

АНТИМУТАГЕННЫЙ ЭФФЕКТ РЯДА НОВОСИНТЕЗИРОВАННЫХ АНТИКОСИДАНТОВ В КОРЕШКАХ СЕМЯН ЛУКА-БАТУНА, ХРАНИВШИХСЯ В УСЛОВИЯХ ОЗОНА*

Аннотация. Показана зависимость цитогенетического воздействия озона от времени экспозиции при изучении его влияния на частоту аббераций хромосом у семян лука-батуна. Проведена оценка антимутагенной активности ряда синтетических антиоксидантов в отношении мутационного процесса, индуцированного озоном у семян лука-батуна, и установлены наиболее эффективные их концентрации.

Ключевые слова: озон, антиоксидант, семена, лук-батун, абберации хромосом.

На сегодняшний день загрязнение окружающей среды химическими и физическими факторами, в результате действия которых в живых организмах образуются свободные радикалы, приобрело глобальный характер и поставило человечество на грань экологической катастрофы. Хотя продолжительность жизни этих свободных радикалов исчисляется долями секунды, они успевают интенсивно действовать на генетический аппарат организма и вызывают нежелательные мутации, вследствие чего возникают различные болезни [1]. Изучение изменений, возникающих в структуре хромосом под воздействием физических или химических факторов (ионизирующих излучений, азотистого иприта, озона и др.), представляет интерес с различных точек зрения. В последние годы частоту хромосомных аббераций все чаще используют как показатель повреждения клеток при изучении кинетики клеточной популяции в облученных тканях, злокачественных опухолях и пр. [4]. Очень важное значение имели работы, в которых выявили способность озона вызывать хромосомные абберации у растений [7]. Однако механизм воздействия озона на биологические объекты на мембранном уровне пока не выяснен до конца и требует дальнейших исследований.

При существующем уровне загрязнения окружающей среды различными физическими и химическими факторами особенно актуален поиск новых высокоэффективных антиоксидантов для защиты организмов, а также фундаментальные исследования, направленные на изучение механизмов генозащитного действия антиоксидантов.

Этим вопросам и посвящено настоящее исследование.

Материалы и методы исследований

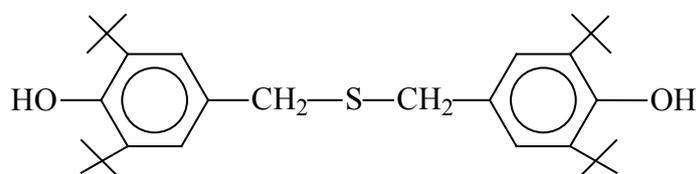
Эксперименты выполнены на свежих семенах лука-батуна *Allium fistulosum* L. Семена хранились в озоновой среде 5, 10, 15, 20, 25, 30 минут при постоянной дозе озона (1,3 мг/л). В опытах был использован озонатор, созданный в отделе физико-биологических систем Института физических проблем при БГУ [3]. Он состоял из активного элемента, работающего на основе двухбарьерного разряда. Высоковольтным электродом является графит, низковольтным – обычная водопроводная вода из-под крана. Она также охлаждала систему электродов. В качестве барьеров служили стеклянные трубки. Ток разряда был равен 15 мА. Частота питающего напряжения – 600 Гц. Расход нагоняемого воздуха через генератор был равен 3 л/мин. Во время экспериментов эти параметры поддерживались постоянными. Также исключалось наличие в озono-воздушной смеси

* © Бахшалиева Н.З., Бабаев М.Ш.

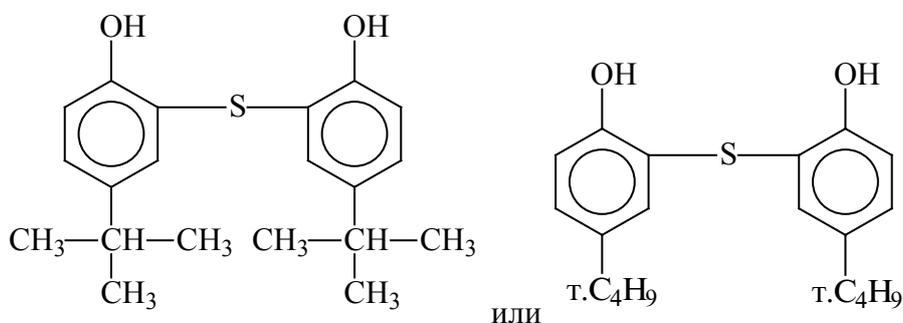
примесей тяжелых металлов, ввиду возможного их воздействия на мутагенность клеток. Температура в контактной камере образцов с озоном поддерживалась постоянной. Исключалось попадание какого-либо излучения на камеру извне [2].

