

**НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК АЗЕРБАЙДЖАНА
ИНСТИТУТ ПОЧВОВЕДЕНИЯ И АГРОХИМИИ**

На правах рукописи

СЕВИЛЬ АКИФ КЫЗЫ МАМЕДЛИ

**РАДИОПРОТЕКТОРНЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ, СНИЖАЮЩИЕ
НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ГЕНОМА, ИНДУЦИРОВАННУЮ
ГАММА И УФ ФАКТОРАМИ**

**2426.01 – экология
2418.01 – радиобиология**

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук**

Баку-2016

Работа выполнена в лаборатории радиопротекторов Института Радиационных Проблем НАН Азербайджана и отделе Биофизики и Радиобиологии Института Клеточной Биологии и Генетической Инженерии НАН Украины

Научные консультанты: академик НАН Украины,
доктор биологических наук
Д.М.Гродзинский
доктор физико-математических наук,
проф. **Р.И. Халилов**

Официальные оппоненты: академик, Заслуженный деятель науки и техники Украины, д.б.н., проф.
И.Н.Гудков
д.б.н. **А.О.Мамедова**
д. б. н., проф. **Н.М. Исмаилов**

Ведущая организация: Кафедры экологии и ботаники
Гянджинского Государственного
Университета, г. Гянджа.

Защита диссертации состоится «_03_» __05__2016 г. в__ час.
на заседании Диссертационного совета Д.01.041 по защите канди-
датских и докторских диссертаций при Институте Почвоведения и
Агрохимии НАН Азербайджана по адресу:
Баку-AZ-1173, ул.М. Рагима 5.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института
Почвоведения и Агрохимии НАН Азербайджана.

Автореферат разослан «_____» _____ 2016 г.

**Ученый секретарь диссертационного
Совета Д.01.041, д.а.н., проф.**

А.П.Герайзаде

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В последнее время показано усиление воздействия различных стрессовых факторов, обусловленное деятельностью человека, на организмы – как эукариоты, так и прокариоты. Одним из последствий возрастания антропогенной нагрузки на организмы является увеличение нестабильности их геномов. Известно, что у человека и животных повышенный уровень нестабильности генома является вероятной причиной нарушений индивидуального развития организма, увеличения частоты генеративных и соматических мутаций, повышенного риска онкологических заболеваний, причиной ускоренного старения и сокращения продолжительности жизни [Афанасьева и др., 2005; Jackson, Loeb, 1998; Мазник, Винников, 2005]. В основе экологической проблемы, реально угрожающей нашему дальнейшему существованию, лежит множество факторов. Но если отдельные из них являются величинами переменными, изменчивыми, то несколько фактора по праву можно считать основополагающими в силу их неизменности, постоянства. Именно они и препятствуют любым попыткам успешного решения проблемы. Поэтому все попытки решения экологической проблемы стандартными методами обречены на провал. Спасать разрозненные части неделимого организма, спасать весь организм целиком, перекрыв каналы загрязнения невозможно. Экология пытается установить причину заболеваний в непосредственной связи с окружающей средой, при этом учитывается большое разнообразие экологических факторов, нозологических форм заболеваний и генетических особенностей человека. Физические, химические агенты -обычные загрязнители окружающей среды. Особенности образа жизни человека (злоупотребление алкоголем, курение) также могут быть включены в список факторов риска.

Индуктором заболевания у человека могут быть различные причины. С одной стороны, это генетические дефекты наследственного аппарата, проявляющиеся в виде пигментной ксеродермы, синдрома Дауна и др. С другой стороны, средовые воздействия в сочетании с генетическими изменениями формируют огромное количество нозологических форм заболеваний. На основе этого можно сделать вывод, что рост числа хронических заболеваний во многом определяется факторами окружающей среды (абиотическими и биологическими). Согласно по литературным данным всех ежегодных смертей в мире обусловлено действием окружающей среды и неправильным

образом жизни, большинство злокачественных новообразований вызывается факторами окружающей среды и только 10% имеет другими факторами.

В связи с этим интерес к проблеме защиты генома возрастает. В настоящее время можно выделить, по крайней мере, два основных направления таких исследований - разработка методов защиты клеток и организмов от воздействия мутагенов внешней среды и поиск эффективных протекторов против процессов индуцированного мутагенеза и канцерогенеза.

Нестабильность генома – это свойство генома, обеспечивающее его изменчивость [Афанасьева и др., 2005]. Генетическая нестабильность проявляется в увеличении скорости (частоты) формирования изменений в геноме, возникающих как спонтанно, так и под влиянием различных факторов. К проявлениям генетической нестабильности можно отнести увеличение частоты хромосомных aberrаций, генных мутаций и др. При этом мутации могут возникать не сразу после воздействия стресс-фактора, а после десятков циклов репликации (реплицирующаяся нестабильность) [Гребнева, 2001; Браун, 1968; Morgan, 2003]. По некоторым данным, до половины всех мутаций может проявляться в форме реплицирующейся нестабильности [Гребнева, 2001]. Результаты изучения динамики цитогенетических эффектов в лимфоцитах крови ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС свидетельствуют о достоверном повышении у них частоты всех видов хромосомных aberrаций [Мазник, Винников, 2005; Coretchi, 2005].

Высшие растения, в отличие от других организмов, "прикреплены" к месту своего произрастания и не могут его поменять даже при самых неблагоприятных изменениях условий окружающей среды. Видимо, поэтому они выработали отличные от низших организмов механизмы защиты от действия стрессовых факторов. Одним из таких механизмов, реализующихся на организменном и популяционном уровнях, является высокая пластичность генома растений [Кунах, 1995; Кунах, 2000; Соловьян, 1991]. Так, усиление геномной изменчивости (нестабильности) у них отмечается при действии стрессов разной этиологии: неоптимальных температурах, засолении, засухе, вирусных и бактериальных инфекциях, высушивании и старении семян, механических повреждениях и других. Состояние нестабильности генома, индуцированное воздействием различных факторов, рассматривают как проявление его готовности к адаптационным изменениям, направлениям на приспособление

вида к изменяющимся условиям внешней среды [Мазурик, Михайлов, 2001; Бурлакова и др., 2009].

