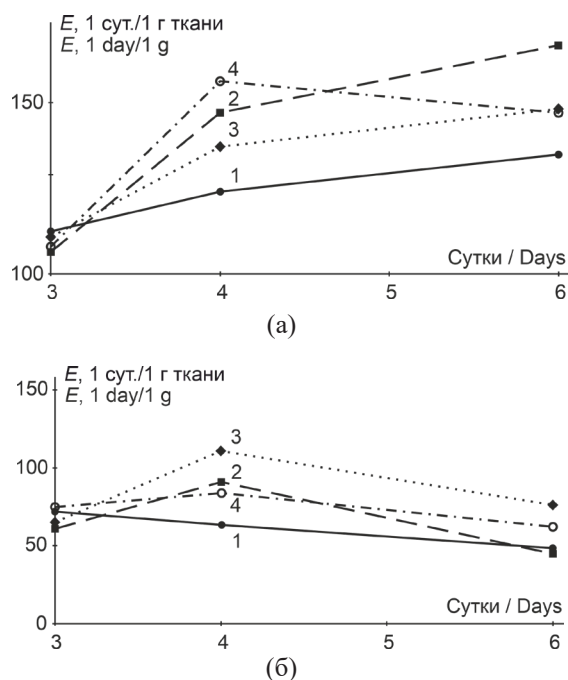


Рис. 9. Влияние L-селеноцистина (Sec) на активность пероксидазы в корнях (а) и надземной части (б) проростков кукурузы. По оси ординат – изменение оптической плотности (E_{610}); по оси абсцисс – время обработки, начиная с 3 суток от момента начала проращивания кукурузы. 1 – Контроль; 2 – 0.025 мг Se/л; 3 – 0.0025 мг Se/л; 4 – 0.00025 мг Se/л.

Fig. 9. Effect of L-selenocystine (Sec) on peroxidase activity in roots (a) and sprouts (b) of maize seedlings. The ordinate is the change in optical density (E_{610}); the abscissa axis is the processing time, starting from 3 days from the moment of the beginning of the corn germination.

1 – Control; 2 – 0.025 mg Se/L; 3 – 0.0025 mg Se/L; 4 – 0.00025 mg Se/L.

пероксидазы по сравнению с неорганической солью селена.

Общее содержание селена в корнях проростков кукурузы также зависит от наличия тиолов в растворе. Оно максимально в варианте с ДАФС-25 и значительно ниже в варианте совместного использования ДАФС-25 и L-цистеина (табл. 5).

Снижение общего содержания селена говорит о снижении поступления ДАФС-25 в растение

Таблица 5. Содержание селена в корнях и надземной части проростков кукурузы (мкг/кг сухой массы)

Table 5. Selenium content in roots and sprouts of maize seedlings ($\mu\text{g}/\text{kg}$ of dry weight)

| Часть растения Plant part | Контроль Control | ДАФС-25 0.025 мг Se/л DAPS-25 0.025 mg Se/L | ДАФС-25 0.025 мг Se/л + цистеин, 0.1% DAPS-25 0.025 mg Se/L + cysteine, 0.1% |
|------------------------------|---------------------|--|---|
| Корни / Roots | 40 ± 3 a | 19300 ± 428 c | 4853 ± 167 e |
| Надземная часть / Sprouts | 53 ± 4 b | 5099 ± 278 d | 4812 ± 135 e |

