

**ВЛИЯНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ НА ЧАСТОТУ АБЕРРАЦИЙ
ХРОМОСОМ, ИНДУЦИРОВАННЫХ ОЗОНОМ
У СЕМЯН ПШЕНИЦЫ РАЗНЫХ СОРТОВ**

М.Ш.БАБАЕВ, Н.З.БАХШАЛИЕВА
Бакинский Государственный Университет
natavanscience@mail.ru

Проведена оценка антимутагенной активности ряда синтетических антиоксидантов в отношении мутационного процесса, индуцированного озоном у семян пшеницы 2 сортов- Гобустан и Эземетли-95. Установлены наиболее эффективные концентрации испытываемых соединений.

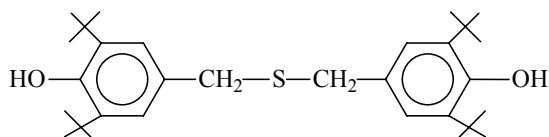
Введение. Биосфера – это уникальная оболочка нашей планеты, состав, структура и энергетика которой в основном детерминированы прошлой и настоящей деятельностью живых организмов. Одной из главных проблем современности является проблема Биосфера и человечество. Это касается глобальных нарушений в биосфере, региональных и локальных ее изменений. Возможности воздействия человека на природу постоянно растут и уже достигли такого уровня, когда возможно нанести биосфере непоправимый ущерб. Экологические последствия загрязнений широко известны, они влияют на здоровье людей, на природные сообщества, на сельское хозяйство. Источников мутагенной активности, обусловленных деятельностью человека, множество. Надо также иметь в виду тот факт, что многим из них свойственны генетические последствия. Доказано, что в биосферу вводятся агенты, которые способны проникать в зародышевые и соматические клетки и поражать в них молекулы ДНК. Их количество и активность постоянно возрастают. К ним относятся и химические мутагены, и канцерогены, и ионизирующая радиация [1, 2]. Влияние мутагенов среды на генетический аппарат человека и других организмов имеет сложный, комплексный характер. Чтобы понять характер и размеры этих влияний, нарушающих жизнедеятельность организмов и эволюцию живого, осознать их генетические последствия, необходимо всесторонне оценить роль нарушений наследственного аппарата организмов под действием мутагенов среды и значение способов защиты от повреждений ДНК, в которой записаны генетические программы организмов [3]. Управление процессами устойчивости организмов с помощью антимутагенов считается на сегодняшний день одним из наиболее радикальных и перспективных путей поддержания на оптимальном уровне частоты спонтанных мутаций и коррекции индуцированного мутагенеза.

На сегодняшний день при существующем уровне загрязнения окружающей среды различными физическими и химическими факторами, в том числе озоном, поиск новых высокоэффективных антиоксидантов для защиты орга-

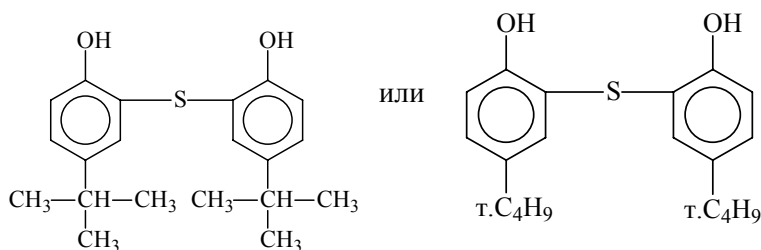
низмов особенно актуален. Озон – сильнейший окислитель в приземном воздухе, относится к веществам наивысшего класса опасности и превосходит по токсичности цианистый газ. Механизм его биологического действия, по крайней мере, частично, по-видимому, включает участие радикалов. В атмосфере озон образуется на свету при реакции оксидов азота с углеводородами. Озон в тропосфере снижает продуктивность сельскохозяйственных культур. Механизм воздействия озона на биологические объекты на генетическом уровне не выяснен до конца. Необходимы также фундаментальные исследования, направленные на изучение механизма генозащитного действия антиоксидантов. Этим вопросам и посвящено настоящее исследование.

Материал и методика. Объектом исследования служила важнейшая сельскохозяйственная культура – пшеница. Работа проводилась на свежих семенах 2 сортов пшеницы – Гобустан и Эземетли-95 (урожай 2008 года).. Семена хранились в условиях озона 10 минут при постоянной дозе озона (1,3 мг/л). В опытах был использован озонатор, созданный в отделе Физика Биологических Систем Института Физических Проблем при БГУ [4]. В работе использовались четыре новосинтезированных на кафедре Органической химии химического факультета БГУ антиоксиданта, любезно предоставленные нам для исследований в качестве высокоэффективных антимуtagens.

