

## Nátrium-szelenát hatása retek és paprika *in vitro* fejlődésére szövettenyészetekben

Domokos-Szabolcsy Éva<sup>1</sup> – Veres Zsuzsanna<sup>1</sup> –  
Holb Imre<sup>2</sup> – Kovács Béla<sup>3</sup> – Fári Miklós<sup>1</sup>

Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum,  
Mezőgazdaságtudományi Kar,

<sup>1</sup>Zöldségtermesztési Tanszék, Debrecen

<sup>2</sup>Növényvédelmi Tanszék, Debrecen

<sup>3</sup>Élelmiszertudományi és Minőségbiztosítási Tanszék, Debrecen  
szabolcsy@helios.date.hu

### ÖSSZEFOGLALÁS

A szelén sokáig csak toxikus ásványként élt a köztudatban, ma már azonban ismert, hogy szinte minden élőlényben megtalálható nyomelem. Különlegessége abban rejlik, hogy kétélű kardként viselkedik biológiai rendszerekben, finom vonal választja el a fiziológiás koncentrációt a toxikustól. Az emberben és a magasabb rendű állatokban esszencialitása bizonyított, de a magasabb rendű növényekben még nem tisztázott a szerepe. Annyi biztos, hogy vannak olyan fajok melyek képesek nagy mennyiségben akkumulálni szelént, mások nem.

Vizsgálatainkat *in vitro* fotoautotróf rendszerben (szénhidrátmentes, 50% koncentrációjú szervetlen komponens) végeztük retek (szelén akkumuláló) és paprika (nem szelén akkumuláló) csíranövényekkel. Szelén forrásként 0-200 mg/l koncentráció tartományban nátrium-szelenát (NaSeO<sub>4</sub>) oldatot használtunk a táptalaj készítés során.

A steril magvetésből kapott csírák friss tömegét mérve az eredményekből kitűnt, hogy 2 mg/l NaSeO<sub>4</sub> kiegészítés serkentőleg hatott retek hajtás és gyökér biomasszára, a paprikánál azonban nem lehetett észrevenni egyértelmű tömeg növekedést a kontrollhoz képest. A NaSeO<sub>4</sub> toxikus hatása a paprikánál 10 mg/l-nél, a retekénél 50 mg/l-nél volt mérhető. A növények ICP-vel mért szelén tartalma azt mutatta, hogy csírákba beépült szelén mennyisége követi a táptalaj NaSeO<sub>4</sub> tartalmának emelkedését mindkét zöldség esetében. A fiziológiai állapot vizsgálatához az összes vízben- és zsírban oldódó antioxidáns kapacitást mértük (eddig még csak retekénél). Az eredmények alapján 2 mg/l NaSeO<sub>4</sub> koncentrációnál volt legmagasabb a vízben (ACW) és zsírban (ACL) oldódó összes antioxidáns mennyiség, 50-100 mg/l toxikus koncentráció tartományban azonban az ACL érték még egy maximumot mutatott.

**Kulcsszavak:** szelén, nátrium-szelenát, *in vitro*, fotoautotróf-rendszer, retek, paprika

### SUMMARY

Selenium (Se) is an essential trace element for animals, microorganisms and some other eukaryotes. It has become increasingly evident that Se plays a significant role in reducing the incidence of lung, colorectal and prostate cancer in humans. Although there is evidence that selenium is needed for the growth of algae, the question of essentiality of Se in vascular plants is unresolved. Therefore *Raphanus sativus* (Se accumulator) and *Capsicum annuum* (non Se accumulator) were treated with 0-200 mg/l sodium-selenate. The results showed that lower (2 mg/l) concentration sodium-selenate increased the fitomass and total antioxidant capacity in seedlings.

**Keywords:** antioxidative capacity, chemiluminometer, green pepper, sour cherry, *Brassica sp.*, pumpkin, red beet, carrot

### BEVEZETÉS

A szelén alacsonyabb és magasabb rendű élőlényekben egyaránt előforduló nyomelem, kéntartalmú aminosavakban a kén helyére épül be (Whanger, 2002). Az így létrejött szelenoproteinek elsősorban enzimek alkotói, ahol a szelenocisztein származék az aktívcentrum része (Standtman, 1990).

