

**ПРОТЕКТОРНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТОВ  
РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА СЕМЕНА *ALLIUM CERA L.*****С.А.МАМЕДЛИ<sup>1</sup>, Н.Д.САДЫХОВА<sup>2</sup>**<sup>1</sup> *Институт радиационных проблем НАН Азербайджана,*<sup>2</sup> *Бакинский Государственный Университет*

*Проведено исследование протекторной активности рутина и экстракта грецкого ореха при остром гамма-облучении семян лука *Allium cera L.* Предварительная обработка семян этими препаратами приводила к значительному снижению хромосомных aberrаций в апикальной меристеме проростков лука, полученных из облученных семян.*

*Ключевые слова: *Allium cera L.*, *Sophora japonica L.*, *Juglans regia L.*, семена, гамма-излучение, рутин, экстракт грецкого ореха, хромосомные aberrации*

Изучение закономерностей генетической нестабильности у растений имеет важное фундаментальное и прикладное значение, в частности, для прогнозирования отдаленных последствий облучения различных видов растений с целью сохранения их генофонда. В связи с возрастанием в окружающей среде содержания поллютантов антропогенного происхождения с широким спектром действия, в частности, радионуклидного загрязнения, актуальной задачей является поиск эффективных препаратов природного происхождения, способных оказывать защитное действие на геном клеток. В качестве перспективного источника веществ с радиопротекторными свойствами рассматривают растительный материал, что связано, прежде всего, с его относительной доступностью как сырья, нетоксичностью или низкой токсичностью получаемых из него продуктов, их стабильностью, положительным системным характером воздействия на организмы [4]. В числе других были исследованы радиопротекторные и иммуностимулирующие свойства препаратов из грецкого ореха *Juglans regia L.*, настои и отвары которого используются в фитотерапии при многих заболеваниях [1].

Среди широкого набора протекторов растительного происхождения, кроме стабилизаторов мембран и ДНК, ингибиторов метаболизма и адаптогенов, особое внимание привлекает группа антиоксидантов. Сейчас в медицине применяется рутин, синтезированный химическим путем. В то же время, это вещество содержится во многих растениях. В нашей работе впервые исследованы протекторные свойства рутина природного происхождения. Мы получали рутин из цветков софоры, которая является широко распространенным растением и характеризуется особенно высоким (до 10 %) его содержанием этого вещества.

В чистом виде рутин имеет вид ярко-желтых игольчатых кристаллов, плохо растворимых в воде и ацетоне [2,3].

Повышение уровня мутагенной репарации происходит в период становле-

ния инфекции и определяет относительную приспособленность бактерий во время колонизации и инфицирования у растений. Полагают, что репарация ДНК необходима для полной вирулентности патогенов и для защиты от АКФ, образующихся при окислительном взрыве фагоцитами и потому имеет даже более важное значение, чем активность в клетках патогенов антиоксидантных ферментов (каталазы). В тоже время показано, что у ряда патогенных микроорганизмов слабо развиты конститутивная и индуцированная мутагенная репарация. Поэтому стимулированная изменчивость является результатом локальных изменений хромосом в активных сайтах ДНК, позволяющих сохранить сбалансированный генотип. Такие изменения часто осуществляются путем инверсий, а, как известно, действие инверсий ограничивает кроссинговер (рекомбинацию) и как бы «запирает» изменчивость определенных участков хромосом. Отсутствие генерализованного и сайт-специфического SOS-мутагенеза связывают с дефектом функции хромосомных генов *umuC*. Плазмиды, несущие гены мутабельности способствуют управлению функцией мутабельности и адаптации бактерий.

Таким образом, приведенные факты свидетельствуют о наличии генетической и эпигенетической нестабильности у микроорганизмов. Локализация инсерционных последовательностей в специфических локусах ДНК предопределяет характер и диапазон геномных перестроек, в результате которых могут возникать клетки, имеющие адаптивные преимущества. В целом, спонтанную и индуцированную нестабильность генома микроорганизмов можно рассматривать в качестве одного из механизмов адаптации их популяций, направленных на приспособление к изменяющимся условиям среды [3-5].