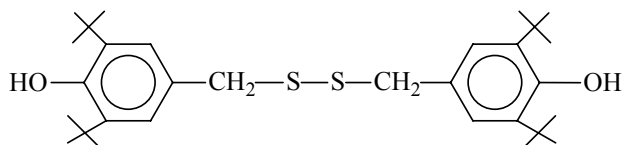
Хранившиеся в условиях озона семена далее обрабатывались свежеприготовленными растворами данных антиоксидантов:



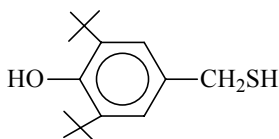
1,1'-Дигидрокси-2,2',6,6'-тетратерьбутилдипенилсульфид (соединение I);



1,1'-Дигидрокси-4,4'-дитерьбутилдифенилсульфид (соединение II)



1,1'-Дигидрокси-2,2',6,6'-тетратерьбутилдипенилдисульфид (соединение III)



1-Гидрокси-2,6-дитретьбутилбензилмеркаптан (соединение IV)

в течение 20 часов при комнатной температуре. Это производные ароматических фенолов, плохо растворяющиеся в воде и хорошо растворяющиеся в спирте. Использовались 0,1%, 0,1%, 0,001%, 0,0001%, 0,25% и 0,5% концентрации антиоксидантов.

По истечении времени обработки антиоксидантами семена промывали проточной водопроводной водой в течение 20 минут и помещали в чашки Петри для проращивания в термостате при температуре 24-25°C.

Далее проростки (0,8-1,0 см) фиксировали в смеси этилового спирта в уксусной кислоте (3:1). Корневую меристему окрашивали ацетокармином и готовили временные давленные препараты. Анализировали частоту aberrаций хромосом в клетках апикальной меристемы проростков семян пшеницы, а также уровень клеточной пролиферации. Контролями служили интактные семена, проращиваемые на воде. Все экспериментальные данные обрабатывали общепринятыми методами математической статистики [5, 6].

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты исследования представлены в виде таблиц и графиков. В таблицах 1, 2, 3 и 4 приведены результаты изучения модификации антиоксидантами мутационного процесса, индуцированного озоном в клетках апикальной меристемы проростков семян пшеницы сорта Гобустан.

Из полученных данных видно, что обработка семян соединением I после их хранения в озонной среде значительно снижает частоту aberrаций, индуцированных испытываемой дозой озона (таблица 1). В этих случаях более низкая концентрация соединения I вызывает и наибольшее снижение частоты хромосомных aberrаций. Так, под действием 0,1%-ного раствора соединения I частота aberrаций хромосом, индуцированных озоном в дозе 1,3 мг/л, составляла $2,81 \pm 0,65$ %, тогда как в том же озонированном варианте без последующей обработки соединением I она достигала $5,90 \pm 0,98$ %. Следует отметить, что 0,01%-ная концентрация соединения I также эффективно снижала частоту aberrаций хромосом почти в 2 раза ($2,85 \pm 0,68$ %). Однако при высоких концентрациях соединения I не наблюдалось снижения частоты спонтанного мутирования по сравнению с индуцированной озоном частотой aberrаций хромосом.

При обработке семян соединением II после хранения их в озонной среде также наблюдалось снижение частоты aberrаций, индуцированных испытываемой дозой озона (таблица 2). Так, 0,1%-ный раствор соединения II снижал частоту aberrаций хромосом до значения $2,81 \pm 0,61$ %, в то время как в варианте без обработки соединением II эта частота составляла $5,90 \pm 0,98$ %. Отметим, что 0,01%-ная концентрация соединения II также снижала частоту aberrаций хромосом ($3,33 \pm 0,68$ %). Как видно из табл.2 при высоких концентрациях соединения II не наблюдалось снижения частоты индуцированных озоном хромосомных aberrаций.

