

Badania nad możliwością wykorzystania selenu w ograniczeniu oddziaływania ołowiu na wybrane przemiany metaboliczne związków fenolowych w glebie i siewkach pszenicy jarej (*Triticum aestivum* L.)

Michał Stręk, Arkadiusz Telesiński

Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin, Polska

Abstrakt. Celem podjętych badań była ocena możliwości wykorzystania selenu na dwóch stopniach utlenienia (+IV i +VI) w ograniczeniu oddziaływania ołowiu na aktywność oksydazy o-difenolowej w glebie oraz aktywność peroksydazy gwajakolowej i zawartość polifenoli ogółem w siewkach pszenicy jarej. Doświadczenie wazonowe przeprowadzono na próbkach glebowych o składzie granulometrycznym gliny piaszczysto-ilastej oraz zawartości węgla organicznego 3,38%. Do materiału glebowego wprowadzono w różnych kombinacjach wodne roztwory $Pb(NO_3)_2$, H_2SeO_3 oraz H_2SeO_4 . Ilość wprowadzonego ołowiu wynosiła 0,05, 0,50 i 5,00 mmol·kg⁻¹, a ilość selenu 0,05 mmol·kg⁻¹. Aplikacja do gleby ołowiu powodowała inhibicję aktywności oksydazy o-difenolowej oraz spadek zawartości polifenoli ogółem w siewkach pszenicy jarej. Natomiast aktywność peroksydazy roślinnej uległa podwyższeniu. Zaobserwowany efekt zwiększał się wraz ze wzrostem dawki metalu. Obecność w glebie selenu spowodowała stymulację aktywności oksydazy o-difenolowej w glebie i peroksydazy w siewkach pszenicy oraz spadek ogólnej zawartości polifenoli roślinnych. Stwierdzone zmiany oznaczanych parametrów biochemicznych były większe przy zastosowaniu selenu na +VI niż na +IV stopniu utlenienia. Dodatek selenu do gleby zawierającej ołów ograniczał oddziaływanie tego metalu na oznaczane parametry. Może to świadczyć o potencjalnej możliwości wykorzystania selenu w zmniejszeniu wpływu ołowiu na procesy biochemiczne w glebie i roślinie.

słowa kluczowe: gleba, ołów, selen, oksydaza o-difenolowa, peroksydaza, polifenole ogółem

WSTĘP

Długotrwała antropopresja doprowadza do nawet czterokrotnego zwiększenia zawartości ołowiu w powierzchniowych warstwach gleb w odniesieniu do tła geochemicz-

Autor do kontaktu:

Michał Stręk
e-mail: michal.strek@zut.edu.pl
tel. +48 91 449 62 84

Praca wpłynęła do redakcji 6 listopada 2013 r.

nego, jakim są skały podłoża (Kabata-Pendias, Pendias, 1999). Szkodliwość tego pierwiastka wynika z jego zdolności oddziaływania na makromolekuły, szczególnie białka; hamuje on również podziały komórkowe oraz osłabia procesy metaboliczne (Furmanek, Andrzejewska-Ponomarev, 2006). Ołów może się łączyć z wieloma elementami komórki, jednak największe powinowactwo wykazuje w stosunku do grup –SH różnych związków organicznych, takich jak na przykład glutation, który stanowi swoistą pułapkę dla ołowiu. Poprzez włączenie go do swojej struktury chroni on komórkę przed szkodliwym działaniem tego pierwiastka (Burzyński, 1987). Obecność ołowiu w glebie może również prowadzić do powstawania w roślinach nadmiernej ilości reaktywnych form tlenu – RFT (Verma, Dubey, 2003). Efektem może być wystąpienie w komórkach roślinnych stresu oksydacyjnego.

Ciereszko i in. (2008) podkreślają powszechne przekonanie, iż tempo powstawania uszkodzeń w komórce wywołanych przez reaktywne formy tlenu zależy od stopnia równowagi między szybkością wytwarzania RFT a stężeniem niskocząsteczkowych przeciwutleniaczy i aktywnością enzymów antyoksydacyjnych. Selen jest pierwiastkiem, który wykazuje *in vitro* silne właściwości antyoksydacyjne. Pozytywna biologiczna rola selenu jest związana przede wszystkim z jego występowaniem w centrum aktywnym peroksydazy glutationowej (Piskorska, Grabowska-Bochełek, 1995). Enzym ten jest jednym z elementów wchodzących w skład systemu antyoksydacyjnego w komórkach. Katalizuje on redukcję nadtlenu wodoru i nadtlenu organicznych (Bartosz, 2006). W każdej jednostce enzymu znajdują się cztery cząsteczki selenocysteiny, które umożliwiają dwuelektronowe utlenienie glutationu (Jendryczko, Grzeszczak, 1995). Selen zmniejsza także toksyczność metali ciężkich: Pb, Cd, Hg. Metaloid ten tworzy z nimi połączenia w formie związków kompleksowych, przez co uniemożliwia ich ingerencję w przemiany metaboliczne. Działanie antagonistyczne w stosunku do selenu wykazuje cynk, kadm, miedź i arsen (Bielak, Pasternak, 1999).