В одном случае семена по истечении времени обработки озоном промывали проточной водопроводной водой в течение 20 минут и инкубировали на воде при температуре 24°C.

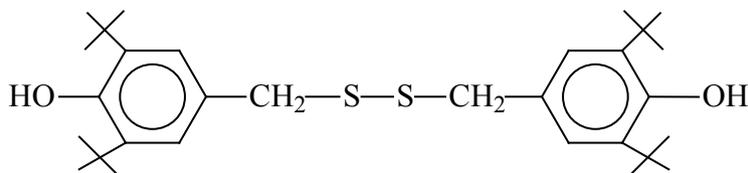
Во втором случае хранившиеся в условиях озона 10 минут семена далее обрабатывали свежеприготовленными растворами данных антиоксидантов:



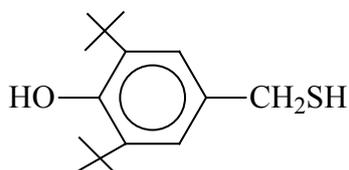
1,1'-Дигидрокси-2,2',6,6'-тетратертьбутилдобензилсульфид (соединение I);



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



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



1-Гидрокси-2,6-дитертьбутилбензилмеркаптан (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 (0,6-0,8 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 растений, а также уровень клеточной пролиферации. Контролями служили интактные семена, проращиваемые на воде. Все экспериментальные данные обрабатывали общепринятыми методами математической статистики [5; 6].

Результаты исследований

Результаты изучения цитогенетического влияния озона на семена лука-батуна показаны в таблице и на рис. 1. В данном исследовании выявлена зависимость частоты хромосомных aberrаций от продолжительности хранения семян в условиях озона.

Как видно из данных табл. 1, частота спонтанных мутаций у семян лука-батуна составляла $2,66 \pm 0,65\%$. В вариантах с озоном этот показатель значительно повышался. Так, 5-минутная экспозиция озона повышала частоту aberrаций хромосом до $4,23 \pm 0,88\%$, далее, при 10-минутной экспозиции, этот показатель был равен $4,27 \pm 0,8\%$. Эти тенденции наблюдаются в начальных (5-15 минут) и конечных (25-30 минут) экспозициях. Как видно из таблицы, эта частота aberrаций хромосом снижается при дальнейшем увеличении времени экспозиции озона и при времени экспозиции 20 минут она составляла лишь $2,38 \pm 0,63\%$.

Полученные в данном исследовании результаты аналогичны полученным ранее на семенах пшеницы разных сортов и подтверждают влияние продолжительности хранения семян в условиях озона на его цитогенетический эффект.

В случае использования антиоксидантов получены результаты, приведенные в таблицах 2, 3, 4 и 5.

Таблица 1

Частота aberrаций хромосом у корешков семян лука-батуна, хранившихся различные сроки в условиях озона

Варианты опыта	Изучено		Измененные анафазы		Достоверность, td
	корешков	анафаз	Число	%±m	
Контроль	10	601	16	$2,66 \pm 0,65$	-
5 м	10	520	22	$4,23 \pm 0,88$	1,44
10 м	10	562	24	$4,27 \pm 0,85$	1,52
15 м	10	616	19	$3,08 \pm 0,69$	0,44
20 м	10	588	14	$2,38 \pm 0,63$	0,25
25 м	10	592	18	$3,04 \pm 0,7$	0,4
30 м	10	558	21	$3,76 \pm 0,80$	1,06

Зависимость частоты хромосомных aberrаций от времени экспозиции озона у семян лука-батуна показана на рис. 1.