В результате стимуляции генетической нестабильности изменяется генетическая структура популяций, возрастает их гетерогенность по различным признакам. Возрастание генетической нестабильности неоднозначно: возможно как снижение жизнеспособности отдельных индивидов, так и наоборот, повышение их устойчивости к повреждающим факторам, что создает базу для последующего отбора соответствующих индивидов при достаточной мощности и продолжительности действия стрессового фактора. Для животных и человека представления о генетической нестабильности связывают, прежде всего, с ее отрицательным влиянием (злокачественной трансформацией клеток), в то время как у растений и микроорганизмов более очевидно ее адаптивное значение.

Изучение закономерностей генетической нестабильности у растений имеет важное фундаментальное и прикладное значение. В частности, оно необходимо для прогнозирования отдаленных последствий облучения различных видов растений с целью сохранения их генофонда. Кроме того, возможно использование объектов с известными характеристиками геномной нестабильности в качестве тест-систем для оценки генетических последствий радионуклидного загрязнения и других стрессовых факторов, а также для проведения мониторинга природных экосистем на больших территориях в зонах экологических катастроф; оценки экологических рисков; получения новых форм в селекции. Растительные тест-системы, использующиеся в качестве генетических тест-систем для скрининга и мониторинга загрязнения окружающей среды, для выявления и количественной оценки влияния факторов с генотоксическим действием, рекомендованы для применения ВОЗ [Grant, 1994; Grant, 1999].

Важное значение для уменьшения генетических рисков для человеческой популяции, проживающей на загрязненных территориях, имеет изучение возможностей детоксикации поллютантов, а также поиск антиоксидантов и антимутагенов природного происхождения [Барилjak, Дуган, 2005; Мусияка, 2001].

Применение растительных препаратов в сельскохозяйственном производстве даст возможность уменьшить генотоксическое воздействие на геном растений. Но в то же время они могут применяться и для защиты геномов других организмов, включая человека. Применение веществ с протекторными свойствами может способствовать защите генофонда населения, уменьшению проявлений отдаленных

последствий воздействия стрессоров, в частности, ионизирующей радиации (повышения канцерогенеза, снижения продолжительности жизни). Кроме того, их широкое применение улучшает состояние окружающей среды, что имеет важное экологическое значение.

Среди широкого набора стрессовых факторов с генотоксическим действием в данной работе основное внимание уделяется ионизирующей радиации. Это связано, прежде всего, с простотой проведения дозиметрии и измерения доз облучения для количественной оценки эффективности действия протекторных препаратов.

Цель и задачи исследования. Целью данного исследования было изучение радиационно-индуцированной нестабильности генома разных видов растений, различающихся способами опыления и возможностей ее коррекции с помощью рутина, полученного из цветков софоры и его комплексов с железом, экстрактов грецкого ореха и софоры, а также антимутагенного действия витаминов А, Е, К1 и их сочетаний на бактерии *Escherichia coli*.

Основными задачами являются изучение индукции радиацией и другими стрессовыми факторами генетической нестабильности у растений разных таксономических групп, особенностей ее проявления у растений с разными типами опыления, влияние цитогенетических нарушений на физиолого-биохимические параметры растений, что в конечном итоге определяет устойчивость данного вида в экосистемах, подвергающихся воздействию стрессовых факторов и стабильность самих экосистем, поиск средств защиты от генотоксического действия различных факторов.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Проанализировать влияние облучения семян в разных дозах на цитогенетические и физиолого-биохимические параметры растений поколений М1 и М2

2. Изучить закономерности индукции геномной нестабильности в нескольких поколениях растений разных видов.

3. Охарактеризовать особенности проявления геномной нестабильности в поколениях растений с разными типами опыления.

4. Исследовать радиопротекторные свойства рутина, полученного из софоры, и его комплексов с железом, экстракта грецкого ореха и экстракта софоры, используя цитогенетические и биохимические параметры растений.

5. Изучить радиопротекторные свойства экстрактов софоры и грецкого ореха, по изменению величины МДА у растений *Al.сера* и *Nicotiana tabacum*, полученных из облученных семян.

6. Изучить протекторное действие витаминов А, Е, К₁ и их сочетаний в культуре разных генотипов бактерий *Escherichia coli*.

Научная новизна. Впервые проведено исследование радиационно-индуцированной нестабильности генома у растений разных видов, принадлежащих к двум таксономическим классам (одно- и двудольным), перекрестноопыляющимся. Показано, что тип опыления влияет на структурные изменения хромосом не только у родительских форм, но в поколениях М1 и М2. Геном перекрестноопыляющихся растений оказался более устойчивым, чем самоопыляющихся, к действию облучения. Это возможно, обусловлено гетерозиготным состоянием их генов.

Впервые на растениях показано радиопротекторное действие рутина природного происхождения, полученного из цветков софоры, его комплексов с железом, а также экстрактов софоры и грецкого ореха. Установлена возможность применения растительных препаратов с антиоксидатными свойствами для профилактики развития нестабильности генома.

На бактериальных тест-системах разных штаммов *E.coli*, мутантных по генам, связанным с разными системами репарации. Впервые исследованы радиопротекторные свойства витаминов А, К₁ и Е. В приведенной работе впервые обнаружен положительный эффект сочетания различных витаминов, в частности, А+Е, А+К₁, А+К₁+Е. Установлен механизм генозащитного действия ретинол-ацетата и задействованные в нем гены.

Практическая ценность работы. Изучение закономерностей проявления генетической нестабильности у растений имеет важное прикладное значение, в частности, для прогнозирования отдаленных последствий облучения различных видов и сортов растений с целью сохранения их генофонда. Полученные в данной работе результаты о радиопротекторном действии природных препаратов растительного происхождения, позволяют считать, что такие препараты, как рутин и его комплексы с железом, экстракты софоры и грецкого ореха, являются перспективными для разработки на их основе лекарственных препаратов и добавок, эффективных при хроническом воздействии радионуклидного загрязнения и различных генотоксикантов. Результаты исследований были использованы при выполнении международного проекта 6029, финансируемый Научно-Технологическим центром Украины (STCU) под названием «Экогенетический мониторинг некоторых сельскохозяйственных растений, произрастающих на загрязненных территориях после стихийных бедствий».

Связь работы с научными программами и темами. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планами научных исследований лаборатории радиопротекторов Института Радиационных Проблем НАН Азербайджана и отдела биофизики и радиобиологии Института Клеточной Биологии и Генетической Инженерии НАН Украины.