Az állatvilágban a magasabb rendűek között a szelén létfontosságú, számos enzim alkotórészét képezi (Ursini et al., 1995), melyek anyagcsere folyamatok normális működéséért felelősek (Cser és Sziklai-László, 1998). Ugyanakkor keveset tudunk a magasabb rendű növényekben betöltött szerepéről. Annyi biztosan ismert, hogy vannak szelén akkumuláló, ún. szelenofor fajok (pl. *Astragalus sp.*), melyek előnyt élveznek ott, ahol a talaj szelén tartalma toxikus szintet ér el (Terry et al., 2000). Emellett ismertek olyan növény fajok is (*Allium tricoccum*), melyek a szelén repellens hatását használják ki a kártevők egy részének távoltartására (Birringer et al., 2002).

A szelén növényi anyagcsere folyamatokban betöltött esszenciális voltáról azonban nincsen egyértelmű bizonyíték a szakirodalomban (Eshdat et al., 1997).

Kísérleteinkben arra kerestük a választ, hogy *in vitro* foto-autotróf rendszerben nevelt retek és paprika csírák fejlődését hogyan befolyásolja a táptalajhoz adott, különböző koncentrációjú nátrium-szelenát. Az eredmények egy része korábban poszter formájában már megjelent (Domokos-Szabolcsy et al., 2004). Az inokulumok kiválasztásának oka az volt, hogy a retek szelén akkumuláló, míg a paprika nem szelén akkumuláló zöldségnövény. Így vizsgálni tudtuk a két típusú zöldség biológiai és kémiai tulajdonságaik közötti eltéréseket.

### ANYAG ÉS MÓDSZER

Először a fotoautotróf tenyésztéshez használt táptalaj komponenseinek és a kísérletekben szereplő zöldség magvak szelén tartalmát mértük ki Thermo Elemental (Anglia) gyártmányú, X7 típusú Induktív Csatlósú Plazma-tömegspektrométerrel. A retek (*Raphanus sativus* L. cv. Tavaszi piros) és a paprika (*Capsicum annuum* L. cv. Láva) steril magvetését víztiszta polisztrén tenyésztedényekben végeztük, edényenként 100-100 szem mag. A magvak felületi

sterilizése 30 percig 30%-os Cloroxban (Henkel, Magyarország) történt, utána kétszer 10 perc áztatás steril ionmentes (Arium 611DI, Sartorius, Németország) vízben.

Két típusú táptalajt alkalmaztunk. Első sorozatban: ionmentes vízben (Arium 611DI, Sartorius, Németország) oldott 0, 2, 10, 50, 100, 200 mg/l koncentrációjú NaSeO<sub>4</sub> oldatot készítettünk és plant agarral (Duchefa, Biochemie B.V. Hollandia) szilárdítottuk. E táptalaj sorozat nevét a későbbiekben *DW*-vel rövidíttem.

Második sorozatban 0, 2, 10, 50, 100, 200 mg/l koncentrációjú nátrium-szelenát oldatot 50%-ra hígított Murashige-Skoog (1962)-féle (Duchefa, Biochemie B.V. Hollandia) *in vitro* tenyésztésre kidolgozott, előre gyártott tápoldattal egészítettük ki, ami a továbbiakban *MS-1/2* néven fog szerepelni.

A magvak csírázása fényállványon 2000 lux megvilágítás mellett 8/16 órás fotoperiódus alatt történt 23°C állandó hőmérsékleten. A magvak csírázása során vizsgáltuk a csírázási százalék és erély változását a táptalajhoz adott különböző koncentrációjú nátrium-szelenát függvényében, retek esetében a 2., 3., 4., 5., 7. napon, paprika esetében a 6., 9., 19., 15., 17., 19. napon. A kifejlett csírák felszámolásakor a csíranövényeket szétdaraboltuk hajtásra illetve gyökérre, és a részek friss tömegét külön-külön mértük. A mintákat Alpha 1-4 LSC (Christ, Németország) liofilezővel fagyaszttva szárítással rögzítettük, mértük a száraz tömeget,

ezután mozsárban porítottuk és -18°C-on tároltuk.

A minták szeléntartalmát Thermo Elemental (Anglia) gyártmányú, X7 típusú Induktív Csatorlású Plazma-tömegspektrométerrel határoztuk meg.

Kíváncsiak voltunk, hogy a minták fiziológiai állapotát befolyásolja-e a táptalajban megnövelt szelén tartalom. Ehhez mértük a csírák vízben, ill. zsírban oldható összes antioxidáns aktivitását photochem mérőműszerrel (Photochem, Analytik Jena AG, Németország). E műszer lehetőséget biztosított arra, hogy gyorsan és egyszerű módon tanulmányozzuk a zöldségcsírák védekező rendszerének hatékonyságát.