из-за наличия экзогенных сульфгидрильных групп L-цистеина в растворе, а не в тканях корней проростков кукурузы, что также подтверждает действие серосодержащей аминокислоты, как антидота тиольных ядов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что тиолзависимые окислительно-восстановительные механизмы действия ДАФС-25 и органического тиолового яда – толилфлуанида – увеличивают водопроницаемость мембран клеток корней кукурузы, что приводит к утечке электролитов. Действие тиоловых ядов приводит к плазмолизу клеток растений кукурузы и увеличению концентрации белков, в первую очередь альбуминов. Повышение содержания белков в биомассе растений приводит к увеличению концентрации фермента, и, как следствие, к увеличению активности пероксидазы. Добавление в раствор, содержащий ДАФС-25, тиола – L-цистеина – приводит к уменьшению концентрации белков в биомассе растений и снижению активности пероксидазы. Аналогично, но значительно слабее по сравнению с липофильными ДАФС-25 и толилфлуанидом, увеличивают активность пероксидазы селенит натрия и L-селеноцистин, также взаимодействующие с сульфгидрильными группами клеток пероксидазы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Behn D., Weiss-Nowak C., Kalcklösch M., Westphal C., Gessner H., Kyriakopoulos A. Studies on the distribution and characteristics of new mammalian selenium-containing proteins. *Analyst*. 1995;120(3):823–825. <https://doi.org/10.1039/an9952000823>
2. Sies H. Ebselen, a selenoorganic compound as glutathione peroxidase mimic. *Free Radic. Biol. Med.* 1993;14(3):313–323. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(93\)90028-s](https://doi.org/10.1016/0891-5849(93)90028-s)
3. Древки Б.И., Антипов В.А., Жуков О.И. и др. *Средство для лечения и профилактики болезней, вызываемых недостаточностью селена в организме сельскохозяйственных животных и птиц*; пат. 2051681 РФ. Заявка № 93045743/15, заявл. 24.09.1993; опубл. 10.01.1996.
4. Усубова Е.З., Жижяев А.М., Миронов П.В. Влияние селена на физиологические показатели и продуктивность фасоли сорта «сакса» (*Phaseolus vulgaris* L.). *Фундаментальные исследования*. 2012;(3):257–260.

Вклад авторов

П.А. Полубоьяринов, Н.И. Щетинина, Н.А. Голубкина – выполнение экспериментов;
П.А. Полубоьяринов, И.Я. Моисеева, Н.И. Микуляк – написание текста статьи, анализ полученных результатов;
Н.А. Голубкина, А.П. Каплун, И.Я. Моисеева – научное редактирование;
П.А. Полубоьяринов, А.П. Каплун – идея исследования, общее руководство.

Authors' contributions

P.A. Poluboyarinov, N.V. Shchetinina, N.A. Golubkina – conducting the experiments;
P.A. Poluboyarinov, I.Ya. Moiseeva, N.I. Mikulyak – writing the text of the article and the analysis of the obtained results;
N.A. Golubkina, A.P. Kaplun, I.Ya. Moiseeva – scientific editing;
P.A. Poluboyarinov, A.P. Kaplun – idea of the study and general management.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

The authors declare no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

REFERENCES

1. Behn D., Weiss-Nowak C., Kalcklösch M., Westphal C., Gessner H., Kyriakopoulos A. Studies on the distribution and characteristics of new mammalian selenium-containing proteins. *Analyst*. 1995;120(3):823–825. <https://doi.org/10.1039/an9952000823>
2. Sies H. Ebselen, a selenoorganic compound as glutathione peroxidase mimic. *Free Radic. Biol. Med.* 1993;14(3):313–323. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(93\)90028-s](https://doi.org/10.1016/0891-5849(93)90028-s)
3. Drevko B.I., Antipov V.A., Zhukov O.I., et al. *Means for the treatment and prevention of diseases caused by selenium deficiency in the body of farm animals and birds*; RF Pat. 2051681. Publ. 10.01.1996. (in Russ.).
4. Usubova E.Z., Zhizhaev A.M., Mironov P.V. Effect of selenium on physiological parameters and efficiency of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Fundamental'nye issledovaniya = Fundamental Research*. 2012;(3):257–260 (in Russ.).