Личное участие автора в получении результатов. Автор разработал и выполнил программу комплексных исследований, провел анализ и обработку полученных данных, выполнил теоретические работы и обобщения, сформулировал выводы и научные положения. Экспериментальные материалы, изложенные в диссертации, получены автором лично и совместно с сотрудниками лаборатории радиопротекторов Института Радиационных Проблем НАН Азербайджана и отдела биофизики и радиобиологии Института Клеточной Биологии и Генетической Инженерии НАН Украины

Апробация работы. Материалы и основные положения диссертации докладывались на III National Congress of Medical Biology and Genetics (28-30 September 1990, Varna, Bulgaria), VII Всесоюзном симпозиуме «Молекулярные механизмы генетических процессов» (Москва, РФ, 1990), XX Annual Meeting of EEMS (York, 1990), VI съезде Азогис (Баку, Азербайджан, 1994), Международной конференции «Биорад-2006» (Сыктывкар, РФ, 2006), V Съезде по радиационным исследованиям, (Москва, РФ, 2006), The Fourth Eurasian conference (October 31-November 3, 2006, Baku Azerbaijan), European Radiation Research (2006, Kyev, Ukraine), и других.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 50 научных работ, в том числе 36 статей в профильных журналах, 12 тезисов докладов на научных конференциях и 2 монографии и часть исследований указанных в работе в 2015 году были номинированы международной премией “Johann Wilhelm Ritter Research” в области радиобиологии.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, выводов и списка цитируемой литературы (506 первоисточников). Работа изложена на 308 страницах. Иллюстрирована 34 таблицами и 26 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Объектами исследований являлись семена и проростки растений лука *Allium cepa* L., табака *Nicotiana tabacum* L. и пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта «*Qirmizi bugda*», которые выращивали в лабораторных и полевых условиях. Кроме того, исследовали штаммы *Escherichia coli* K-12, AB1157 (дикого типа и его мутантных линий F⁻, thr1, leu86, proA2, his4, argE3, lacY1, galK2, ara14, xy15, mtl1, T1-S, T6-R, λ-s, str^R), AB1885 (производный AB1157, uvrB), JC5519 (производный AB1157, recBC), JC9239 (производный AB1157, recF), JC7689 (производный AB1157, sbcB).

Облучение семян растений проводили на установке «ИССЛЕДОВАТЕЛЬ» (⁶⁰Co) при мощности дозы 0,02 Гр/с и установке «Рхунд» (⁶⁰Co) при мощности дозы излучения 0,5-1 Гр/мин.

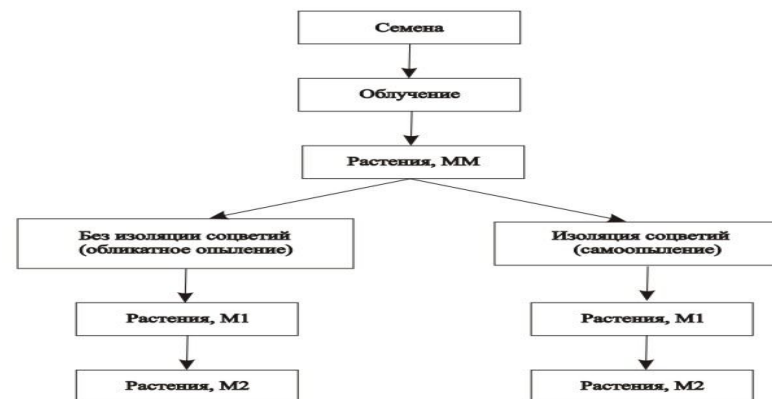
С целью изучения влияния ионизирующего излучения на проявление генетической нестабильности в последующих поколениях семена табака и лука предварительно облучали дозами 1, 2.5 и 5 Гр, а затем выращивали из них три поколения растений. У проростков поколений M0, M1 и M2 подсчитывали количество хромосомных aberrаций в корневой меристеме.

Контрольные и облученные семена проращивали на влажной фильтровальной бумаге в чашках Петри при 24-28 °С для лука и пшеницы и 30-32 °С для табака. При появлении первичных корешков длиной 1,0-1,5 см их фиксировали в смеси Карнуа (этиловый спирт : ледяная уксусная кислота в соотношении 3:1), через 24 часа переносили в 80 % этиловый спирт. Окрашивание производили ацетоарсеином. Получали временные и постоянные препараты. На цитологических препаратах подсчитывали количество aberrантных анафаз и определяли количество хромосомных aberrаций (ХА) на клетку.

Для изучения влияния перекрестного опыления на уровень нестабильности генома в поколениях растений, часть соцветий изолировали с помощью защитных колпачков, предохраняя таким образом от перекрестного опыления и обеспечивая тем самым принудительное самоопыление (см. схему опыта, рис. 1).

Получение экстрактов рутин, грецкого ореха и софоры. Для получения рутина 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 дважды



обрабатывали 10 мл этилового эфира.

Рис. 1. Схема изучения выхода хромосомных aberrаций в поколениях облученных растений

Экстракт софоры *Sophora japonica* L. получали из цветков. Растительную массу измельчали, 20 г цветков софоры заливали 150 мл этилового спирта и кипятили в течении 2 ч в аппарате Сокслет. Полученный экстракт фильтровали и выпаривали на водяной бане. 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 изопропиловом спирте. После этого раствор выпаривали до получения экстракта темно-коричневого цвета. Концентрация всех применяемых растворов составляла 0,01 %.

Радиопротекторное действие этих препаратов растительного происхождения оценивали по содержанию пигментов (хлорофиллов и каротиноидов) и выходу ХА в апикальной меристеме корешков проростков.

Для этого в опытных вариантах семена табака, лука и пшеницы перед облучением предварительно замачивали в течении 15 часов в растворе рутина, экстракта грецкого ореха или софоры, внося по 10 мл этих растворов на вариант. В контроле для этих целей использовали дистиллированную воду.

Для определения содержания хлорофилла и каротиноидов в листьях исследуемых растений отбирали навеску сырых листьев массой 100 мг, растирали ее в 80% ацетоне.

Поглощение измеряли на спектрофотометре СФ-26 при длинах

волн 662, 644 и 440,5 нм. Контролем служил 80% ацетон. Затем, используя формулы Полевого, по величине оптической плотности раствора (А) рассчитывали значения хлорофиллов *a* и *b*, общих каротиноидов [Полевая, 1978].