## EREDMÉNYEK

### Táptalaj komponensek és inokulum szelén tartalmának meghatározása

Az ICP mérések alapján elmondható, hogy az átlagos fotoautotróf rendszer szelén tartalma 3,908 mg/kg (*1. táblázat*). 1 liter kész *MS-1/2* táptalajra vonatkoztatva 0,011554 mg, *DW* táptalaj esetében pedig 0,004668 mg szelén számolható. Ez a kis mennyiség szennyeződésként kerülhet a rendszerbe, ugyanis sem a plant agar, sem a *MS* komplex összetételben nincs feltüntetve szelén komponens. Ehhez járul még a növények magjában raktározott, fajoktól függően eltérő mennyiségű szelén.

*1. táblázat*

Táptalaj komponensek és inokulumok szelén tartalma

Mintanév(1)	Se (mg/kg)	Megjegyzés(2)
retk mag(3)	0,498	szelén akkumuláló(7)
paprika mag(4)	0,015	nem szelén akkumuláló(8)
<i>MS</i> komplex médium(5) <i>Duchefa, Biochemie B.V.</i>	3,13	
Plant agar <i>Duchefa, Biochemie B.V.</i>	0,778	
Ionmentes víz(6)	kimutatási határ alatt(9)	

*Table 1: Selenium content of MS medium compounds and inokulums*

Sample(1), Note(2), Radish seed(3), Green pepper seed(4), Murashige-Skoog culture medium(5), Distilled water(6), Selenium accumulator(7), Non selenium accumulator(8), under the limit of sensitivity(9)

### Csírázási erély vizsgálat

A csírázás intenzitásának eltérése miatt nem ugyanazon napokon vizsgáltuk a retek ill. paprika növényeket. Az *1. és 2. ábrából* jól kitűnik, hogy a táptalajhoz adott 2 mg/l nátrium-szelenát nem befolyásolta szignifikánsan a retek csírázás dinamikáját sem *DW* sem *MS-1/2* táptalajon. A 10 mg/l nátrium-szelenát koncentrációnál azonban a gátló hatás jól látható a harmadik naptól kezdve *MS-1/2* és *DW* táptalajon egyaránt.

Paprika esetében 2 mg/l nátrium-szelenát szignifikánsan serkentette a magvak csírázását végig a csírázás folyamán mindkét típusú táptalajon (*3., 4. ábra*). *MS-1/2* táptalajon a magasabb nátrium-szelenát koncentráció (10 mg/l-100 mg/l) kezdetben (6.-9. nap) nem befolyásolta csírázás erélyét, a 12. naptól azonban láthatóan csökkentette a csíranövények fejlődését (*3. ábra*). *DW* táptalajon nincs jelentős eltérés a magvak csírázás dinamikáját illetően a különböző nátrium-szelenát koncentráció mellett 2 mg/l felett (*4. ábra*).

1. ábra: Retek csírázási erély vizsgálata DW táptalajon a táptalaj nátrium-szelenát tartalmának függvényében

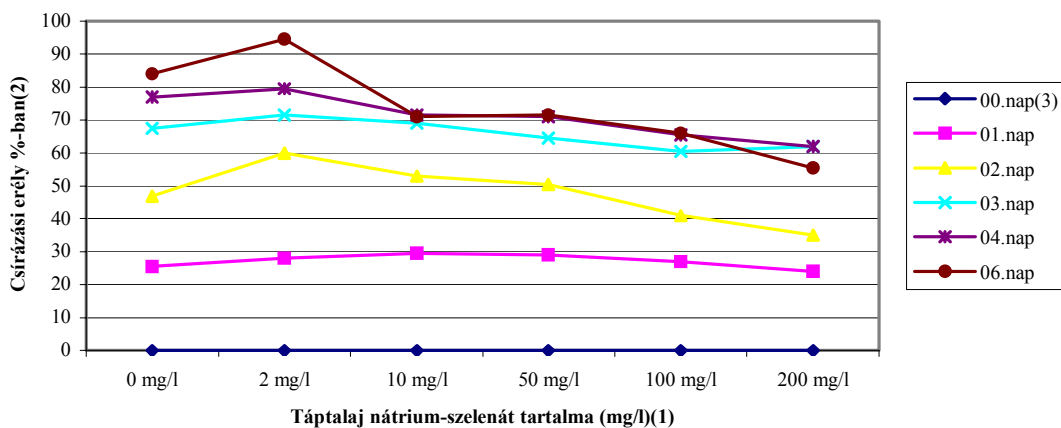


Figure 1: Radish seed germination assay in DW culture medium plotted against sodium-selenate content  
Sodium-selenate content of medium(1), Germination assay %(2), Day(3)