Związki polifenolowe zarówno w glebie, jak i w roślinie są inhibitorami enzymów stymulujących powstawanie reaktywnych form tlenu – oksydazy ksantynowej i oksydazy NADPH. Mogą też pełnić rolę związków chelatujących dla metali będących katalizatorami powstawania RFT (Ostrowska, Skrzydlewska, 2005). W glebie substancje polifenolowe transformowane są głównie w wyniku procesów oksydoredukcyjnych katalizowanych przez peroksydazy i oksydazy polifenolowe (Sinsabaugh i in., 2005). Wśród oksydaz polifenolowych można wyróżnić między innymi: oksydazę o-difenolową, oksydazę p-difenolową oraz dioksygenazę katecholową. Istnieją również doniesienia mówiące o tym, że zewnątrzkomórkowe oksydazy polifenolowe zmniejszają toksyczność wielu jonów metali (Sinsabaugh, 2010).

Podwyższony poziom ołowiu w podłożu może zarówno bezpośrednio powodować stres oksydacyjny w organizmach roślinnych, jak i oddziaływać na stabilność oraz transformacje materii organicznej w glebie, co również może prowadzić do nadmiernego nagromadzenia RFT w komórkach roślin. Liczne badania wykazują, że w małych stężeniach selen może wykazywać działanie antyoksydacyjne, hamując peroksydację lipidów i redukując oddziaływanie czynników stresowych, w tym metali ciężkich, na wskaźniki enzymatyczne i nieenzymatyczne stresu oksydacyjnego u roślin (Hartikainen i in., 2000; Xue i in., 2001; Hawrylak-Nowak i in., 2010; Mroczek-Zdryńska, Wójcik, 2011; KeLing i in., 2013). Gurrero i in. (2014) wykazali, że oddziaływanie selenu na rośliny w dużym stopniu zależy od stopnia utlenienia tego pierwiastka.

Celem podjętych badań było określenie, w jaki sposób dodatek selenu na +IV i +VI stopniu utlenienia modyfikuje oddziaływanie ołowiu na aktywność oksydazy o-difenolowej w glebie oraz aktywność peroksydazy gwajakolowej i zawartość polifenoli w siewkach pszenicy jarej.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Doświadczenie wazonowe przeprowadzono na materiale glebowym o składzie granulometrycznym gliny piaszczysto-ilastej, zawartości węgla organicznego 3,38%, azotu ogółem 0,32% oraz pH w 1 M KCl 7,13. Zawartość selenu i ołowiu nie odbiegała od tła geochemicznego. Do przesianej gleby wprowadzono w różnych kombinacjach $Pb(NO_3)_2$, H_2SeO_3 oraz H_2SeO_4 . Dawki tych związków przeliczono na ilość wprowadzanego Pb oraz Se (tab. 1).

Tak przygotowanym materiałem glebowym wypełniono wazony. Do każdego wazonu wysiano po 15 ziarniaków

pszenicy jarej odmiany Kokska. W trakcie trwania doświadczenia wilgotność gleby utrzymywano na poziomie około 60% kapilarnej pojemności wodnej. Wazony oświetlane były lampą sodową Son-T Agro 400W firmy Philips o natężeniu promieniowania na powierzchni gleby $90 \mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ PAR (radiacji aktywnej fotosyntetycznie). Fotoperiod został ustalony na 12 godzin dnia i nocy.

W 1., 14., 21. i 28. dniu doświadczenia pobierano próbki glebowe i oznaczano w nich kolorymetrycznie aktywność oksydazy o-difenolowej [EC 1.14.18.1] (Perucci i in., 2000). Natomiast w 14., 21. i 28. dniu doświadczenia pobierano zielone części roślin pszenicy, w których dokonano pomiarów aktywności peroksydazy gwajakolowej [EC 1.11.1.7] (Chance, Maehly, 1955) oraz zawartości polifenoli ogółem (Yu i in., 2002). Do oznaczeń użyto spektrofotometru UV-1800 firmy Shimadzu.

Doświadczenie przeprowadzono w układzie kompletnej randomizacji w trzech powtórzeniach. Otrzymane wyniki opracowano statystycznie przy użyciu dwuczynnikowej analizy wariancji. Najmniejsze istotne różnice (NIR) obliczono według procedury Tukeya przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Obliczenia wykonano niezależnie dla wyników uzyskanych w każdym terminie pomiaru.

WYNIKI I DYSKUSJA

Wprowadzenie do gleby ołowiu spowodowało istotne statystycznie obniżenie aktywności oksydazy o-difenolowej. Zaobserwowana inhibicja pogłębiała się wraz ze wzrostem dawki ołowiu i wynosiła dla poszczególnych dawek odpowiednio: 2,56–7,93%, 12,39–31,02% oraz 52,56–70,69% (tab. 2). Wiele artykułów naukowych porusza problem hamowania aktywności enzymatycznej gleb przez metale ciężkie. W większości jednak dotyczy one aktywności fosfataz (Bielińska, 2005), ureazy (Kucharski i in., 2001), proteazy (Kandeler i in., 2000), a z klasy oksydoreduktaz – aktywności dehydrogenaz (Wyszkowska, Kucharski, 2003). Natomiast osłabienie aktywności oksydazy o-difenolowej stwierdzono również po wprowadzeniu do gleby insektycydu spinosad (Telesiński, Płatkowski, 2012) czy związków fluoru (Śnioszek i in., 2009).