5. Полубояринов П.А., Голубкина Н.А. Изучение биохимической функции селена и его влияние на содержание белковых фракций и активность пероксидазы в проростках кукурузы. *Физиология растений*. 2015;62(3):396–403. <https://doi.org/10.7868/S0015330315030161>
6. Castillo-Godina R.G., Foroughbakhch-Pournavab R., Benavides-Mendoza A. Effect of selenium on elemental concentration and antioxidant enzymatic activity of tomato plants. *J. Agr. Sci. Tech.* 2016;18(1):233–244.
7. Huang C., Qin N., Sun L., Yu M., Hu W., Qi Z. Selenium improves physiological parameters and alleviates oxidative stress in strawberry seedlings under low-temperature stress. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19(7):1900–1913. <https://doi.org/10.3390/ijms19071913>
8. Bebien M., Lagniel G., Garin J., Touati D., Vermeglio A., Labarre J. Involvement of superoxide dismutases in the response of *Escherichia coli* to selenium oxides. *J. Bacteriol.* 2002;184(6):1556–1564. <https://doi.org/10.1128/jb.184.6.1556-1564.2002>
9. Строгов В.В., Родионова Т.Н. Влияние селена на функциональное состояние и хозяйственно-полезные качества пчелиных семей. *Вестник ветеринарии*. 2011;59(4):150–152.
10. Wang H.W., Cai D.B., Xiao G.H., Zhao C.L., Wang Z.H., Xu H.M., Guan Y.Q. Effects of selenium on the activity of antioxidant enzymes in the shrimp, *Neocaridina heteropoda*. *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh*. 2009;61(4):322–332.
11. Боряев Г.И., Гаврюшина И.В., Федоров Ю.Н. Биохимический и физиологический статус ягнят в раннем постнатальном онтогенезе на фоне инъекций соединений селена суягным овцематкам. *Сельскохозяйственная биология*. 2010;45(2):65–70.
12. Dzobo K., Naik Y.S. Effect of selenium on cadmium-induced oxidative stress and esterase activity in rat organs. *South Afr. J. Sci.* 2013;109(5–6):1–8. <https://doi.org/10.1590/sajs.2013/965>
13. Xiao H., Parkin K.L. Induction of phase II enzyme activity by various selenium compounds. *Nutr. Cancer.* 2006;55(2):210–223. https://doi.org/10.1207/s15327914nc5502_13
14. Филов В.А. Бандман А.Л. Волкова Н.В. Грехова Т.Д. *Вредные химические вещества. Неорганические соединения элементов V–VIII групп*. Химия: Ленинград; 1989. С. 263–282.
15. Авцин А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. *Микроэлементозы человека*. М.: Медицина; 1991. С. 196–231.
16. Sahu G.K., Upadhyay S., Sahoo B.B. Mercury induced phytotoxicity and oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) plants. *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 2012;18(1):21–31. <https://doi.org/10.1007/s12298-011-0090-6>
17. Sofo A., Scopa A., Nuzzaci M., Vitti A. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. *Int. J. Mol. Sci.* 2015;16(6):13561–13578. <https://doi.org/10.3390/ijms160613561>
18. Гольшин Н.М. *Фунгициды*. М.: Колос; 1993. 318 с.
19. Yoshida M., Yokimoto M. Effects of fungicides on channels in the fungal membrane. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 1993;47(3):171–177. <https://doi.org/10.1006/pest.1993.1076>
20. Дудка И.А., Вассер С.П. *Методы экспериментальной микологии*. Киев: Наукова Думка; 1982. 550 с.
5. Poluboyarinov P.A., Golubkina N.A. Investigation of the biochemical function of selenium and its influence on the content of protein fractions and peroxidase activity in maize seedlings. *Russ. J. Plant Physiol.* 2015;62(3):367–374. <https://doi.org/10.1134/S1021443715030164>
6. Castillo-Godina R.G., Foroughbakhch-Pournavab R., Benavides-Mendoza A. Effect of selenium on elemental concentration and antioxidant enzymatic activity of tomato plants. *J. Agr. Sci. Tech.* 2016;18(1):233–244.
7. Huang C., Qin N., Sun L., Yu M., Hu W., Qi Z. Selenium improves physiological parameters and alleviates oxidative stress in strawberry seedlings under low-temperature stress. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19(7):1900–1913. <https://doi.org/10.3390/ijms19071913>
8. Bebien M., Lagniel G., Garin J., Touati D., Vermeglio A., Labarre J. Involvement of superoxide dismutases in the response of *Escherichia coli* to selenium oxides. *J. Bacteriol.* 2002;184(6):1556–1564. <https://doi.org/10.1128/jb.184.6.1556-1564.2002>
9. Strogov V.V., Rodionova T.N. Influence of selenium on the functional state and economic parameters of honeybee colonies. *Vestnik veterinarii*. 2011;59(4):150–152 (in Russ.).
10. Wang H.W., Cai D.B., Xiao G.H., Zhao C.L., Wang Z.H., Xu H.M., Guan Y.Q. Effects of selenium on the activity of antioxidant enzymes in the shrimp, *Neocaridina heteropoda*. *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh*. 2009;61(4):322–332.
11. Boryaev G.I., Gavryushina I.V., Fedorov Yu.N. Biochemical and physiological status of lambs in early postnatal ontogenesis against the background of selenium compounds injections to ewe in year. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya = Agricultural Biology*. 2010;45 (2):65–70 (in Russ.).
12. Dzobo K., Naik Y.S. Effect of selenium on cadmium-induced oxidative stress and esterase activity in rat organs. *South Afr. J. Sci.* 2013;109(5–6):1–8. <https://doi.org/10.1590/sajs.2013/965>
13. Xiao H., Parkin K.L. Induction of phase II enzyme activity by various selenium compounds. *Nutr. Cancer.* 2006;55(2):210–223. https://doi.org/10.1207/s15327914nc5502_13
14. Filov V.A. Bandman A.L. Volkova N.V. Grekhova T.D. *Vrednye khimicheskie veshchestva. Neorganicheskie soedineniya elementov V–VIII grupp (Harmful Chemical Substances. Inorganic Compounds of Elements of V–VIII groups)*. Leningrad: Khimiya; 1989. P. 263–282 (in Russ.).
15. Avtsin A.P., Zhavoronkov A.A., Rish M.A., Strohkova L.S. *Mikroelementozy cheloveka (Human Microelementoses)*. Moscow: Meditsina; 1991. P. 196–231 (in Russ.).
16. Sahu G.K., Upadhyay S., Sahoo B.B. Mercury induced phytotoxicity and oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) plants. *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 2012;18(1):21–31. <https://doi.org/10.1007/s12298-011-0090-6>
17. Sofo A., Scopa A., Nuzzaci M., Vitti A. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. *Int. J. Mol. Sci.* 2015;16(6):13561–13578. <https://doi.org/10.3390/ijms160613561>
18. Golyshin N.M. *Fungitsidy (Fungicides)*. Moscow: Kolos; 1993. 318 p. (in Russ.).
19. Yoshida M., Yokimoto M. Effects of fungicides on channels in the fungal membrane. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 1993;47(3):171–177. <https://doi.org/10.1006/pest.1993.1076>