Целью данной работы было исследование радиопротекторных свойств экстракта грецкого ореха и рутин, полученного из софоры с использованием метода цитогенетической оценки количества хромосомных aberrаций (ХА) в анафазных клетках *Allium cepa L.*

### Методика

Протекторное действие препаратов растительного происхождения оценивали по выходу ХА в апикальной меристеме корешков проростков лука *Allium cepa L.*, полученных из облученных семян. Цитогенетический анализ нарушений митоза в первичной меристеме лука *A. cepa* рекомендован группой экспертов ВОЗ для оценки мутагенного эффектов [5,6]. В то же время применение этой тест-системы возможно также при скрининге веществ с радиопротекторными и антиоксидантными свойствами.

В опытных вариантах семена *A. cepa* перед облучением предварительно обрабатывали в течении 15 ч раствором рутин или экстрактом грецкого ореха, внося по 10 мл этих растворов на вариант, в контроле использовали дистиллированную воду. Концентрация растворов составляла 0,01 %. Для получения рутин 20 г цветков софоры (*Sophora japonica L.*) заливали 150 мл этилового спирта и кипятили в течении 2 ч в аппарате Сокслет. Полученный экстракт фильтровали и выпаривали на водяной бане. Для удаления масел и других веществ экстракт 2 раза обрабатывали 10 мл этилового эфира. Экстракт грецкого ореха (*Juglans regia L.*) получали из зеленых плодов. Плоды измельчали и промывали пентаном или гексаном для удаления масел. Затем кипятили в течении 5 ч в изопропило-

вом спирте. После этого раствор выпаривали до получения экстракта темно-коричневого цвета.

Облучение семян лука в дозах 1, 2,5, 5, 10 и 15 Гр проводили на установке «ИССЛЕДОВАТЕЛЬ» при мощности дозы 0,02 Гр/с. После облучения семена проращивали на влажной фильтровальной бумаге в чашках Петри при 24 - 28 °С. При появлении первичных корешков длиной 1,0-1,5 см их фиксировали в смеси Карнуа (этиловый спирт : ледяная уксусная кислота в соотношении 3:1) и красили ацетоорсеином [1, 2]. На цитологических препаратах подсчитывали количество aberrантных анафаз и определяли количество ХА на клетку. При применении анафазного метода подсчитывают образующиеся мосты, хромосомные фрагменты, отстающие хромосомы и другие нарушения. В каждом варианте анализировали 100 анафаз и ранних телофаз, не разделяя хромосомные aberrации по отдельным категориям. Частоту aberrантных анафаз выражали в процентах от просмотренных соответствующих фаз митоза (по 200 на каждый вариант). Для статистической обработки полученных данных рассчитывали  $t_d$  и  $p$  по общепринятой методике [3].

#### Результаты и обсуждение

Острое гамма-облучение семян лука в диапазоне доз от 2,5 до 15 Гр вызвало резкое увеличение количества aberrантных анафаз и ХА в меристеме проростков лука по сравнению с контролем (рис.).