2. ábra: Retek csírázási erély vizsgálata MS-1/2 táptalajon a táptalaj nátrium-szelenát tartalmának függvényében

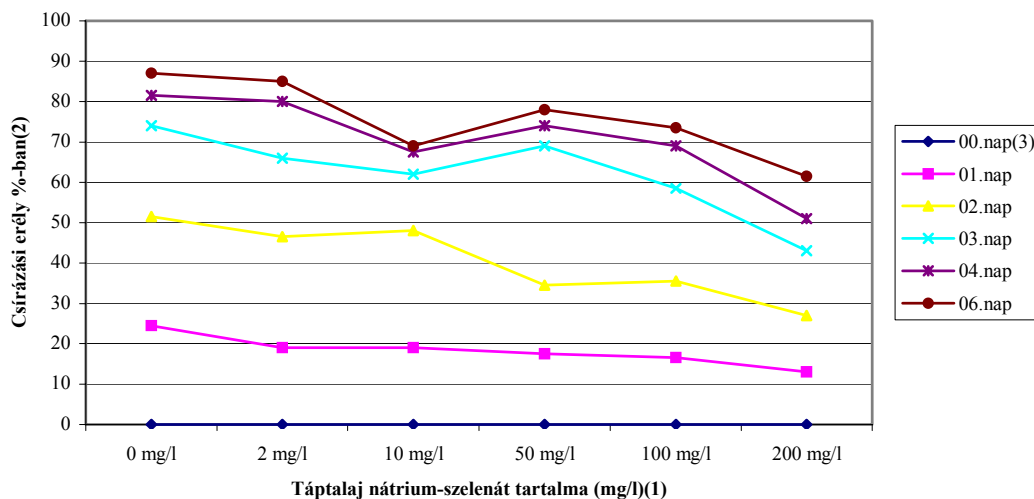


Figure 2: Radish seed germination assay in MS-1/2 culture medium plotted against sodium-selenate content  
Sodium-selenate content of medium(1), Germination assay %(2), Day(3)

3. ábra: Paprika csírázási erély vizsgálata DW táptalajon a táptalaj nátrium-szelenát tartalmának függvényében

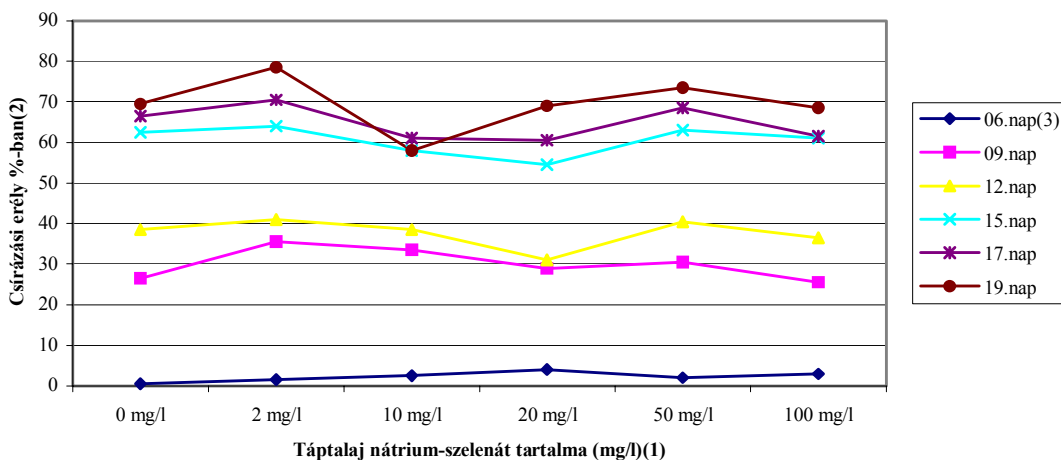


Figure 3: Green pepper seed germination assay in DW culture medium plotted against sodium-selenate content  
Sodium-selenate content of medium(1), Germination assay %(2), Day(3)

4. ábra: Paprika csírázási erély vizsgálata MS-1/2 táptalajon a táptalaj nátrium-szelenát tartalmának függvényében