Dodatek do gleby selenu na stopniu utlenienia +IV spowodował w 1. dniu pomiaru nieistotny statystycznie spadek aktywności oksydazy o-difenolowej o 3,52%. W kolejnych terminach pomiarów aktywność była nieco wyższa niż w glebie kontrolnej. Maksymalny wzrost wyniósł 7,53% w stosunku do gleby kontrolnej (różnica statystycznie istotna). Natomiast wprowadzenie do gleby selenu na stopniu utlenienia +VI wywołało stymulację aktywności oksydazy o-difenolowej w trakcie trwania całego doświadczenia. Aktywność enzymu

Tabela 1. Ilość ołowiu i selenu wprowadzonych do gleby
Table 1. Amount of elements introduced into soil.

Pb ^{+II}		Se ^{+IV}		Se ^{+VI}	
mmol·kg ⁻¹	mg·kg ⁻¹	mmol·kg ⁻¹	mg·kg ⁻¹	mmol·kg ⁻¹	mg·kg ⁻¹
0,05	10,35				
0,50	103,50	0,05	3,95	0,05	3,95
5,00	1035,00				

Tabela 2. Aktywność oksydazy o-difenolowej [μmol utlenionego katecholu \cdot (g s.m. gleby \cdot 10 min) $^{-1}$] w glebie z dodatkiem ołowiu i selenuTable 2. Activity of o-diphenol oxidase [μmol oxidized catechol (g d.w. soil \cdot 10 min) $^{-1}$] in soil treated with lead and selenium.

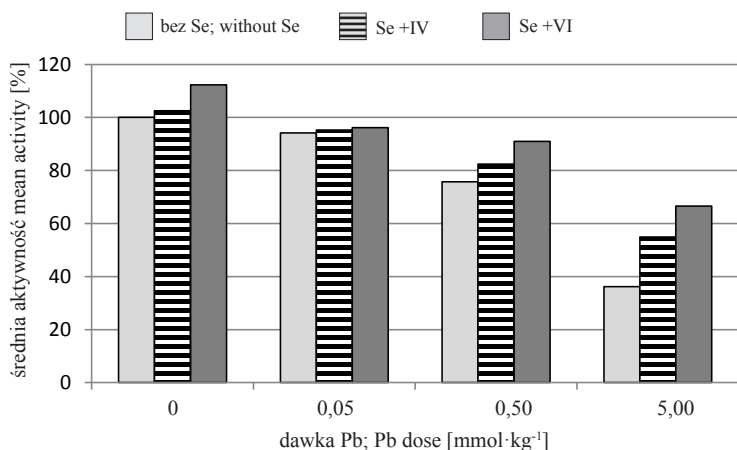
Dodatek selenu Selenium addition (II czynnik; factor)	Ilość wprowadzonego Pb; Amount of introduced Pb [$\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$] (I czynnik; factor)				
	0	0,05	0,50	5,00	średnia average
1. dzień; 1st day					
0	3,12	3,04	2,26	1,48	2,47
Se ^{+IV}	3,01	2,96	2,66	1,95	2,64
Se ^{+VI}	3,23	3,05	2,93	2,53	2,79
Średnia; Average	3,12	3,02	2,62	1,99	2,69
NIR _{0,05} ; LSD _{0,05}	I = 0,083 II = 0,110 I \times II = 0,121 II \times I = 0,178				
14. dzień; 14th day					
0	3,28	3,09	2,43	1,08	2,47
Se ^{+IV}	3,34	3,20	2,61	1,96	2,78
Se ^{+VI}	3,48	3,14	2,97	2,40	3,00
Średnia; Average	3,37	3,14	2,67	1,81	2,75
NIR _{0,05} ; LSD _{0,05}	I = 0,099 II = 0,161 I \times II = 0,184 II \times I = 0,204				
21. dzień; 21st day					
0	3,32	3,09	2,29	1,16	2,46
Se ^{+IV}	3,57	3,16	2,66	1,63	2,75
Se ^{+VI}	3,95	3,19	2,86	2,12	3,03
Średnia; Average	3,61	3,15	2,60	1,64	2,75
NIR _{0,05} ; LSD _{0,05}	I = 0,182 II = 0,221 I \times II = 0,234 II \times I = 0,255				
28. dzień; 28th day					
0	3,31	3,05	2,90	0,97	2,56
Se ^{+IV}	3,48	3,11	2,82	1,57	2,74
Se ^{+VI}	4,01	3,16	3,11	1,90	3,04
Średnia; Average	3,60	3,11	2,94	1,48	2,78
NIR _{0,05} ; LSD _{0,05}	I = 0,145 II = 0,159 I \times II = 0,179 II \times I = 0,193				