Таблица 1

Влияние разных концентраций 1,1'-Дигидрокси-2,2',6,6'-тетратретьбутилдобензилсульфида на частоту структурных перестроек в клетках семян пшеницы сорта Гобустан, хранившихся в среде озона разные сроки

Варианты опыта	Изучено		Измененные анафазы		P	ФЭА
	корешков	анафаз	Число	% ± m		
Контроль	10	688	22	3,20 ± 0,67	-	-
O ₃	10	578	34	5,90 ± 0,98	< 0,001	
O ₃ + 0,0001 %	10	550	24	4,36 ± 0,81	< 0,01	0,36
O ₃ + 0,001 %	10	672	23	3,42 ± 0,7	< 0,001	0,07
O ₃ + 0,01 %	10	597	17	2,85 ± 0,68	< 0,05	0,11
O ₃ + 0,1%	10	649	18	2,81 ± 0,65	< 0,05	0,13
O ₃ + 0,25 %	10	613	26	4,24 ± 0,81	< 0,01	0,32
O ₃ + 0,5 %	10	519	21	4,05 ± 0,86	< 0,01	0,26

Таблица 2

Влияние разных концентраций 1,1'- Дигидрокси-4,4'-дигретьбутилдифенилсульфида на частоту структурных перестроек в клетках семян пшеницы сорта Гобустан, хранившихся в среде озона разные сроки

Варианты опыта	Изучено		Измененные анафазы		P	ФЭА
	корешков	анафаз	Число	% ± m		
Контроль	10	688	22	3,20 ± 0,67	-	-
O ₃	10	578	34	5,90 ± 0,98	< 0,001	
O ₃ + 0,0001 %	10	436	22	5,05 ± 1,05	< 0,001	0,58
O ₃ + 0,001 %	10	603	26	4,31 ± 0,82	< 0,01	0,34
O ₃ + 0,01 %	10	691	23	3,33 ± 0,68	< 0,01	0,04
O ₃ + 0,1%	10	712	20	2,81 ± 0,61	< 0,05	0,12
O ₃ + 0,25 %	10	695	24	3,42 ± 0,69	< 0,01	0,07
O ₃ + 0,5 %	10	516	21	4,07 ± 0,87	< 0,01	0,27

Соединения III и IV также обладают антимуtagenной активностью. Снижение частоты aberrаций хромосом при обработке соединением III наблюдалось в случае применения 0,1% (2,80 ± 0,62%) и 0,01%-ного (3,42±0,68%) растворов антиоксиданта (таблица 3). Аналогично, обработка семян, хранившихся в условиях озона соединением IV, снижала частоту aberrаций в концентрациях 0,1% (2,12±0,55%) и 0,01% (2,79±0,63%) (таблица 4). Согласно полученным данным, высокие концентрации испытываемых антиоксидантов не снижали частоту индуцированных озоном хромосомных aberrаций.

Таблица 3

Влияние разных концентраций 1,1'-Дигидрокси-2,2',6,6'-тетратретьютилдипензилдисульфида на частоту структурных перестроек в клетках семян пшеницы сорта Гобустан, хранившихся в среде озона разные сроки

Варианты опыта	Изучено		Измененные анафазы		P	ФЭА
	корешков	анафаз	Число	% ± m		
Контроль	10	688	22	3,20 ± 0,67	-	-
O ₃	10	578	34	5,90 ± 0,98	< 0,001	
O ₃ + 0,0001 %	10	604	27	4,47 ± 0,84	< 0,01	0,39
O ₃ + 0,001 %	10	667	26	3,90 ± 0,75	< 0,01	0,22
O ₃ + 0,01 %	10	701	24	3,42 ± 0,68	< 0,01	0,07
O ₃ + 0,1%	10	715	20	2,80 ± 0,62	< 0,05	0,12
O ₃ + 0,25 %	10	712	31	4,35 ± 0,76	< 0,01	0,36
O ₃ + 0,5 %	10	641	27	4,21 ± 0,79	< 0,01	0,31

Таблица 4

Влияние разных концентраций I-Гидрокси-2,6-дитретьютилбензилмеркаптана на частоту структурных перестроек в клетках семян пшеницы сорта Гобустан, хранившихся в среде озона разные сроки

Варианты опыта	Изучено		Измененные анафазы		P	ФЭА
	корешков	анафаз	Число	% ± m		
Контроль	10	688	22	3,20 ± 0,67	-	-
O ₃	10	578	34	5,90 ± 0,98	< 0,001	
O ₃ + 0,0001 %	10	688	23	3,34 ± 0,68	< 0,01	0,04
O ₃ + 0,001 %	10	712	26	3,65 ± 0,7	< 0,01	0,14
O ₃ + 0,01 %	10	681	19	2,79 ± 0,63	< 0,05	0,13
O ₃ + 0,1%	10	660	14	2,12 ± 0,55	< 0,05	0,33
O ₃ + 0,25 %	10	476	22	4,62 ± 0,96	< 0,01	0,44
O ₃ + 0,5 %	10	593	24	4,05 ± 0,81	< 0,01	0,26