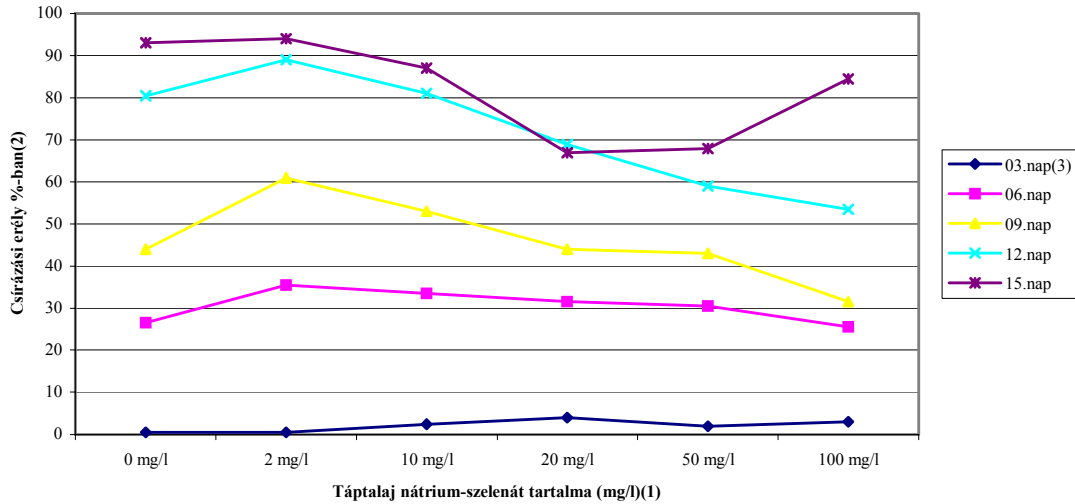


Figure 4: Green pepper seed germination assay in MS-1/2 culture medium plotted against sodium-selenate content Sodium-selenate content of medium(1), Germination assay %(2), Day(3)

**Retek és paprika csírák friss tömeg mérése**

A kísérletek felszámolásakor mértük 20-20 egyed friss tömegét külön hajtás és gyökér részeknél, majd az összes tömeget. 2 mg/l NaSeO<sub>4</sub> tartalmú táptalajon a hajtás tömeg 4,51-16,95%-kal nőtt a kontrollhoz képest, 10 mg/l NaSeO<sub>4</sub> koncentrációnál a kontrollal közel azonos tömeg értékeket kaptunk, 50 mg/l NaSeO<sub>4</sub> koncentrációtól pedig jelentősen csökkent az egyedek hajtás tömege DW és MS-1/2 táptalajon

egyaránt (5. ábra). A gyökér vizsgálat esetében 2 mg/l NaSeO<sub>4</sub> tartalmú táptalajon 47,19%-kal nőtt a tömeg a kontrollhoz viszonyítva, 10 mg/l NaSeO<sub>4</sub> koncentrációtól pedig fokozatosan csökkent DW táptalajon. MS-1/2 táptalajt figyelve 2 mg/l NaSeO<sub>4</sub> tartalmú táptalajon 22,761%-kal nőtt a gyökér tömeg a kontrollhoz képest, szignifikáns tömegcsökkenést csak 200 mg/l NaSeO<sub>4</sub> tartalmú táptalajnál tapasztaltunk.

5. ábra: Retek csírák hajtás és gyökér átlag tömege DW ill. MS-1/2 táptalajon

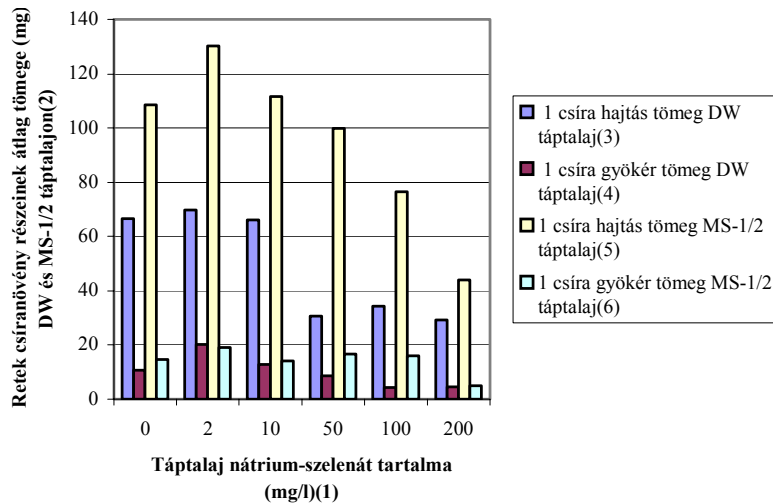


Figure 5: Average of root and shoot mass of radish seedlings cultured on DW and MS-1/2 medium Sodium-selenate content of medium(1), average mass of radish parts in DW and MS-1/2 medium(2), mass of a shoot on DW medium(3), mass of a root on DW medium(4), mass of a shoot on MS-1/2 medium(5), mass of a root on MS-1/2 medium(6)