21. Минеев В.Г., Сычев В.Г., Амелянчик О.А., Большева Т.Н., Гомонова Н.Ф., Дурьнина Е.П., Егоров В.С., Егорова Е.В., Едемская Н.Л., Карпова Е.А., Прижуква В.Г. *Практикум по агрохимии*. М.: МГУ; 2001. 689 с.
22. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976;72(1–2):248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
23. Гавриленко В.Ф., Ладыгина М.Е., Хандобина Л.М. *Большой практикум по физиологии растений. Фотосинтез. Дыхание*. М.: Высшая школа; 1975. 392 с.
24. Назаренко И.И., Ермаков А.Н. *Аналитическая химия селена и теллура*. М.: Наука; 1971. 248 с.
25. Угай Я.А. *Неорганическая химия*. М.: Высшая школа; 1989. 463 с.
26. Bienert G.P., Cavez D., Besserer A., Berny M.C., Gilis D., Rooman M., Chaumont F. A conserved cysteine residue is involved in disulfide bond formation between plant plasma membrane aquaporin monomers. *Biochem. J.* 2012;445(1):101–111. <https://doi.org/10.1042/bj20111704>
27. Frick A., Järvå M., Ekvall M., Uzdavinys P., Nyblom M., Törnroth-Horsefield S. Mercury increases water permeability of a plant aquaporin through a non-cysteine-related mechanism. *Biochem. J.* 2013;454(3):491–499. <https://doi.org/10.1042/bj20130377>
28. Sadok W., Sinclair T.R. Transpiration response of 'slow-wilting' and commercial soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) genotypes to three aquaporin inhibitors. *J. Exp. Bot.* 2010;61(3):821–829. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp350>
29. Полубояринов П.А., Вихрева В.А., Лещенко П.П., Ариповский А.Н., Лихачев А.Н. Образование элементарного селена при распаде молекулы селеноорганического препарата ДАФС-25 под влиянием растущего мицелия грибов. *Вестник Московского университета. Серия 16. Биология*. 2009;16(4):33–37.
30. Полубояринов П.А., Лещенко П.П. Качественная реакция на цистеин, восстановленный глутатион и диацетофенонилселенид. *Журн. аналит. химии*. 2013;68(11):1063. <https://doi.org/10.7868/S0044450213110108>
31. Полубояринов П.А., Лещенко П.П., Моисеева И.Я., Колесникова С.Г., Эпштейн Н.Б. Механизм реакции элиминирования селена в диацетофенонилселениде под действием восстановленного глутатиона. *Журн. аналит. химии*. 2017;72(7):633–638. <https://doi.org/10.7868/S0044450217070118>
32. Busher J.T. Serum Albumin and Globulin. In: Walker H.K., Hall W.D., Hurst J.W. (Eds.). *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*: 3rd ed. Boston: Butterworths; 1990. Chapter 101. ISBN 978-0409900774.
33. Islam M.S., Berggren P.O., Larsson O. Sulfhydryl oxidation induces rapid and reversible closure of the ATP-regulated K⁺ channel in the pancreatic β -cell. *FEBS Lett.* 1993;319(1–2):128–132. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(93\)80051-u](https://doi.org/10.1016/0014-5793(93)80051-u)
34. Полубояринов П.А., Елистратов Д.Г., Швец В.И. Метаболизм и механизм токсичности селеносодержащих препаратов, используемых для коррекции дефицита микроэлемента селена. *Тонкие химические технологии*. 2019;14(1):5–24. <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2019-14-1-5-24>
20. Dudka I.A., Vasser S.P. *Metody eksperimental'noi mikologii (Experimental mycology methods)*. Kiev: Naukova Dumka; 1982. 550 p. (in Russ.).