Результаты оценки антимуtagenной активности испытываемых соединений на пшенице сорта Эзметли-95 приводятся на рисунках 1, 2, 3 и 4. Как видно из этих данных, результаты аналогичны полученным ранее. Так, соединение I при обработке им семян сорта Эзметли-95, хранившихся в условиях озона, значительно снижает частоту aberrаций хромосом (рис. 1). Если в варианте без обработки антиоксидантом частота aberrаций составляла 5,31±0,91%, то после обработки 0,1% раствором соединения I эта частота падала до 2,74±0,63%. Эффективность проявляла также 0,01% концентрация антиоксиданта (3,14±0,74%). Отметим, что как и в случае с предыдущим сортом пшеницы сорта Гобустан, более высокие концентрации антиоксиданта не проявили существенной антимуtagenной активности при обработке ими семян, хранившихся в условиях озона.

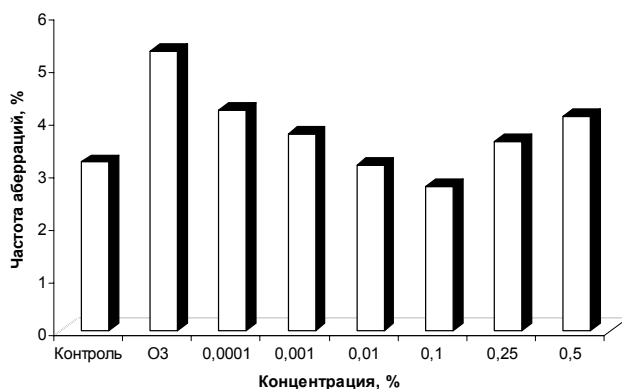


Рис. 1. Влияние разных концентраций 1,1'-Дигидрокси-2,2'6,6'-тетратертбутилдобензилсульфида на частоту структурных перестроек в клетках семян пшеницы сорта Эзметли-95, хранившихся в среде озона разные сроки

Обработка семян, хранившихся в условиях озона соединением II, наиболее эффективно снижала частоту индуцированных перестроек хромосом в концентрациях 0,1% ($2,77 \pm 0,61\%$) и 0,01% ($3,53 \pm 0,69\%$) (рис. 2).

Аналогично, в случае применения соединений III и IV мы наблюдали антимуtagenное действие испытываемых соединений в отношении мутационного процесса, индуцированного у семян пшеницы озоном. Наибольшее снижение частоты хромосомных aberrаций у семян пшеницы сорта Эзметли-95 при обработке соединением III было отмечено в случае применения 0,1% и 0,01% концентраций антиоксиданта (рис. 3). Активность соединения IV показана на рисунке 4 – если в варианте без обработки антиоксидантом частота хромосомных aberrаций составляла $5,31 \pm 0,91\%$, то последующая обработка семян соединением IV достоверно снижала этот показатель и оказалась наиболее эффективной при 0,1% ($2,29 \pm 0,56\%$) и 0,01% ($2,66 \pm 0,59\%$) концентрациях испытываемого антиоксиданта.

Таким образом, нами было проведено исследование антимуtagenных свойств четырех синтетических антиоксидантов и обнаружено, что каждый из них обладает антимуtagenной активностью в отношении мутационного процесса, индуцированного у семян пшеницы разных сортов озоном. Исходя из полученных данных следует отметить, что все испытываемые антиоксиданты при 0,1 и 0,01%-ных концентрациях оказались наиболее эффективными. Для установления универсальности антимуtagenного действия этих концентраций испытываемых антиоксидантов, считаем целесообразным испытать их и на других биологических объектах.