DW táptalajon a paprika csírák hajtás tömegét már a 2 mg/l NaSeO<sub>4</sub> koncentráció is gátolta, a gyökér tömeg mérésnél ez nem vehető észre (6. ábra). MS-1/2 táptalajon viszont 2 mg/l NaSeO<sub>4</sub> koncentráció segítette a hajtás növekedést, nagyobb koncentrációnál azonban tömeg visszaesést tapasztaltunk a hajtás és a gyökér vizsgálatánál

egyaránt (6. ábra). Érdeemes megfigyelni, hogy az MS-1/2 táptalajon nevelt paprika hajtások tömeg értékei sokkal nagyobbak 50 mg/l NaSeO<sub>4</sub> koncentrációig. A számadatok hűen tükrözik a szemmel is jól látott különbségeket, melynek magyarázata az MS-1/2 táptalajban lévő makro- és mikroelem kiegészítésben kereshető.

6. ábra: Paprika csírák hajtás és gyökér átlag tömege DW ill. MS-1/2 táptalajon

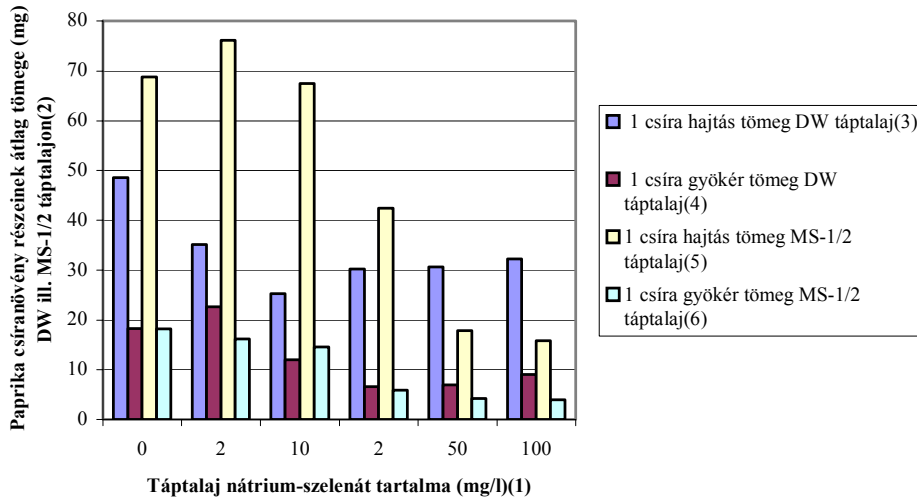


Figure 6: Average of root and shoot mass of green pepper seedlings cultured in DW and MS-1/2 medium

Sodium-selenate content of medium(1), average mass of green pepper parts in DW and MS-1/2 medium(2), mass of a shoot on DW medium(3), mass of a root on DW medium(4), mass of a shoot on MS-1/2 medium(5), mass of a root on MS-1/2 medium(6)

**Retek és paprika csírák szelén tartalma**

A táptalaj NaSeO<sub>4</sub> tartalmának emelkedésével nő a gyökér és a hajtás szelén tartalma a retek csíranövényekben DW és MS-1/2 táptalajon egyaránt (7. ábra). A diagram azt is jól szemlélteti, hogy

mindkét táptalajon a gyökér szelén tartalma magasabb a hajtáshoz viszonyítva, ami abból következik, hogy a szelént a növény a gyökerein keresztül veszi fel a táptalajból és ott egy részét akkumulálja is.

7. ábra: Retekcsíra hajtás és gyökér szelén tartalma DW ill. MS-1/2 táptalajon

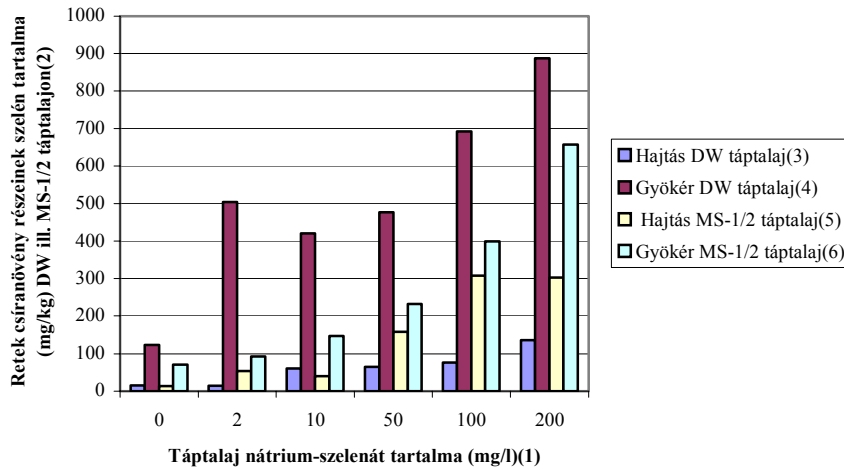


Figure 7: Selenium content in shoot and root parts of radish seedlings cultured on DW and MS-1/2 medium