Определение малонового диальдегида (МДА). Интенсивность перекисного окисления липидов в листьях растений оценивали по накоплению в тканях продукта окисления МДА, определяемого с помощью цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой [Стальная, Гаришвили, 1977].

В опытах, где в качестве мутагена использовали УФ, выращенные до стационарной фазы на среде М9 с соответствующими добавками клетки *E. coli* B/r WP₂, инкубировали в водяной бане 30 минут при 37 °С на качалке. *E. coli* B/r WP₂ (10 мл суспензии) вносили в чашки Петри и облучали в течении 3 секунд двумя параллельными кварцевыми лампами БУВ-15 (длина волны 200-280 нм) на расстоянии 35 см от источника облучения. При этом интенсивность облучения составляла 10эрг/сек на мм². До облучения УФ-светом суспензию клеток обрабатывали ретинол-ацетатом в концентрациях 0,001-100 мкг/мл, клетки осаждали центрифугированием (500об/мин), ресуспензировали в фосфатном буфере (рН=7,0).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследование проявлений генетической нестабильности у перекрестноопыляющихся растений и микроорганизмов

Физиолого-биохимическое и цитогенетическое определение проявлений нестабильности генома у растений. На первом этапе работы было изучено влияние предварительного облучения семян табака на физиологическое состояние полученных из них растений по ростовым (высота растений) и биохимическим (содержание фотосинтетических пигментов) параметрам.

В лабораторных условиях было обнаружено, что молодые растения табака, полученные из семян, облученных дозами 2.5 и 5 Гр, по ростовым показателям значительно превосходили необлученные (контрольные) растения. При высадке растений в открытый грунт наблюдались следующие эффекты. Растения, выращенные из семян, облученных дозами 2,5 и 5 Гр, интенсивно развивались на начальных этапах и превосходили контроль по высоте, но постепенно эта разница нивелировалась на последующих этапах развития они уже отставали от контроля. Максимальное ингибирование роста

в полевых условиях наблюдалось при облучении семян минимальной дозой (1 Гр). Таким образом, выявленный в лабораторных условиях стимулирующий эффект предварительного облучения семян на рост полученных из них растений, нивелировался во время онтогенеза в полевых условиях.

Предварительное облучение семян табака оказало стимулирующее воздействие на содержание хлорофиллов, но при этом величина соотношения хлорофилл *a/b* уменьшалась с дозой облучения. Отмечено дозозависимое снижение содержания каротиноидов; при дозе облучения 10 Гр оно составляло порядка 50 % от контроля и еще больше снижалось при дозе 15 Гр.

Известно, что стимулирующие эффекты облучения могут проявляться на фоне увеличения выхода цитогенетических повреждений. В связи с этим было рассмотрено влияние острого облучения на индукцию нестабильности генома, оцениваемую по выходу хромосомных нарушений в поколениях растений.

Определение генетической нестабильности по критерию повреждаемости соматических клеток растений табака и лука. В наших исследованиях был применен метод учета хромосомных aberrаций в корневой меристеме проростков для оценки проявлений нестабильности генома в поколениях растений, полученных из облученных семян. Вначале оценивали выход хромосомных aberrаций растений М₀. При увеличении дозы облучения семян от 1 до 5 Гр выход ХА у растений повышался в 1,14–1,18 раза (рис. 2).

Зависимости выхода ХА в М₁ и М₂ поколениях растений табака, полученных из однократно облученных семян, представлены на рис. 3. В обоих случаях выход ХА имел дозозависимый характер и практически линейно увеличивался с ростом дозы облучения. При сравнении количества ХА у вариантов с перекрестным опылением в поколениях М₁ и М₂ видно, что в последующем поколении - М₂ - происходит уменьшение количества ХА приблизительно в 1,3 раза при всех дозах облучения (рис. 3). При самоопылении также происходит уменьшение количества ХА во втором поколении, но в большей степени: при дозе облучения 1 Гр количество ХА увеличивается приблизительно в 1,4 раза, 2.5 Гр – в 1,5 раза, 5 Гр – примерно в 1,6 раза. Таким образом, показано, что тип опыления оказал существенное влияние на структурное изменение хромосом у табака.

Обнаружение радиационно-индуцированной генетической нестабильности у соматических клеток табака, являющегося представителем класса двудольных, позволило нам предположить наличие

такого же эффекта и у класса однодольных. В качестве представителя этого класса выбрали лук *Allium cepa*. Эксперимент был проведен по той же схеме, что и для табака (рис. 1).

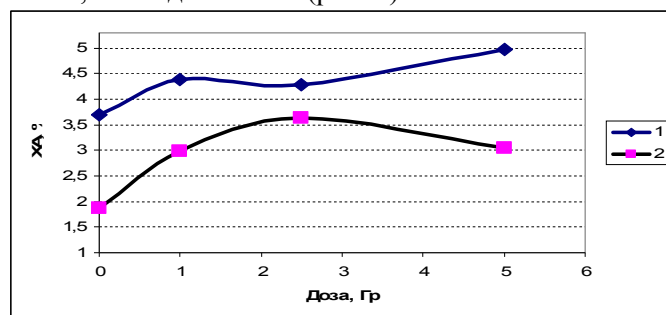


Рис. 2. Выход хромосомных aberrаций в корневой меристеме проростков табака *Nicotiana tabacum* (1) и лука *Allium cepa* (2) поколения M_0 , выращенных из облученных разными дозами семян. По оси абсцисс – доза облучения, Гр; по оси ординат – частота хромосомных aberrаций (XA), у.е.

Полученные результаты свидетельствуют об выходе увеличения XA в M_1 и M_2 поколениях этого растения, полученных из однократно облученных семян (рис. 4). Во всех случаях выход XA также имел дозозависимый характер, постепенно увеличиваясь с ростом дозы облучения. В обоих поколениях выявлены достоверные отличия между вариантами с перекрестным опылением и самоопылением. Количество XA в вариантах с перекрестным опылением в поколении M_2 уменьшалось. При самоопылении уменьшения количества XA во втором поколении практически не происходило, продолжая оставаться на достаточно высоком уровне.