była o 3,53–21,15% wyższa niż w glebie kontrolnej (tab. 2). Nowak i in., (2004) zaobserwowali wyraźny wpływ selenu (+IV) na aktywność enzymów oksydoredukcyjnych w glebie: peroksydaz i katalazy. Stwierdzili oni spadek aktywności peroksydaz wraz ze wzrostem stężenia selenu w glebie. Aktywność katalazy wzrosła przy stężeniu selenu w glebie 0,05 $\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$. Natomiast przy wyższych stężeniach selenu (0,15 i 0,45 $\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$) aktywność katalazy istotnie obniżyła się. Nowak i in. (2002) stwierdzili ponadto inhibicję aktywności reduktazy azotanowej, dehydrogenaz, fosfatazy kwaśnej oraz ureazy w glebie z dodatkiem selenu (+IV).

Analizując średnią procentową aktywność oksydazy o-difenolowej w glebie stwierdzono, że wprowadzenie ołowiu spowodowało jej obniżenie, które pogłębiało się wraz ze wzrostem dawki Pb od 5,89% (0,05 $\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$) do 63,80% (5,00 $\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$). Natomiast dodatek selenu stymulował aktywność enzymu: Se^{+IV} o 2,58%, Se^{+VI} o 12,29%. Aplikacja selenu do gleby zawierającej ołów spowodowała zmniejszenie negatywnego oddziaływania Pb, co w największym stopniu uwidoczniło się w przy najwyższej dawce ołowiu (rys. 1).

W roślinach pszenicy rosnących w glebie z dodatkiem ołowiu stwierdzono wzrost aktywności peroksydazy – obserwowane istotne statystycznie różnice zależały od dawki oraz terminu pomiaru i osiągały wartości o 5,56–89,47% większe niż w roślinach kontrolnych (tab. 3). Również Malinowska i Smolik (2006) stwierdziły aktywację peroksydazy, a także katalazy w pszenicy jarej pod wpływem ołowiu. Małecka i in. (2001) wykazali wyraźny wzrost aktywności enzymów wchodzących w skład systemu antyoksydacyjnego (katalazy i dysmutazy ponadtlenkowej) w roślinach grochu rosnących w glebie zanieczyszczonej ołowiem. Verma i Dubey (2003) podczas dwudziestoletniego doświadczenia z ołowiem stwierdzili w ryżu podwyższenie aktywności enzymów antyoksydacyjnych: dysmutazy ponadtlenkowej, peroksydazy gwajakolowej, peroksydazy askorbinianowej i reduktazy glutationowej.

Wprowadzenie do gleby selenu na obu stopniach utlenienia spowodowało w 14. oraz 21. dniu doświadczenia wzrost aktywności peroksydazy w siewkach pszenicy. Większą stymulację odnotowano po aplikacji Se^{+VI} (do 227,78%) niż Se^{+IV} (do 116,67%). Natomiast w ostatnim terminie pomiarów aktywność peroksydazy była wyż-



Rysunek 1. Średnie procentowe zmiany aktywności oksydazy o-difenolowej w glebie po wprowadzeniu ołowiu i selenu na różnym stopniu utlenienia

Figure 1. Mean percentage changes of o-diphenol oxidase activity in soil treated with lead and selenium on different oxidation state.

sza w przypadku Se^{+IV}, a w przypadku Se^{+VI} niższa niż w roślinach kontrolnych (tab. 3). O stymulacji aktywności peroksydazy, a także katalazy w siewkach pszenicy pod wpływem Se^{+IV} donoszą także Nowak i Kąklewski (2003). Kąklewski i in. (2008) wykazali, że w roślinach pszenicy nastąpiła wyraźna inhibicja, a w roślinach rzepaku – stymulacja aktywności peroksydazy askorbinianowej po wprowadzeniu do gleby selenu na stopniu utlenienia +IV. Telesiński i in. (2011) stwierdzili, że zmiany pod wpływem selenu aktywności katalazy w roślinach soi uzależnione są nie tylko od stopnia utlenienia tego pierwiastka, ale również od odmiany rośliny.

Biorąc pod uwagę średnią aktywność peroksydazy w roślinach pszenicy ze wszystkich terminów pomiarów