Sodium-selenate content of medium(1), selenium content of radish parts in DW and MS-1/2 medium(2), shoot on DW medium(3), root on DW medium(4), shoot on MS-1/2 medium(5), root on MS-1/2 medium(6)

A paprika csírák szeléntartalmát eddig csak DW táptalajon mértük. A retek vizsgálathoz hasonlóan itt is látható, hogy a gyökér szignifikánsan több szelént

halmoz fel, mint a hajtás (8. ábra). A táptalaj NaSeO<sub>4</sub> koncentrációnak növekedését követi a gyökér és a hajtás szeléntartalom emelkedése is.

8. ábra: Paprika hajtás és gyökér szelén tartalma DW táptalajon

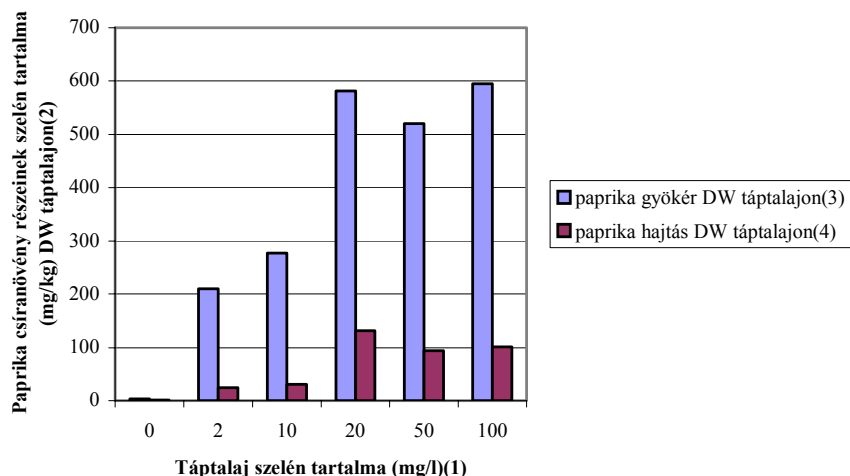


Figure 8: Selenium content of green pepper seedling's shoot and root in DW medium

Sodium-selenate content of medium(1), selenium content of green pepper parts in DW medium(2), root of green pepper on DW medium(3), shoot of green pepper on DW medium(4)

### Retek csírák ACW és ACL tartalma

A vízben oldódó összes antioxidáns értékek (ACW) mindkét táptalaj esetében alacsonyabbak voltak, mint a zsírban oldódó összes antioxidáns (ACL) értékek (9. ábra). Az ACW mennyisége 2-10 mg/l  $\text{NaSeO}_4$  tartalmú táptalajnál mutatott maximumot, ami a tömeg mérések eredményeivel összevetve arra enged következtetni, hogy ez a koncentráció tartomány a retek csíra növekedésére és

fiziológia állapotára nézve is kedvező hatású. Ellenben összes zsírban oldódó antioxidáns kapacitás két maximumot is mutatott: 2 mg/l  $\text{NaSeO}_4$  tartalmú táptalajnál a szelén valószínűleg stimulálja a növény védekezési rendszerét. 50-100 mg/l  $\text{NaSeO}_4$  koncentráció tartomány már gátló hatású a csírák fejlődésére így a megemelkedett ACL szint valószínűleg a toxikus szelén szint kivédésére szolgál.