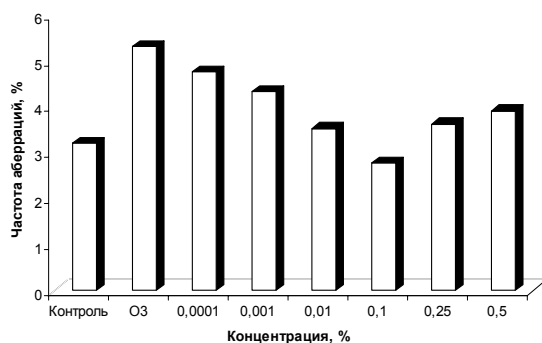


Рис. 2. Влияние разных концентраций 1,1'-Дигидрокси-4,4'-дитретьбутилдифенилсульфида на частоту структурных перестроек в клетках семян пшеницы сорта Эзаметли-95, хранившихся в среде озона разные сроки

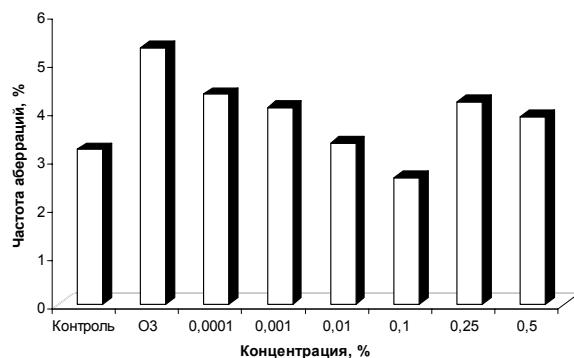


Рис. 3. Влияние разных концентраций 1,1'-Дигидрокси-2,2',6,6'-тетратретьбутилдобензилдисульфида на частоту структурных перестроек в клетках семян пшеницы сорта Эзаметли-95, хранившихся в среде озона разные сроки

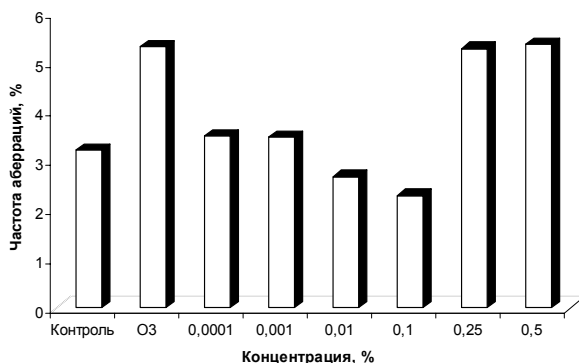


Рис. 4. Влияние разных концентраций 1-Гидрокси-2,6-дитретьбутилбензилмеркаптана на частоту структурных перестроек в клетках семян пшеницы сорта Эзаметли-95, хранившихся в среде озона разные сроки.

Выводы. При обработке семян пшеницы разных сортов различными концентрациями соединений I, II, III и IV после воздействия озоном в дозе 1,3 мг/л наибольшую антимуутагенную активность проявляли 0,1 и 0,01%-ные концентрации испытываемых антиоксидантов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Никитин Д.П., Новяков Ю.В. Окружающая среда и человек. Учебное пособие для студентов вузов. М.: Высшая школа, 1980, 424 с.
2. Векслер И. Экологические катаклизмы: опасности реальные и мнимые. Вестник, №14(195), 1998, с. 35-38.
3. Дубинин Н.П. Новое в современной генетике. М.: Наука, 1986, 222 с.
4. Бахшалиева Н.З., Бабаев М.Ш., Давудов Б.Б. Влияние озона на частоту aberrаций хромосом у семян пшеницы в зависимости от времени его экспозиции. Успехи современного естествознания. М.: 2009, №5, с.11-14.
5. Лакин Б.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1980, 293 с.
6. Рокицкий П.В. Введение в статистическую генетику. Минск: 1974, 448 с.

ANTIOKSIDANTLARIN MÜXTƏLİF SORT BUĞDA TOXUMLARINDA OZONLA İNDUKSIYA OLUNMUŞ XROMOSOM ABERRASIYALARININ TEZLİYİNƏ TƏSİRİ

M.Ş.BABAYEV, N.Z.BAXŞƏLİYEVƏ

XÜLASƏ

Qobustan və Əzəmətli-95 buğda sortlarında ozonla induksiya olunmuş mutasiya prosesində bir sıra sintetik antioksidantların antimutagen effekti öyrənilmişdir. Öyrənilmiş antioksidantların yüksək effektiv konsentrasiyaları müəyyən olunmuşdur.

INFLUENCE OF ANTIOXIDANTS ON THE FREQUENCY OF CHROMOSOME ABERRATIONS INDUCED BY OZONE IN WHEAT SEEDS

M.Sh.BABAYEV, N.Z.BAKHSHALIYEVƏ

SUMMARY

The article deals with the assessment of antimutagen activity of some synthetic antioxidants concerning the mutational process induced by ozone in wheat seeds. The most effective concentration of the tested solutions is established.