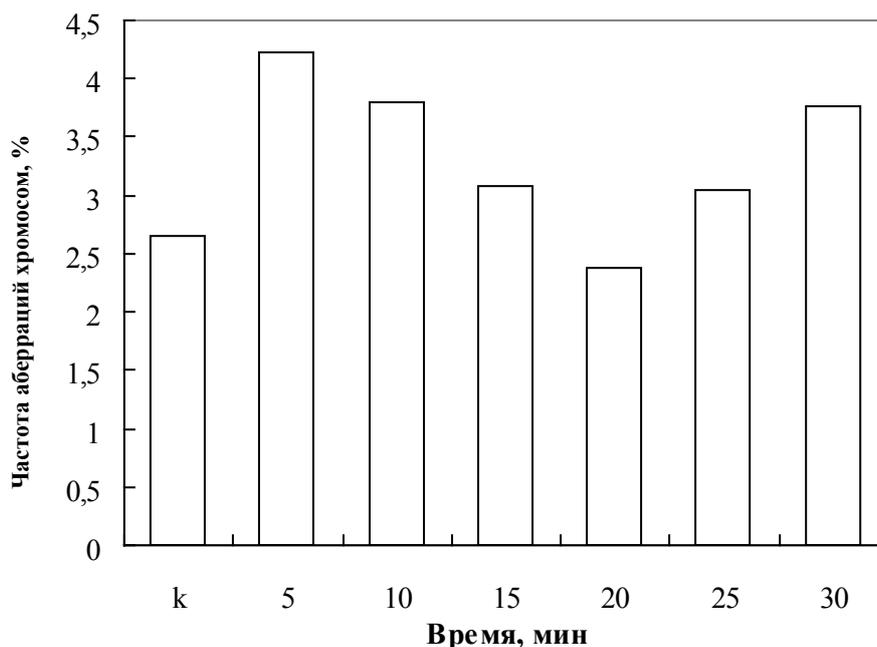


Рис. 1. Частота aberrаций хромосом у корешков семян лука-батуна, хранившихся различные сроки в условиях озона

Из полученных данных видно, что обработка семян соединением I после их хранения в озонной среде значительно снижает частоту aberrаций, индуцированных испытываемой дозой озона (табл. 2). В этих случаях более низкая концентрация соединения I вызывает и наибольшее снижение частоты хромосомных aberrаций. Так, под действием 0,1%-го раствора соединения I частота aberrаций хромосом, индуцированных озоном в дозе 1,3 мг/л, составляла $2,52 \pm 0,66$ %, тогда как в том же озонированном варианте без последующей обработки соединением I она достигала $5,31 \pm 1,01$ %. Следует отметить, что 0,01%-я концентрация соединения I также эффективно снижала частоту aberrаций хромосом почти в 2 раза ($2,62 \pm 0,71$ %). Однако при высоких концентрациях соединения I не наблюдалось снижения частоты спонтанного мутирования по сравнению с индуцированной озоном частотой aberrаций хромосом.

Таблица 2

Влияние разных концентраций 1,1'-Дигидрокси-2,2',6,6'-тетратретибутилдибензилсульфида на частоту структурных перестроек в клетках семян лука-батуна, хранившихся в среде озона (10 минут)

Варианты опыта	Изучено		Измененные анафазы		P	ФЭА
	корешков	анафаз	число	%±m		
Контроль	10	597	15	$2,51 \pm 0,67$	-	-
O ₃	10	489	26	$5,31 \pm 1,01$	<0,001	-
O ₃ + 0,0001 %	10	470	18	$3,83 \pm 0,88$	<0,01	0,52
O ₃ + 0,001 %	10	588	17	$2,89 \pm 0,69$	<0,001	0,15
O ₃ + 0,01 %	10	496	13	$2,62 \pm 0,71$	<0,05	0,04
O ₃ + 0,1%	10	555	14	$2,52 \pm 0,66$	<0,05	0,004
O ₃ + 0,25 %	10	528	20	$3,78 \pm 0,83$	<0,01	0,5
O ₃ + 0,5 %	10	546	17	$3,11 \pm 0,74$	<0,01	0,24

Таблица 3

Влияние разных концентраций 1,1'-Дигидрокси-4,4'
- дитретьбутилдифенилсульфида на частоту структурных перестроек
в клетках семян лука-батунa, хранившихся в среде озона (10 минут)

Варианты опыта	Изучено		Измененные анафазы		P	ФЭА
	корешков	анафаз	число	%±m		
Контроль	10	597	15	2,51±0,64	-	-
O ₃	10	489	26	5,31±1,01	< 0,001	
O ₃ + 0,0001 %	10	363	16	4,4±1,07	< 0,001	0,75
O ₃ + 0,001 %	10	524	20	3,81±0,83	< 0,01	0,52
O ₃ + 0,01 %	10	612	17	2,77±0,66	< 0,01	0,11
O ₃ + 0,1%	10	638	14	2,19±0,58	< 0,05	0,12
O ₃ + 0,25 %	10	609	18	2,95±0,68	< 0,01	0,17
O ₃ + 0,5 %	10	399	13	3,25±0,89	< 0,01	0,29

При обработке семян соединением II после хранения их в озоновой среде также наблюдалось снижение частоты aberrаций, индуцированных испытываемой дозой озона (табл. 3). Так, 0,1%-й раствор соединения II снижал частоту aberrаций хромосом до значения 2,19±0,58 %, в то время как в варианте без обработки соединением II эта частота составляла 5,31±1,01%. Отметим, что 0,01%-я концентрация соединения II также снижала частоту aberrаций хромосом (2,77±0,66%). Как видно из табл. 3, при высоких концентрациях соединения II не наблюдалось снижения частоты индуцированных озоном хромосомных aberrаций.