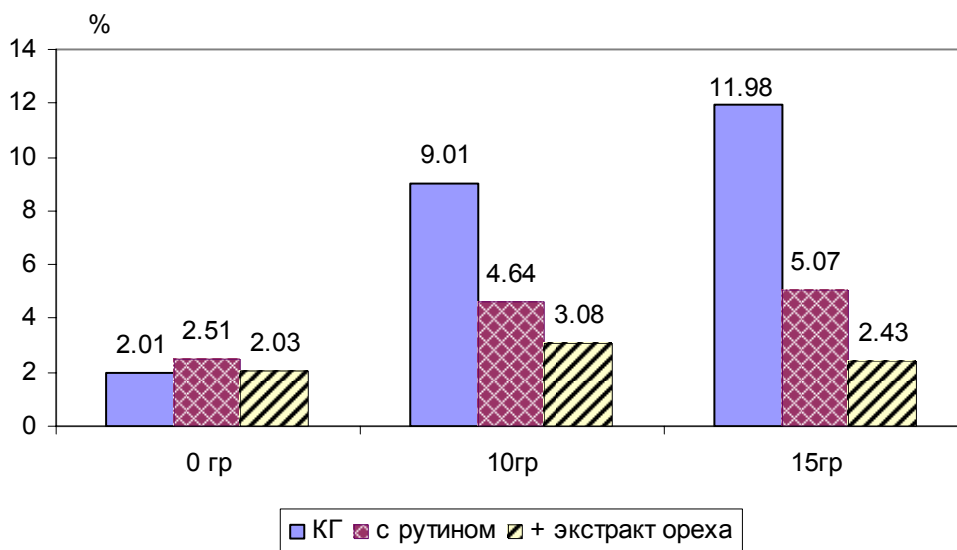


Рис. Влияние гамма-облучения, рутина и экстракта грецкого ореха на выход хромосомных aberrаций у *Allium cepa*. По оси абсцисс - доза облучения, Гр; по оси ординат – выход хромосомных aberrаций, у.е.

Предшествующая облучению обработка рутином приводила к существенному снижению как выхода аберрантных анафаз, так и количества ХА на клетку. Даже при сравнительно высоких дозах облучения в 10 и 15 Гр количество ХА уменьшалось в пределах 2,0 и 2,3 раз соответственно.

Наши результаты о радиозащитном и антимуутагеном действии рутина согласуются с ранее полученными другими авторами данными, согласно которым предшествующая облучению обработка семян пшеницы и кукурузы 0,1-0,01 %ными растворами рутина и рутината железа уменьшала угнетение роста и скручиваемость листьев у растений, полученных из облученных семян, стимулировала синтез хлорофиллов и каротиноидов [4]. Экстракт грецкого ореха обладал еще более выраженными протекторными свойствами и уменьшение выхода ХА при этих дозах облучения достигало приблизительно 2,9 и 5 раз. Ранее были исследованы радиопротекторные, иммуностимулирующие и антимуутагенные свойства масел грецкого ореха. В наших опытах впервые показано наличие выраженных антимуутагенных свойств у очищенного от масел экстракта.

Таким образом, снижение выхода ХА при одних и тех же дозах облучения в случае предварительной обработки семян экстрактами рутина и грецкого ореха указывает на наличие у этих препаратов радиопротекторных свойств.

Можно предположить, что радиопротекторный эффект данных растительных экстрактов связан с наличием в их составе веществ с антиоксидантными свойствами.

Острое гамма-облучение семян лука в диапазоне доз от 10 до 15 Гр оказало значительное цитогенетическое воздействие, вызывая увеличение выхода аберрантных анафаз в меристеме проростков лука(рис.).

Предшествующая облучению обработка рутином вызывала существенное снижение как выхода аберрантных анафаз, так и количество ХА на клетку. Даже при сравнительно высоких дозах облучения ( 10 и 15 Гр) количество ХА уменьшалось 1,9 и 2,4 раза, соответственно (рис.). Снижение выхода ХА при одинаковых дозах облучения в случае предварительной обработки семян экстрактом рутина указывает на наличие у него радиопротекторных свойств.

Таким образом, представленные нами данные показывают, что рутин обладает выраженным генозащитным и антимуутагеном действием. Это его свойство может быть использовано для создания препаратов с радиопротекторными свойствами, особенно учитывая доступность его получения из растений.

Синтез защитных пигментов является хорошо изученным ответом растений на воздействие ионизирующего и УФ-излучения. Протекторы и каротиноиды являются важнейшими антиоксидантами липидной природы, которые защищают клетку от воздействия синглетного кислорода, в частности они защищают хлорофиллы от окислительной деструкции. Антиоксидантные свойства каротиноидов зависят от их структуры, степени сродства к клеточным фосфолипидам и липопротеидам, от локализации молекул каротиноидов в мембране и их окружения, а также от парциального давления кислорода[4]. Протекторные свойства растительных экстрактов также связывают с наличием в их составе веществ группы кумаринов, обладающих антиоксидантными свойствами [3]. Радиозащитное действие растительных конденсированных экстрактов типа «Эраконд» объясняют высоким содержанием токоферола [4]. В случае масла грецкого ореха

*J. regia*, его радиозащитное действие связывают с содержанием в нем витаминов А, Е, С, каротиноидов и флавоноидов, обладающих антиоксидантными свойствами [1]. Адаптогенное действие концентрата масла грецкого ореха связывают со способностью ингибировать процессы перекисного окисления липидов.