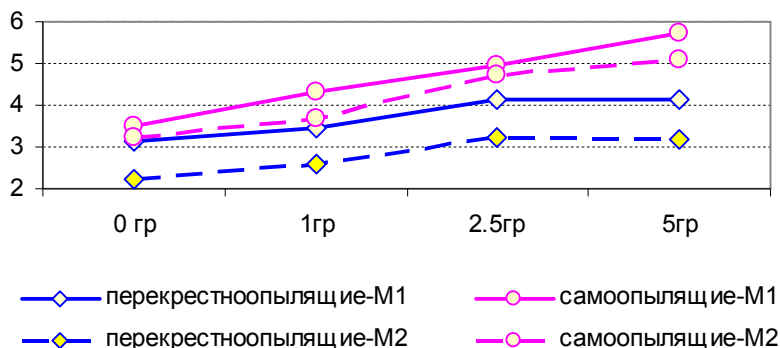


Рис. 3. Сравнительный анализ образования хромосомных aberrаций в корневой меристеме проростков табака *Nicotiana tabacum* поколений M_1 и M_2 при перекрестном опылении и самоопылении. По оси абсцисс – доза облучения, Гр; по оси ординат – частота aberrантных клеток, у.е.

ординат – частота aberrантных клеток, у.е.

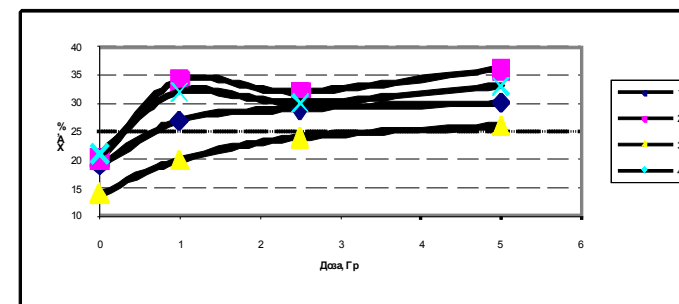


Рис. 4. Выход хромосомных aberrаций в корневой меристеме проростков *Allium cepa* поколения M_1 и M_2 при перекрестном опылении и самоопылении: 1 - M_1 , перекрестное опыление, 2- M_1 , самоопыление, 3 - M_2 , перекрестное опыление, 4- M_2 , самоопыление. По оси абсцисс – доза облучения, Гр; по оси ординат – частота aberrантных клеток, %

Таким образом, как в опытах с растениями табака, так и лука, нами было показано, что более высокий выход XA, как в M_1 , так и в M_2 поколениях, наблюдался у самоопыляющихся растений. Обнаруженная закономерность представляется весьма важной как с генетической, так и с эволюционной точки зрения. Установленное нами у растений двух разных таксономических классов (представителей двудольных и однодольных) увеличение количества XA в поколениях потомков растений, полученных из облученных семян, имеет характер универсальной закономерности и может рассматриваться как проявление радиационно-индуцированной нестабильности генома у растений. Последняя имеет также важное экологическое и эволюционное значение.

Модификация генетической нестабильности у растений природными протекторами

В этом разделе представлены результаты изучения радиопротекторных свойств полученного из софоры рутина и его комплексов с железом, а также экстрактов грецкого ореха и софоры на основе анализа биохимических и цитогенетических параметров растений. Выбор препаратов был обусловлен их природным происхождением, использованием в медицине и в качестве пищевых добавок. Получение положительных результатов приведет к их широкому применению из-за их дешевизны и доступности.

Радиомодифицирующие свойства рутина. Исследования ра-

диопротекторных свойств рутина проводили с помощью биохимических и цитогенетических методов. Для этого мы определяли содержание основных и вспомогательных пигментов фотосинтеза - хлорофиллов и каротиноидов - у растений табака и пшеницы, а также оценивали количество хромосомных aberrаций (ХА) в анафазных клетках *Allium cepa L.*

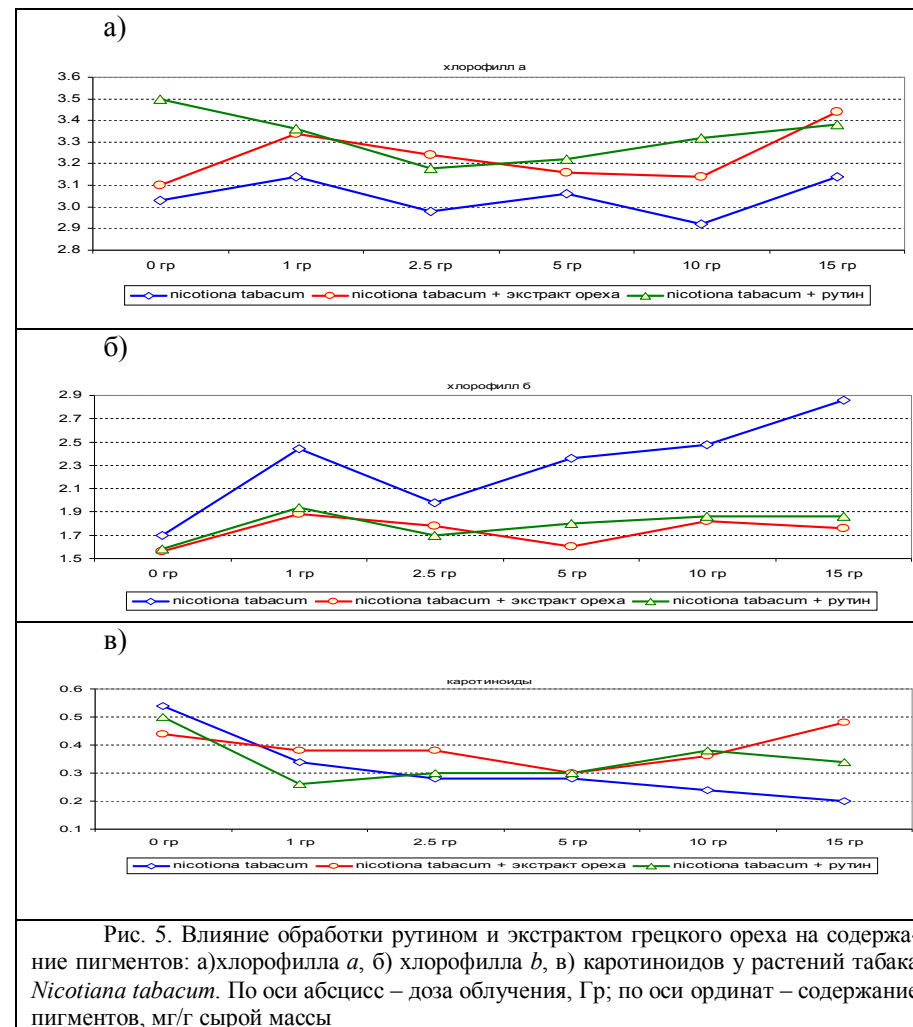
В контрольном варианте предварительная обработка семян табака рутином до облучения недостоверно влияла на содержание хлорофилла *b* и суммарное их количество, но стимулировала повышение содержания хлорофилла *a*, а также и соотношения хлорофилла *a* к *b* у растений, полученных из облученных семян (рис. 5). Например, при дозе облучения семян 10 Гр и обработке рутином соотношение хлорофиллов *a/b* составляло 103 % от контроля, тогда как в варианте с облучением без обработки это соотношение было существенно ниже и составляло 68 % от контроля. Обработка семян рутином повышала содержание каротиноидов у растений, по сравнению с облученным вариантом, без такой обработки (рис. 5), начиная с дозы 2.5 Гр. Величина отношения суммы хлорофиллов к каротиноидам меньше изменялась в варианте с обработкой рутином, чем в варианте с одним облучением. Например, при дозе облучения 5 Гр в варианте с облучением это отношение было приблизительно в 2,2 раза большим, по сравнению с необлученным контролем, а в варианте с облучением и обработкой рутином – примерно в 1,7 раза.