21. Mineev V.G., Sychev V.G., Amel'yanchik O.A., Bolysheva T.N., Gomonova N.F., Durygina E.P., Egorov B.C., Egorova E.V., Edemskaya N.L., Karpova E.A., Prizhukova V.G. *Praktikum po agrokhimii (Practical work on agrochemistry)*. Moscow: MGU; 2001. 689 p. (in Russ.).
22. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976;72(1–2):248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
23. Gavrilenko V.F., Ladygina M.E., Khandobina L.M. *Bol'shoi praktikum po fiziologii rastenii. Fotosintez. Dykhanie (A Large Workshop on Plant Physiology. Photosynthesis. Breath)*. Moscow: Vysshaya shkola; 1975. 392 p. (in Russ.).
24. Nazarenko I.I., Ermakov A.N. *Analiticheskaya khimiya selena i tellura (Analytical Chemistry of Selenium and Tellurium)*. Moscow: Nauka; 1971. 248 p. (in Russ.).
25. Ugai Ya.A. *Neorganicheskaya khimiya (Inorganic Chemistry)*. Moscow: Vysshaya shkola; 1989. 463 p. (in Russ.).
26. Bienert G.P., Cavez D., Besserer A., Berny M.C., Gilis D., Rooman M., Chaumont F. A conserved cysteine residue is involved in disulfide bond formation between plant plasma membrane aquaporin monomers. *Biochem. J.* 2012;445(1):101–111. <https://doi.org/10.1042/bj20111704>
27. Frick A., Järvå M., Ekvall M., Uzdavinys P., Nyblom M., Törnroth-Horsefield S. Mercury increases water permeability of a plant aquaporin through a non-cysteine-related mechanism. *Biochem. J.* 2013;454(3):491–499. <https://doi.org/10.1042/bj20130377>
28. Sadok W., Sinclair T.R. Transpiration response of 'slow-wilting' and commercial soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) genotypes to three aquaporin inhibitors. *J. Exp. Bot.* 2010;61(3):821–829. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp350>
29. Poluboyarinov P.A., Vikhrev V.A., Leshchenko P.P., Aripovsky A.N., Likhachev A.N. Formation of elementary selenium decay of molecules of selenium-organic preparation DAFS-25 under influence of growing micella of mushrooms. *Vestnik Moskovskogo Universiteta. Seriya 16. Biologiya*. 2009;16(4):33–37 (in Russ.).
30. Poluboyarinov P.A., Leshchenko P.P. A qualitative reaction for cysteine, reduced glutathione and diacetophenonyl selenide. *J. Anal. Chem.* 2013;68(11):949–952. <https://doi.org/10.1134/S1061934813110105>
- [Original Russian Text: Poluboyarinov P.A., Leshchenko P.P. A qualitative reaction for cysteine, reduced glutathione and diacetophenonyl selenide. *Zhurnal Analiticheskoi Khimii*. 2013;68(11):1063–1066 (in Russ.). <https://doi.org/10.7868/S0044450213110108>]
31. Poluboyarinov P.A., Leshchenko P.P., Moiseeva I.Ya., Kolesnikova S.G., Epshtein N.B. Mechanism of the reaction of selenium elimination in diacetophenonyl selenide under the action of reduced glutathione. *J. Anal. Chem.* 2017;72(7):739–744. <https://doi.org/10.1134/S1061934817070103>
- [Original Russian Text: Poluboyarinov P.A., Leshchenko P.P., Moiseeva I.Ya., Kolesnikova S.G., Epshtein N.B. Mechanism of the reaction of selenium elimination in diacetophenonyl selenide under the action of reduced glutathione. *Zhurnal Analiticheskoi Khimii*. 2017;72(7):633–638 (in Russ.). <https://doi.org/10.7868/S0044450217070118>]
32. Busher J.T. Serum Albumin and Globulin. In: Walker H.K., Hall W.D., Hurst J.W. (Eds.). *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*: 3rd ed. Boston: Butterworths; 1990. Chapter 101. ISBN 978-0409900774.