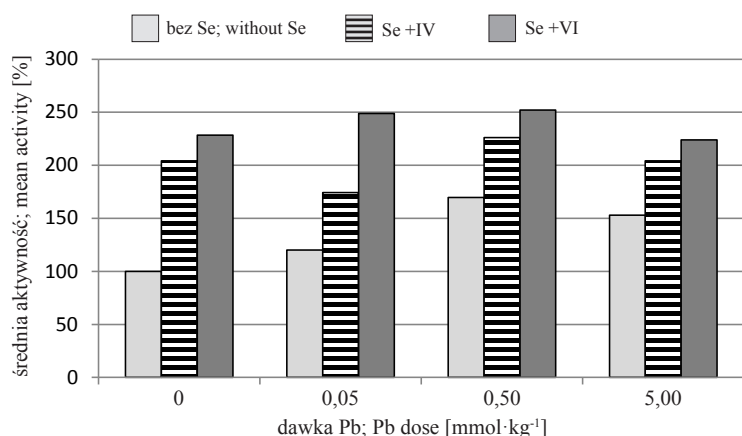
stwierdzono, że wprowadzenie ołowiu i selenu zarówno osobno, jak i łącznie spowodowało wzrost aktywności enzymu. Największą stymulację odnotowano przy dawce 0,50 mmol Pb·kg⁻¹, która wynosiła w roślinach rosnących w glebie z ołowiem 89,47%, w glebie z ołowiem i Se^{+IV} 124,00%, a w glebie z ołowiem i Se^{+VI} 148,75% w porównaniu do roślin kontrolnych (rys. 2).

Najistotniejszy wzrost zawartości polifenoli ogółem w siewkach pszenicy stwierdzono po dodaniu do gleby ołowiu w dawce 5,00 mmol·kg⁻¹ (o 22,98–41,81% w porównaniu do roślin kontrolnych). Wprowadzenie do gleby tego pierwiastka w niższych dawkach spowodowało zazwyczaj istotny statystycznie wzrost koncentracji oznaczanych związków (przy dawce 0,05 mmol·kg⁻¹ był on naj-

Tabela 3. Aktywność peroksydazy w siewkach pszenicy [μmol purpurogaliny·(g św.m. rośliny·min)⁻¹] po wprowadzeniu do gleby ołowiu i selenu

Table 3. Activity of peroxidase in spring wheat [μmol purpurogaline·(g f.w. plant·min)⁻¹] after soil treatment with lead and selenium.

Dodatek selenu Selenium addition (II czynnik; factor)	Ilość wprowadzonego Pb; Amount of introduced Pb [mmol·kg ⁻¹] (I czynnik; factor)				
	0	0,05	0,50	5,00	średnia average
14. dzień; day 14th					
0	0,25	0,36	0,43	0,45	0,37
Se ^{+IV}	0,50	0,42	0,56	0,57	0,51
Se ^{+VI}	0,74	0,55	0,68	0,38	0,59
Średnia; Average	0,50	0,44	0,56	0,47	0,49
NIR _{0,05} , LSD _{0,05} I = 0,009 II = 0,011 I×II = 0,018 II×I = 0,019					
21. dzień; day 21st					
0	0,54	0,57	0,82	0,71	0,66
Se ^{+IV}	1,17	0,91	1,19	1,74	1,25
Se ^{+VI}	1,77	2,14	1,81	2,31	2,01
Średnia; Average	1,16	1,21	1,27	1,59	1,49
NIR _{0,05} , LSD _{0,05} I = 0,002 II = 0,004 I×II = 0,006 II×I = 0,010					
28. dzień; day 28th					
0	1,14	1,30	2,16	1,70	1,57
Se ^{+IV}	2,25	2,14	1,17	0,79	1,59
Se ^{+VI}	0,77	1,53	1,77	1,09	1,29
Średnia; Average	1,39	1,66	1,70	1,19	1,48
NIR _{0,05} , LSD _{0,05} I = 0,008 II = 0,009 I×II = 0,012 II×I = 0,018					



Rysunek 2. Średnie procentowe zmiany aktywności peroksydazy w siewkach pszenicy jarej po wprowadzeniu do gleby ołowiu i selenu na różnym stopniu utlenienia

Figure 2. Mean percentage changes of peroxidase activity in spring wheat after soil treatment with lead and selenium on different oxidation state.

większy w 14. dniu doświadczenia – 10,99%, a przy dawce 0,50 mmol·kg⁻¹ w 28. dniu doświadczenia – 18,27%) (tab. 4).

Aplikacja selenu do gleby spowodowała nieregularne zmiany zawartości polifenoli ogółem w siewkach pszenicy. Początkowo Se^{+IV} wywołał istotny statystycznie wzrost o 9,36%, a dodatek Se^{+VI} obniżenie zawartości oznaczanych związków o 4,40%. Przy kolejnym pomiarze odnotowano odwrotną tendencję: obecność w glebie Se^{+IV} spowodowała spadek o 13,72%, a Se^{+VI} wzrost zawartości fenoli ogółem o 10,04% w odniesieniu do roślin kontrolnych (różnice statystycznie istotne). Ostatniego dnia prowadzenia doświadczenia zawartość fenoli ogółem była istotnie