У растений твердой пшеницы местного сорта «Qirmizi bugda» предшествовавшая облучению обработка семян рутином не вызывала повышения содержания хлорофилла *a*, а уменьшала радиационно-индуцированное снижение его содержания, в отличие от содержания хлорофилла *b*, которое повышалось. Суммарное содержание хлорофиллов при облучении было выше, по сравнению с контролем, у вариантов с предварительной обработкой рутином. Но она, наоборот, снижала величину отношения хлорофилла *a* к *b* во всех вариантах опыта.

Эти же тенденции сохранялись и в случае применения высоких доз облучения - 200, 250 и 300 Гр. Так, суммарное содержание хлорофиллов даже при дозе облучения 250 Гр составляло 81 % от величины необлученного контроля (в варианте с облучением без обработки – примерно 76 %).

Обработка рутином вызывала даже более выраженное, чем для хлорофилла, снижение содержания каротиноидов, по сравнению с вариантами с одним облучением. Поэтому отношение концентраций

суммарного хлорофилла к каротиноидам значительно повышалось. Обработка рутином у растений пшеницы, полученных из облученных в больших дозах семян, наоборот, обуславливала ослабление этого показателя. Например, при дозе облучения семян 200 Гр в случае обработки рутином содержание каротиноидов составляло 85 % от контроля, тогда как у варианта с одним облучением – около 76 %.



Таким образом, предварительная обработка семян рутином оказывала различное влияние на содержание и соотношение фотосин-

тетических пигментов у растений, полученных из облученных семян.

Предшествующая облучению обработка рутином вызывала существенное снижение как выхода aberrантных анафаз, так и количество ХА на клетку. Даже при сравнительно высоких дозах облучения в 10 и 15 Гр количество ХА уменьшалось, по сравнению с необработанными рутином вариантом, в 1,9 и 2,4 раза, соответственно (рис. 6). Снижение выхода ХА в случае предварительной обработки семян экстрактом рутина указывает на наличие у него радиопротекторных свойств.

Радиомодифицирующее действие рутина железа. Было установлено, что рутинат железа уменьшал радиационно-индуцированное снижение концентрации хлорофилла *a*, при одновременном повышении содержания хлорофилла *b* (табл. 1). Обработка рутином железа ослабляла эффект снижения общего содержания хлорофиллов даже при высоких дозах облучения (табл. 2). Что касается влияния обработки рутином железа на содержание каротиноидов, то было отмечено снижение их концентрации при низких дозах (от 2.5 до 15 Гр) (табл. 1) и небольшое повышение - при высоких (250-300 Гр) (табл. 2). Величина соотношения хлорофиллов и каротиноидов тоже зависела от дозы облучения: у обработанных рутином растений при низких дозах радиации оно было в среднем в 2 раза выше, чем у только облученных, а при высоких дозах – только на 5-10 %. Таким образом рутинат железа оказывал действие, аналогичное рутину, без выраженных отличий количественных характеристик.

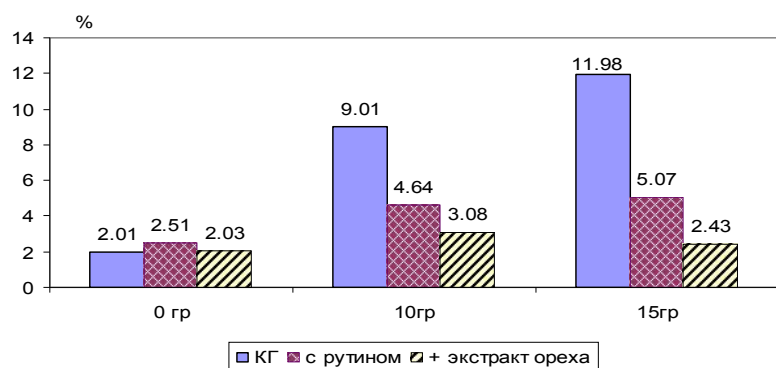


Рис. 6. Влияние гамма-облучения, рутина и экстракта грецкого ореха на выход хромосомных aberrаций у *Allium cepa*. По оси абсцисс - доза облучения, Гр; по оси ординат – выход хромосомных aberrаций, у.е.