Соединения III и IV также обладают антимуtagenной активностью. Снижение частоты aberrаций хромосом при обработке соединением III наблюдалось в случае применения 0,1% (2,08±0,57%) и 0,01%-го (2,77±0,66%) растворов антиоксиданта (табл. 4). Аналогично обработка семян, хранившихся в условиях озона соединением IV, снижала частоту aberrаций в концентрациях 0,1% (1,73 ±0,54%) и 0,01% (2,2±0,6%) (табл. 5). Согласно полученным данным, высокие концентрации испытываемых антиоксидантов не снижали частоту индуцированных озоном хромосомных aberrаций.

Таблица 4

Влияние разных концентраций 1,1'-Дигидрокси-2,2',6,6'
-тетратретьбутилдипенилдисульфидa на частоту структурных перестроек
в клетках семян лука-батунa, хранившихся в среде озона (10 минут)

Варианты опыта	Изучено		Измененные анафазы		P	ФЭА
	корешков	анафаз	Число	%±m		
Контроль	10	688	15	2,51±0,64	-	-
O ₃	10	489	26	5,31±1,01	< 0,001	
O ₃ + 0,0001 %	10	511	19	3,72±0,84	< 0,01	0,48
O ₃ + 0,001 %	10	582	18	3,09±0,72	< 0,01	0,23
O ₃ + 0,01 %	10	613	17	2,77±0,66	< 0,01	0,1
O ₃ + 0,1%	10	624	13	2,08±0,57	< 0,05	0,17
O ₃ + 0,25 %	10	619	25	4,03±0,79	< 0,01	0,6
O ₃ + 0,5 %	10	554	20	3,61±0,79	< 0,01	0,44

Влияние разных концентраций 1-Гидрокси-2,6-дитретьбутилбензилмеркаптана на частоту структурных перестроек в клетках семян лука-батюна, хранившихся в среде озона (10 минут)

Варианты опыта	Изучено		Измененные анафазы		P	ФЭА
	корешков	анафаз	Число	%±m		
Контроль	10	597	15	2,51±0,64	-	-
O ₃	10	489	26	5,31±1,01	< 0,001	
O ₃ + 0,0001 %	10	596	16	2,68±0,66	< 0,01	0,06
O ₃ + 0,001 %	10	636	19	2,98±0,67	< 0,01	0,19
O ₃ + 0,01 %	10	590	13	2,2±0,6	<0,05	0,12
O ₃ + 0,1%	10	576	10	1,73±0,54	<0,05	0,31
O ₃ + 0,25 %	10	388	15	3,86±0,98	<0,01	0,54
O ₃ + 0,5 %	10	502	18	3,58±0,83	<0,01	0,42

Таким образом, исходя из полученных данных следует отметить, что все испытываемые антиоксиданты при 0,1 и 0,01%-х концентрациях проявили себя как высокоэффективные антимуагены.

Выводы

При воздействии озона на семена лука-батюна было выявлено, что частота aberrаций хромосом зависит от продолжительности хранения семян в условиях озона.

При обработке семян лука-батюна различными концентрациями соединений I, II, III и IV после воздействия озоном в дозе 1,3 мг/л наибольшую антимуагенную активность проявляли 0,1 и 0,01%-е концентрации испытываемых антиоксидантов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Бабаев М.Ш., Акперова Г.А. Экология питания и роль антиоксидантов в продолжительности жизни. – Баяк: Изд-во БГУ, 1999. – 62 с.
2. Бабаев М.Ш., Мамедов Н.А., Давудов Б.Б., Алекперов Ш.Ш., Магеррамова Л.М. // Активность семян пшеницы сорта Тярягги в зависимости от времени воздействия озона. Общество Образование Аз. Респ. Журнал Знание. Сер. Химия, Биология, Медицина, №1 (23), 2005. – С. 101-105.
3. 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.
4. Ивенс Х. Повреждения хромосом ионизирующими излучениями. – М.: Атомиздат, 1966. – 95 с.
5. Лакин Б.Ф. // Биометрия. – М.: Высш. шк., 1980. – 293 с.
6. Рокицкий П.В. // Введение в статистическую генетику. – Минск, 1974. – 448 с.
7. Oehlkers F.Z. Induktive Abstammungs- und Vererbungslehre, 81 313 (1943).

N. Bakhshalieva, M. Babaev

ANTIMUTAGEN EFFECT OF SOME NEWSYNTHESIZED ANTIOXIDANTS IN THE ROOTLETS OF THE SEEDS OF ALLIUM, WHICH WERE KEPT UNDER THE CONDITIONS OF OZONE

Abstract. During the study the influence of ozone on the frequency of the aberrations of chromosomes in seeds of allium has been shown its dependence cytogenetic action on the time of the exposure. It is lead an estimation of antimutagen activity of some synthetic antioxidants concerning the mutational process induced by ozone in seeds of allium and the most effective concentration of tested solutions was established.

Key words: ozone, antioxidant, seeds, allium, the aberration of chromosomes.