33. Islam M.S., Berggren P.O., Larsson O. Sulfhydryl oxidation induces rapid and reversible closure of the ATP-regulated K⁺ channel in the pancreatic β -cell. *FEBS Lett.* 1993;319(1-2):128-132. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(93\)80051-u](https://doi.org/10.1016/0014-5793(93)80051-u)

34. Poluboyarinov P.A., Elistratov D.G., Shvets V.I. Metabolism and mechanism of toxicity of selenium-containing drugs supplements used for optimizing human selenium status. *Tonk. Khim. Tekhnol. = Fine Chem. Technol.* 2019;14(1):5-24 (in Russ.). <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2019-14-1-5-24>

Об авторах:

Полубояринов Павел Аркадьевич, к.с.-х.н., доцент кафедры «Общая и клиническая фармакология» ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет» (440026, Россия, г. Пенза, ул. Красная, д. 40). E-mail: poluboyarinovpavel@yandex.ru. Scopus Author ID 55913331500, SPIN-код РИНЦ 1855-6069, <https://orcid.org/0000-0001-9870-0272>

Щетинина Наталья Викторовна, к.б.н., доцент кафедры «Физиология человека» ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет» (440026, Россия, г. Пенза, ул. Красная, д. 40). E-mail: singl71@list.ru. Scopus Author ID 6603851588, SPIN-код РИНЦ 1027-6691, <https://orcid.org/0000-0002-0076-2553>