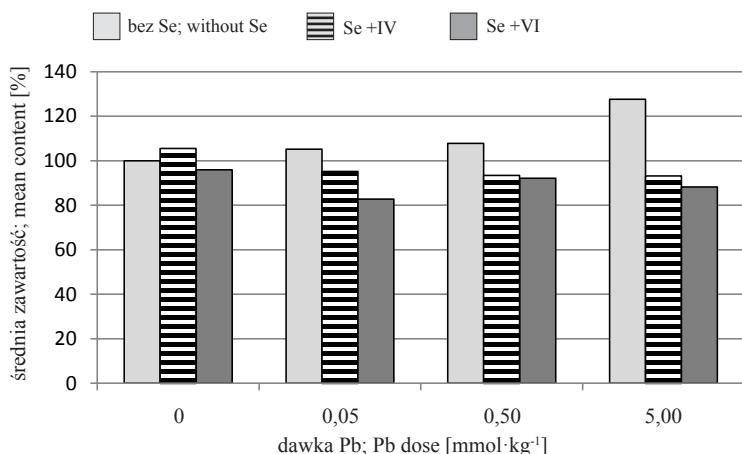
statystycznie wyższa (o 20,98%) w przypadku zastosowania Se^{+IV}, natomiast w obiektach z Se^{+VI} była niższa niż w roślinach kontrolnych o 17,68% (tab. 4).

Analizując średnią zawartość polifenoli ogółem w roślinach pszenicy we wszystkich terminach pomiarów stwierdzono, że wprowadzenie do gleby ołowiu wywołało jej podwyższenie, które zwiększało się wraz ze wzrostem dawki ołowiu: od 5,17% do 27,56%. Aplikacja Se^{+IV} spowodowała podwyższenie o 5,54%, a Se^{+VI} obniżenie o 4,02% koncentracji oznaczanych związków. Zawartość polifenoli ogółem w roślinach rosnących w glebie z dodatkiem selenu i ołowiu była niższa niż w roślinach rosnących w glebie z dodatkiem samego ołowiu (rys. 3).

Tabela 4. Zawartość polifenoli ogółem w siewkach pszenicy [mg kwasu galusowego·kg⁻¹ św.m. rośliny] po wprowadzeniu do gleby ołowiu i selenu

Table 4. Total polyphenol content in spring wheat [mg gallic acid kg⁻¹ f.w. plant] after soil treatment with lead and selenium.

Dodatek selenu Selenium addition (II czynnik; factor)	Ilość wprowadzonego Pb; Amount of introduced Pb [mmol·kg ⁻¹] (I czynnik; factor)				średnia average
	0	0,05	0,50	5,00	
14. dzień; 14th day					
0	29,30	32,52	29,24	41,55	33,15
Se ^{+IV}	32,04	29,46	30,10	30,26	30,46
Se ^{+VI}	28,01	29,94	35,52	27,09	30,14
Średnia; Average	29,78	31,64	31,67	32,97	31,15
NIR _{0,05} ; LSD _{0,05}	I = 0,006 II = 0,011 I×II = 0,018 II×I = 0,019				
21. dzień; 21st day					
0	61,06	62,51	62,84	75,09	65,37
Se ^{+IV}	52,68	56,87	51,71	67,19	57,11
Se ^{+VI}	67,19	43,81	45,74	50,10	51,71
Średnia; Average	60,31	54,40	53,43	64,13	58,06
NIR _{0,05} ; LSD _{0,05}	I = 0,002 II = 0,004 I×II = 0,006 II×I = 0,010				
28. dzień; 28th day					
0	82,99	84,76	98,15	87,82	88,43
Se ^{+IV}	100,40	76,38	71,06	76,22	81,01
Se ^{+VI}	68,32	61,71	75,09	74,77	69,67
Średnia; Average	83,90	74,28	81,43	79,60	79,80
NIR _{0,05} ; LSD _{0,05}	I = 0,008 II = 0,009 I×II = 0,012 II×I = 0,018				



Rysunek 3. Średnie procentowe zmiany zawartości polifenoli ogółem w siewkach pszenicy jarej po wprowadzeniu do gleby ołowiu i selenu na różnym stopniu utlenienia

Figure 3. Mean percentage changes of total polyphenol content in spring wheat after soil treatment with lead and selenium on different oxidation state.

Porównując wpływ selenu na oznaczane w badaniach własnych parametry biochemiczne w glebie z dodatkiem ołowiu oraz w roślinach pszenicy można stwierdzić, że selen w znaczącym stopniu ograniczył oddziaływanie Pb na aktywność oksydazy o-difenolowej w glebie oraz zawartość fenoli ogółem w roślinach. Natomiast aktywność peroksydazy roślinnej była istotnie statystycznie wyższa w roślinach rosnących w glebie z dodatkiem selenu i ołowiu niż rosnących w glebie z samym ołowiem. Telesiński i in. (2011) wykazali w roślinach soi synergistyczne oddziaływanie związków selenu z fluorem – aktywność katalazy w roślinach soi rosnących w glebie z dodatkiem selenu wraz z fluorem była zdecydowanie większa niż w roślinach rosnących w podłożu z dodatkiem samego fluoru lub selenu. Aktywacja enzymu była znacznie większa dla obu pierwiastków niż dla każdego oddzielnie. Największy efekt stwierdzono w przypadku użycia selenu (+IV).