Таблица 1. Влияние обработки рутином железа на содержание пигментов в листьях растений пшеницы, выращенной из семян, облученных разными дозами γ -радиации. $p < 0.01$

ДДоза, Гр	Варианты	Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофилл <i>b</i>	Хлорофилл <i>a+b</i>	Хлорофилл <i>a/b</i>	Каротиноиды	Хлорофилл <i>a+b/</i> каротиноиды
0	Контроль	2.61	0.76	3.37	3.43	1.44	2.34
	Рутинат железа	2.42	1.37	3.79	1.77	0.83	4.57
2.5	Контроль	2.11	0.67	2.78	3.15	1.10	2.53
	Рутинат железа	2.16	1.15	3.31	1.88	0.80	4.14
5	Контроль	2.02	0.64	2.66	3.15	0.93	2.86
	Рутинат железа	2.14	1.09	3.23	1.96	0.78	4.14
10	Контроль	1.77	0.58	2.35	3.05	0.82	2.86
	Рутинат железа	1.98	0.99	2.97	2.0	0.59	5.03
15	Контроль	1.75	0.54	2.29	3.24	0.79	2.89
	Рутинат железа	1.91	0.96	2.87	1.99	0.60	4.78

Таблица 2. Влияние обработки рутином железа на содержание хлорофиллов и каротиноидов в листьях растений пшеницы, выращенной из семян, облученных высокими дозами γ -радиации. $p < 0.01$

Доза, Гр	Варианты	Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофилл <i>b</i>	Хлорофилл <i>a+b</i>	Хлорофилл <i>a/b</i>	Каротиноиды	Хлорофилл <i>a+b/</i> Каротиноиды
0	Контроль	4.28	1.33	5.61	3.22	0.99	5.66
	Рутинат железа	3.89	1.40	5.29	2.78	0.91	5.81
250	Контроль	3.23	1.04	4.27	3.10	0.72	5.93
	Рутинат железа	3.51	1.27	4.78	2.76	0.85	5.62
300	Контроль	3.15	0.97	4.12	3.25	0.68	6.05
	Рутинат железа	3.31	1.05	4.36	3.15	0.79	5.52

Предшествующая облучению обработка рутином железа вызывала существенное снижение выхода ХА на клетку. При дозе облучения 10 Гр количество ХА, по сравнению с необработанным вариантом, было меньшим приблизительно в 1,6 раза, а при дозе 15 Гр количество ХА уменьшалось в 1,4 раза (рис. 7).

Радиопротекторные свойства экстракта грецкого ореха. Предшествующая облучению обработка семян табака экстрактом грецкого ореха повышала содержание хлорофилла *a* и стабилизировала содержание хлорофилла *b*, вызывая эффект, аналогичный действию рутина. Суммарный пул хлорофиллов *a* и *b* под действием экстракта ореха превышал контрольное значение (без облучения и

без обработки) в среднем на 5-10 %, но незначительно отличался от контролей с соответствующим облучением.

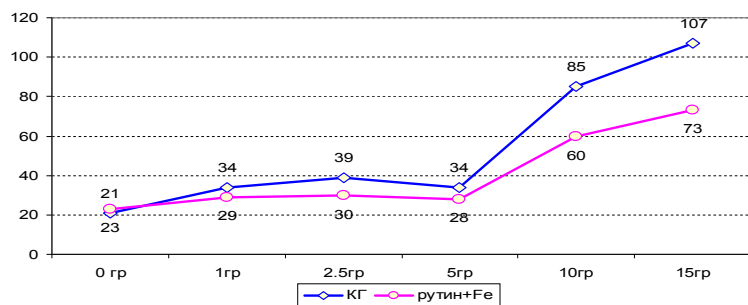


Рис. 7. Влияние гамма-облучения и рутина железа на выход хромосомных aberrаций у *Allium cepa*. По оси абсцисс - доза облучения, Гр; по оси ординат – частота хромосомных aberrаций, %

Как свидетельствуют данные рис. 5.4 а, обработка семян до облучения экстрактом ореха и рутином приводила к 10-15 % увеличению содержания хлорофилла *a*, по сравнению с необработанными, но практически не зависела от дозы в исследуемом диапазоне. Содержание хлорофилла *b*, наоборот, снижалось под действием такой обработки и также не зависело от величины дозы (рис. 5.4 б).

Стрессовые факторы вызывают изменение соотношения хлорофиллов *a/b* [Смирнова и др., 2001]. Высшие растения, фотосинтез у которых происходит в нормальных условиях, содержат в большем количестве хлорофилл *a*, чем хлорофилл *b*, то есть соотношение хлорофилла *a/b* в норме больше 1. Согласно данным А. Шлыка, хлорофилл *b* образуется из хлорофилла *a* в результате окисления [Полевой, 1989]. Возрастание интенсивности окислительных процессов, как известно, происходит в условиях стресса. Уменьшение соотношения хлорофиллов *a/b* ниже 1 свидетельствует о нарушении в фотосинтетической системе и указывает на преобладание процессов деструкции органического вещества над процессами их синтеза. Наблюдаемое нами снижение содержания хлорофилла *b* у обработанных вариантов свидетельствует о защитном действии экстракта ореха, что может быть связано с его антиоксидантными свойствами.

Судя по динамике изменений содержания каротиноидов (рис. 5.4 в), можно отметить радиопротекторное действие экстракта ореха в диапазоне доз, превышающих 10 Гр.

Обработка экстрактом грецкого ореха при облучении способ-

ствовала поддержанию концентрации каротиноидов на более высоком уровне, чем у вариантов без обработки. Например, в случае предварительной обработки семян табака при облучении дозой 10 Гр содержание каротиноидов было приблизительно в 1,5 раза, а при 15 Гр - в 2 раза выше, чем при облучении без обработки (рис. 5, в).

В опытах с пшеницей экстракт грецкого ореха обуславливал повышение содержания хлорофилла *a* при относительно стабильном содержании хлорофилла *b*. При этом, в отличие от вариантов, где применялся рутин, не наблюдалось значительного снижения величины соотношения хлорофиллов *a/b*, а отмечалась скорее его определенная стабилизация. Те же тенденции наблюдались и при высоких дозах облучения семян. Обработка семян пшеницы экстрактом грецкого ореха приводила к относительному повышению содержания каротиноидов при облучении низкими дозами. Аналогичные тенденции наблюдались и для высоких доз облучения семян.

Таким образом, экстракт грецкого ореха оказывал даже более выраженное, чем у рутина, стабилизирующее воздействие на содержание основных и дополнительных фотосинтетических пигментов.

Предшествующая облучению обработка семян экстрактом грецкого ореха оказывала значительный защитный эффект, который проявлялся в снижении выхода хромосомных aberrаций у проростков, полученных из облученных семян, которые были обработаны данным препаратом. Выход ХА при дозе облучения 10 Гр уменьшался приблизительно в 3 раза, а при дозе 15 Гр – примерно в 4,9 раза (рис. 6). При сравнении с действием рутина, для которого мы тоже наблюдали радиозащитный эффект, следует отметить, что радиопротекторное действие экстракта грецкого ореха оказалось более чем в 2 раза эффективным, чем рутин при дозах в 10 и 15 Гр.