9. ábra: Retek csíra összes vízben (ACW) és zsírban (ACL) oldódó antioxidáns kapacitásának vizsgálata

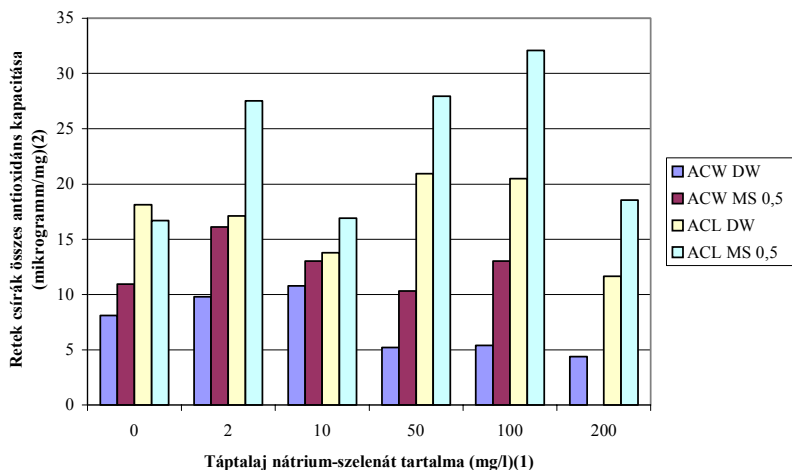


Figure 9: Total antioxidant capacity of radish seedling

Sodium-selenate content of medium(1), Total antioxidant capacity of radish seedling(2)

### EREDMÉNYEK

0-200 mg/l koncentrációjú  $\text{NaSeO}_4$  tartalmú táptalajokon nevelt retek és paprika szelén toleranciája között eltérést tapasztaltunk. Retek csírák friss tömegére a 2 mg/l  $\text{NaSeO}_4$  serkentőleg hatott, ami várható volt révén, hogy a retek szelén akkumuláló (Hanson et al., 2003). A paprikánál

azonban a 2 mg/l nátrium-szelenát stimuláló hatása nem volt egyértelműen kimutatható. A  $\text{NaSeO}_4$  toxikus koncentrációja a paprikánál alacsonyabb volt, mint a retekénél, ami szintén szelén toleranciájukkal magyarázható (Birringer et al., 2002).

A retek csírák összes antioxidáns kapacitásának mérése során 2 mg/l  $\text{NaSeO}_4$  koncentrációnál mutatott maximumot a vízben (ACW) és zsírban

(ACL) oldódó összes antioxidánsok mennyisége egyaránt, ez arra enged következtetni, hogy kis mennyiségű szelén előnyös a csíranövények fiziológiai állapotára. Ugyanakkor a gátló tartományban az ACL vizsgálatnál második maximumot is mértünk. Ennek oka az lehet, hogy zsírban oldódó védőanyagok felhalmozásával kompenzálja a szelén toxikus hatását. Erre vonatkozó

információt azonban a szakirodalomban nem találtunk.

Az eddigi eredményekből végleges következtetések még nem vonhatóak le; a szelénnel kezelt csíranövények *in vitro* morfogenezisének részletes tanulmányozása laboratóriumunkban jelenleg tart.

#### IRODALOM

- Birringer, M.-Pilawa, S.-Flohé, L. (2002): Trends in selenium biochemistry. Nat. Prod. Rep., 19. 693-718.
- Cser M. Á.-Sziklai-László I. (1998): A szelén szerepe a környezetben és egészségvédelemben. Kongresszus, Budapest, 28-45.
- Domokos-Szabolcsy, É.-Kovács, B.-Veres, Zs.-Dudás, L.-Koroknai, J.-Zsila-André, A.-Holb, I.-Fári, M. (2004): Experiments on selenizing vegetable plants. VI. Nemzetközi Élelmiszertudományi Konferencia, Szeged, 20-21. May, 2004, Proceedings
- Eshdat, Y.-Holland, D.-Faltin, Z.-Ben-Hayyim, G. (1997): Plant glutathione peroxidase. Physiol. Plant, 100. 234-240.
- Hanson, B.-Garifullina, G. F.-Lindblom, S. D.-Wangeline, A.-Ackley, A.-Kramer, K.-Norton, A. P.-Lawrence, C. B.-Pilon-
- Smits, A. H. (2003): Selenium accumulation protects Brassica juncea from invertebrate herbivory and fungal infection. New Phytologist, 159. 461-469.
- Standtman, T. C. (1990): Selenium biochemistry. Annu. Rev. Biochem., 59. 111-127.
- Terry, N.-Zayed, A. M.-de Souza, M.-Tarun, A. S. (2000): Selenium in higher plants. Annu. Rev. Plant Mol. Biol., 51. 401-432.
- Ursini, F.-Maiorino, M.-Brigeliusflohe, R.-Aumann, K. D.-Roveri, A.-Schomburg, D.-Flohe, L. (1995): Diversity of glutathione peroxidases. Meth. Enzymol., 252. 38-53.
- Whanger, P. D. (2002): Selenocompounds in plants and animals and their significance. J. Am. Coll. Nutr., 21. 3. 223-232.