WNIOSKI

1. Wprowadzenie do gleby ołowiu spowodowało inhibicję aktywności oksydazy o-difenolowej oraz podwyższenie zawartości polifenoli ogółem w roślinach pszenicy jarej. Natomiast aktywność peroksydazy roślinnej uległa podwyższeniu. Zaobserwowany efekt w większości przypadków zwiększał się wraz ze wzrostem dawki metalu.

2. Wprowadzenie selenu do gleby wywołało podwyższenie aktywności oksydazy o-difenolowej w glebie i peroksydazy w roślinach pszenicy oraz zmiany ogólnej zawartości polifenoli roślinnych, różne w zależności od stopnia utlenienia selenu. Stwierdzone zmiany oznaczanych parametrów biochemicznych były większe po zastosowaniu Se^{+VI} niż Se^{+IV}.

3. Dodatek selenu do gleby zawierającej ołów w znacznym stopniu ograniczał jego oddziaływanie, zwłaszcza na aktywność glebowej oksydazy o-difenolowej. Wprowadzenie selenu do podstawowego nawożenia roślin może potencjalnie zredukować wpływ ołowiu na procesy biochemiczne w glebie oraz roślinie.

PIŚMIENNICTWO

- Bartosz G., 2006.** Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie. PWN, Warszawa.
- Bielak E., Pasternak K., 1999.** Biologiczna rola selenu. Biul. Magnezol., 4 (3/4): 544-546.
- Bielińska E.J., 2005.** Ocena stanu środowiska glebowego ogrodów działkowych z terenów o różnym oddziaływaniu antropopresji poprzez badanie aktywności fosfatyz. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 505: 51-58.
- Burzyński M., 1987.** Wpływ ołowiu na procesy fizjologiczne roślin. Wiad. Bot., 31 (2): 87-96.
- Chance B., Maehly A.C., 1955.** Assay of catalase and peroxidases. Meth. Enzymol., 2: 764-775.
- Ciereszko J., Kozłowska-Szerenos B., Leśniewska J., Siegień I., 2008.** Dostosowania roślin do niekorzystnych warunków środowiska. W: Różnorodność badań botanicznych - 50 lat Białostockiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Botanicznego 1958-2008, ss. 147-167.
- Furmanek T., Andrzejewska-Ponomarev M., 2006.** Wpływ ołowiu na rozwój roślin pomidora *Lycopersicon* sp. określony w warunkach *in vitro*. Słupskie Prace Biol., 3: 5-12.
- Gurrero B., Llugany M., Palacios O., Valiente M., 2014.** Dual effect of different selenium species on wheat. Plant Physiol. Biochem., 83: 300-307.
- Hartikainen H., Xue T., Piironen V., 2000.** Selenium as an antioxidant and pro-oxidant in ryegrass. Plant Soil, 225: 193-200.
- Hawrylak-Nowak B., Matraszek R., Szymańska M., 2010.** Selenium modifies the effect of short-term chilling stress in cucumber plants. Biol. Trace Elem. Res., 138(1-3): 307-315.
- Jendryczko A., Grzeszczak W., 1995.** Glutathione peroxidase activities in erythrocytes and their relationship to cholesterol in lipoproteins of medical school students. Appl. Biol. Commun., 5(1-2): 37-43.
- Kabata-Pendias A., Pendias H., 1999.** Biogeochemia pierwiastków śladowych. PWN, Warszawa.
- Kandeler E., Tschirko D., Bruce K.D., Stemmer M., Hobbs J.P., Bargett R.D., Amelung W., 2000.** Long-term monitoring of microbial biomass, N mineralisation and enzyme activities of chernozem under different tillage management. Biol. Fertil. Soils, 32: 390-400.
- Kąklewski K., Nowak J., Ligocki M., 2008.** Effects of selenium content in green parts of plants on the amount of ATP