Моисеева Инесса Яковлевна, д.м.н., декан лечебного факультета ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет» (440026, Россия, г. Пенза, ул. Красная, д. 40). E-mail: moiseeva_pharm@mail.ru. Scopus Author ID 7004249589, SPIN-код РИНЦ 9607-0306, <https://orcid.org/0000-0003-1168-2871>

Микуляк Надежда Ивановна, д.м.н., заведующий кафедрой «Физиология человека» ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет» (440026, Россия, г. Пенза, ул. Красная, д. 40). E-mail: normphys@mail.ru. Scopus Author ID 55904922500, ResearcherID S-7843-2016, SPIN-код РИНЦ 5278-7302, <https://orcid.org/0000-0001-8473-5781>

Голубкина Надежда Александровна, д.с.-х.н., главный научный сотрудник лабораторно-аналитического центра ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства» (143080, Россия, Московская обл., Одинцовский городской округ, поселок ВНИИССОК, ул. Селекционная, д. 14). E-mail: segolubkina45@gmail.com. Scopus Author ID 7004449622, ResearcherID AAV-1695-2020, SPIN-код РИНЦ 9284-3454, <https://orcid.org/0000-0003-1803-9168>

Каплун Александр Петрович, д.х.н., профессор кафедры химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии им. Н.А. Преображенского Института тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (119571, Россия, Москва, пр-т Вернадского, д. 86). E-mail: alexander.p.kaplun@gmail.com. Scopus Author ID 7006433250, SPIN-код РИНЦ 5856-0218, <https://orcid.org/0000-0002-5600-8648>

About the authors:

Pavel A. Poluboyarinov, Cand. Sci. (Agricul.), Associate Professor, Department of General and Clinical Pharmacology, Penza State University (40, Krasnaya ul., Penza, 440026, Russia). E-mail: poluboyarinovpavel@yandex.ru. Scopus Author ID 55913331500, RSCI SPIN-code 1855-6069, <https://orcid.org/0000-0001-9870-0272>

Natalia V. Shchetinina, Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, Department of Human Physiology, Penza State University (40, Krasnaya ul., Penza, 440026, Russia). E-mail: singl71@list.ru. Scopus Author ID 6603851588, RSCI SPIN-code 1027-6691, <https://orcid.org/0000-0002-0076-2553>

Inessa Ya. Moiseeva, Dr. Sci. (Med.), Dean of the Faculty of Medicine, Penza State University (40, Krasnaya ul., Penza, 440026, Russia). E-mail: moiseeva_pharm@mail.ru. Scopus Author ID 7004249589, RSCI SPIN-code 9607-0306, <https://orcid.org/0000-0003-1168-2871>

Nadezhda I. Mikulyak, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Human Physiology, Penza State University (40, Krasnaya ul., Penza, 440026, Russia). E-mail: normphys@mail.ru. Scopus Author ID 55904922500, ResearcherID S-7843-2016, RSCI SPIN-code 5278-7302, <https://orcid.org/0000-0001-8473-5781>

Nadezhda A. Golubkina, Dr. Sci. (Agricul.), Chief Researcher, Laboratory and Analytical Center, Federal Scientific Center of Vegetable Production (14, Selektionnaya ul., VNISSOK, Odintsovo urban district, Moscow oblast, 143080, Russia). E-mail: segolubkina45@gmail.com. Scopus Author ID 7004449622, ResearcherID AAV-1695-2020, RSCI SPIN-code 9284-3454, <https://orcid.org/0000-0003-1803-9168>

Alexander P. Kaplun, Dr. Sci. (Chem.), Professor, N.A. Preobrazhensky Department of Chemistry and Technology of Biologically Active Compounds, Medicinal and Organic Chemistry, M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo pr., Moscow, 119571, Russia). E-mail: alexander.p.kaplun@gmail.com. Scopus Author ID 7006433250, RSCI SPIN-code 5856-0218, <https://orcid.org/0000-0002-5600-8648>

Поступила: 04.02.2022; получена после доработки: 30.03.2022; принята к опубликованию: 26.09.2022.
The article was submitted: February 04, 2022; approved after reviewing: March 30, 2022; accepted for publication: September 26, 2022.