Не исключено, что вещества, входящие в состав исследованных нами растительных препаратов обладают подобными свойствами.

О наличии антиоксидантов в растительных экстрактах свидетельствуют полученные нами данные о влиянии обработки рутином и экстрактом грецкого ореха на уровень радиационно-индуцированного ПОЛ у растений по параметру накопления его маркера – малонового диальдегида (МДА). Было показано, что предшествующая облучению обработка семян экстрактами рутина, грецкого ореха и софоры вызвала уменьшение концентрации МДА в тканях растений, полученных из облученных семян. Таким образом, уменьшение содержания МДА, обусловленное воздействием растительных экстрактов, указывает на наличие у них антиоксидантных свойств.

Таким образом, нами показано, что предварительная обработка семян лука экстрактом грецкого ореха и рутином софоры приводила к значительному снижению выхода ХА, вызванных действием гамма-облучения. Это подтверждает наличие ярко выраженных радиопротекторных и антимуtagenных свойств у этого препарата.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Абдуллаев А.С., Фараджов М.Ф., Азизов И.В. Масло грецкого ореха как иммуностимулирующее и противолучевое средство от действия различных факторов природно-техногенного происхождения // Проблемы безопасности атомных электростанций і Чернобиля. – 2005. – Вип. 3. Ч. 1. – С. 167-171.
2. Гудков И.Н. Стратегия биологической противорадиационной защиты: радиопротекторы, радиоблокаторы, радиодекорпоранты // Проблемы безопасности атомных электростанций і Чернобиля. – 2005. – Вип. 3. Ч. 1. – С. 133-139.
3. Мамедли С.А. Механизмы генозащитного действия ретинол-ацетата. – К.: Логос, 2004. – 148 с.
4. Rank J., Nielsen M.H. A modified *Allium* test as a tool in the screening of the genotoxicity of complex mixtures // *Hereditas*. – 1993. – № 118. – P. 49-53.
5. Rank J., Jensen A.G., Skov B., Pedersen L.H., Jensen K. Genotoxicity testing of the herbicide Roundup and its active ingredient glyphosate isopropylamine using the mouse bone marrow micronucleus test, *Salmonella* mutagenicity test, and *Allium* anaphase-telophase test // *Mutat. Res.* – 1993. – № 300. – P. 29-36.
6. Гродзинський Д.М., Шиліна Ю.В., Куцоконь Н.К., Міхєєв О.М., Гуца М.І., Коломиєць О.Д., Фалінська Т.П., Овсяннікова Л.Г., Кутлахмедов Ю.О., Пчеловська С.В. Застосування рослинних тест-систем для оцінки комбінованої дії факторів різної природи: Методичні рекомендації по оцінці допустимих рівнів радіонуклідного та хімічного забруднення за їх комбінованої дії. - Київ: Фітосоціоцентр, 2006. - 60 с.

**ALLIUM CEPA L. TOXUMLARINA BİTKİ MƏNŞƏLİ  
PREPARATLARIN PROTEKTOR TƏSİRİ**

**S.A.MƏMMƏDLİ, N.D.SADIXOVA**

**XÜLASƏ**

Qamma şüalarının təsiri altında soğan toxumlarında Rutin və qoz ekstraktının protektor xüsusiyyəti tədqiq olunmuşdur. Toxumların əvvəlcədən bu preparatlarla işlənməsi, şüalanmış soğan toxumları cücərtilərinin meristem hüceyrələrində xromosom aberrasiyalarını nəzərə carpaq dərcədə azaltmışdır.

**PROTECTIVE INFLUENCE OF HERBAL PREPARATIONS  
ON *ALLIUM CEPA L.* SEEDS**

**S.A.MAMEDLI, N.D.SADIXOVA**

**SUMMARY**

The protective activity of routine and walnut extract at the sharp gamma-irradiation of *Allium cepa L.* seeds was investigated. Preliminary processings of seeds by these preparations resulted in significant decrease of chromosomal aberrations in root apex meristem of onion seedlings received from irradiated seeds.

*Key words:* *Allium cepa L.*, *Sophora japonica L.*, *Juglans regia L.*, seeds, gamma-irradiation, routines, walnut extract, chromosomal aberrations