- and ascorbate-glutathione cycle enzyme activity at various growth stages of wheat and oilseed rape. *J. Plant. Physiol.*, 165: 1011-1022.
- KeLing H., Ling Z., JiTao W., Yang Y., 2013.** Influence of selenium on growth, lipid peroxidation and oxidative enzyme activity in melon (*Cucumis melo* L.) seedlings under stress salt. *Acta Soc. Bot. Pol.*, 82(3): 193-197.
- Kucharski J., Hlasko A., Wyszowska J., 2001.** Wpływ zanieczyszczenia gleby miedzią na jej właściwości fizykochemiczne i aktywność enzymów glebowych. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 476: 173-180.
- Malinowska K., Smolik B., 2006.** Wpływ różnych dawek metali ciężkich na aktywność enzymów stresu oksydacyjnego oraz parametry fizjologiczne pszenicy jarej. Część II. Wpływ miedzi. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 515: 381-388.
- Malecka A., Jarmuszkiwicz W., Tomaszewska B., 2001.** Antioxidative defense to lead stress on subcellular compartments of pea root cells. *Acta Biochim. Pol.*, 48(3): 687-698.
- Mroczek-Zdryska M., Wójcik M., 2011.** The influence of selenium on root growth and oxidative stress induced by lead in *Vicia faba* L. minor plants. *Biol. Trace Elem. Res.*, 147(1-3): 320-328.
- Nowak J., Klódko D., Kąklewski K., 2002.** Influence of various concentration of selenic acid (IV) on the activity of soil enzymes. *Sci. Total Environ.*, 291: 105-110.
- Nowak J., Kąklewski K., 2003.** Changes in enzyme activity in wheat growing on soil with various concentration of selenium. *Acta Sci. Pol. ser. Biologia*, 2(1-2): 59-66.
- Nowak J., Kąklewski K., Ligocki M., 2004.** Influence of selenium on oxidoreductive enzymes activity in soil and in plants. *Soil Biol. Biochem.*, 36: 1554-1558.
- Ostrowska J., Skrzydlewska E., 2005.** Aktywność biologiczna flawonoidów. *Post. Fitoter.*, 3-4: 71-79.
- Perucci R., Casucci C., Dumontet S., 2000.** An improved method to evaluate the o-diphenol oxidase activity of soil. *Soil Biol. Biochem.*, 32: 1927-1933.
- Piskorska D., Grabowska-Bochenek R., 1995.** Rola selenu w metabolizmie hormonów tarczycy. *Przeegl. Lek.*, 52(2): 63-65.
- Sinsabaugh R.L. 2010.** Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. *Soil Biol. Biochem.*, 42: 391-404.
- Sinsabaugh R. L., Gallo M.E., Laufer C., Waldrop M.P., Zak D.R., 2005.** Extracellular enzyme activities and soil organic matter dynamics for northern hardwood forest receiving stimulated nitrogen deposition. *Biogeochemistry*, 75: 201-215.
- Śnioszek M., Telesiński A., Smolik B., Zakrzewska H., 2009.** Possibilities of using clay minerals to reduce fluorine effects on activity of phenolic metabolism selected enzymes in soil and pea and spring wheat plants. W: *Pierwiastki, środowisko i życie człowieka*; red. K. Pasternak. Wyd. System-Graf, Lublin, ss. 344-356.
- Telesiński A., Śnioszek M., Musik D., Paszun W., Hury G., 2011.** Określenie rodzaju interakcji pomiędzy oddziaływaniem związków selenu i fluoru na aktywność katalazy w roślinach soi (*Glycine max* L. Merr.). *Ochr. Środ. Zas. Nat.*, 41: 227-235.
- Telesiński A., Płatkowski M., 2012.** Ocena ubocznego oddziaływania spinosadu na aktywność oksydazy o-difenolowej w glebie. *Folia Pomer. Univ. Technol. Stetin. Agric., Aliment., Pisc., Zootech.*, 296(23): 91-96.
- Verma S., Dubey R.S., 2003.** Lead toxicity induced lipid peroxidation and alters activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Sci.*, 164(4): 645-655.
- Wyszowska J., Kucharski J., 2003.** Właściwości biochemiczne i fizykochemiczne gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 492: 435-442.
- Xue T., Hartikainen H., Piironen V., 2001.** Antioxidative and growth-promoting effect of selenium in senescing lettuce. *Plant Soil*, 237: 55-61.
- Yu L., Haley S., Perret J., Harris M., Wilson J., Qian M., 2002.** Free radical scavenging properties of wheat extracts. *J. Agric. Food Chem.*, 50: 1619-1624.

M. Strępek, A. Telesiński

STUDY ON THE POTENTIAL OF SELENIUM TO REDUCE THE EFFECT OF LEAD ON SOME METABOLIC PROCESSES OF PHENOLIC COMPOUNDS IN SOIL AND SPRING WHEAT (*Triticum aestivum* L.)

Summary

The aim of the study was the assessment of selenium in two oxidation states (+IV and +VI) as an agent to alleviate the influence of lead on the o-diphenol oxidase activity in the soil, peroxidase activity and total polyphenols content in spring wheat seedlings. The pot experiment was carried out on soil samples the granulometric composition of which was sandy clay loam and organic carbon content of 3.38%. Various combinations of $Pb(NO_3)_2$, H_2SeO_3 and H_2SeO_4 solutions were introduced into the earthy soil material. Introduced amount of lead was 0.05, 0.50 and 5.00 $mmol \cdot kg^{-1}$, and the amount of selenium 0.05 $mmol \cdot kg^{-1}$. The lead application to the soil caused inhibition of o-diphenol oxidase activity and a decrease in total polyphenol content of spring wheat seedlings. However, the plant peroxidase activity was increased. The observed effect increased with the increasing dose of the metal. The presence of selenium in the soil caused the stimulation of o-diphenol oxidase activity in the soil and peroxidase in wheat seedlings while at the same time it decrease the total content of plant polyphenols. The observed changes in the biochemical parameters were caused more by higher selenium oxidation state + IV than + VI. The addition of selenium to the lead-containing soil restricted the impact of this metal on the parameters under study. This may indicate the potential of selenium in reducing impact of lead on biochemical processes in soil and plant.

key words: soil, lead, selenium, o-diphenol oxidase, peroxidase, total polyphenols