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

Радиопротекторные свойства экстракта софоры. Предшествующая облучению обработка семян экстрактом софоры уменьшала вызванное облучением снижение концентрации хлорофилла *a* в листьях растений и стабилизировала концентрацию хлорофилла *b*. При этом данный эффект был более выраженным при повышении дозы облучения. Например, при дозе облучения 10 Гр содержание хлорофилла *a* в варианте, обработанном экстрактом софоры, было

приблизительно в 1,2 раза выше, чем в варианте с облучением без обработки, а при дозе в 1 Гр – только в 1,06 раза. Та же тенденция сохранялась и при высоких дозах облучения семян. Обработка экстрактом софоры в определенной степени снижала радиационно-индуцированное уменьшение содержания каротиноидов в растительных тканях, как при высоких, так и при низких уровнях облучения.

Таким образом, экстракт софоры, аналогично экстрактам рутина и грецкого ореха оказывал стабилизирующее воздействие на содержание фотосинтетических пигментов у растений.

Предварительная обработка экстрактом софоры семян до облучения достоверно снижала количество радиационно-индуцированных ХА в корневой меристеме проростков табака. В частности, при дозах облучения 5 и 15 Гр количество ХА уменьшалось приблизительно в 1,5 раза. Достоверное снижение процента ХА демонстрирует рис. 8. Их уровень у необработанных экстрактом софоры вариантов возрастал с увеличением дозы облучения, а у обработанных – оставался на постоянном уровне до дозы в 10 Гр и только на дозе 15 Гр он начинал повышаться.

Таким образом, тестируя корневую меристему табака и лука по параметру выхода ХА, нами показано, что предварительная обработка семян экстрактом софоры приводила к значительному снижению выхода ХА при гамма-облучении, что указывает на наличие радиопротекторных и антимуtagenных свойств у этого препарата.

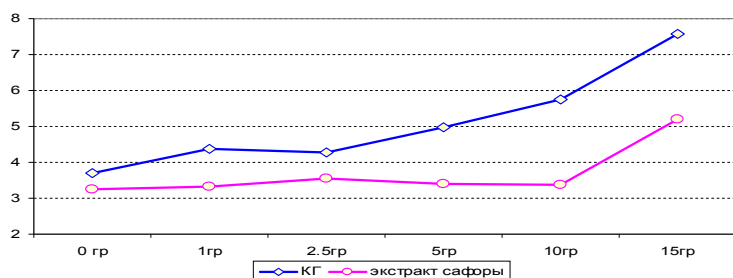


Рис. 8. Влияние гамма-облучения и экстракта софоры на выход хромосомных aberrаций у табака *Nicotiana tabacum*. По оси абсцисс – доза облучения, Гр; по оси ординат – выход хромосомных aberrаций, у.е.

Влияние растительных препаратов на уровень перекисного окисления липидов. Исходя из предположения о том, что радиопротекторный и антимуtagenный эффект растительных экстрактов связан с наличием в их составе веществ с антиоксидантными свойствами, нами было исследовано влияние вышеназванных природных

препаратов на промежуточный продукт перекисного окисления липидов – малоновый диальдегид (МДА).

Как свидетельствуют данные рис. 9, увеличение дозы облучения от 1 до 15 Гр коррелировало с ростом величины МДА; как в вариантах с обработкой радиопротекторами, так и без нее. Однако, в данном диапазоне доз в варианте без обработки она увеличивалась в 2 раза, а с обработкой – в среднем только в 1,5 раза. Еще одной характерной особенностью влияния обработки рутином и экстрактами ореха и софоры было усиление их действия при более высоких дозах. Так, при дозе 1 Гр снижение величины МДА колебалось от 88 до 95 %, а при 15 Гр – было гораздо ниже: 60-72 %.

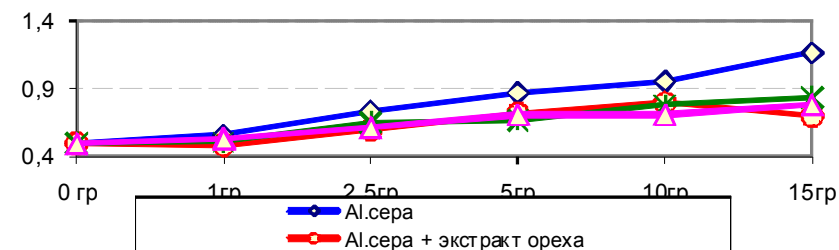


Рис. 9. Влияние гамма-облучения, экстракта грецкого ореха, экстракта софоры и рутина на уровень накопления малонового диальдегида (МДА) у лука *Allium cepa*. По оси абсцисс - концентрация МДА, мкМоль/г; по оси ординат – доза облучения, Гр

Эти данные подтверждают, 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. Учитывая предполагаемую связь радиационно-индуцированной нестабильности генома с окислительными процессами, исследованные нами вещества можно считать перспективными для блокирования развития нестабильности генома.

Исследование протекторной активности витаминов А, Е и К₁ в бактериальных системах

Для более полного представления о функционировании механизмов протекторного действия нами был рассмотрен иной ряд веществ, используемых в качестве протекторов и иные объекты, кото-

рые они защищают. В данной главе в качестве первых мы исследовали представителей антиоксидантов – витамины, а вторых – бактериальные тест-системы на основе штаммов *E.coli*, мутантных по генах, связанных с разными системами репарации.

Влияние протекторного действия ретинол-ацетата на спонтанные и индуцированные УФ-светом мутации. В данном эксперименте наличие мутагенного эффекта УФ для клеток *E.coli* B/r WP₂ определяли путем учета обратных мутаций от ауксотрофности по триптофану к прототрофности.

В экспериментах по изучению антимуагенной и протекторной активности ретинол-ацетата в условиях спонтанного мутагенеза, а также при индукции мутаций УФ-лучами, в качестве растворителя этого витамина служил этиловый спирт. При определении концентрационной зависимости радиопротекторного действия ретинол-ацетата выявляли наиболее эффективную величину дозы. Как показали результаты экспериментов, выживаемость клеток *E.coli* дикого типа была близкой к контрольной только при минимальной дозе ретинол-ацетата – 0,001 мкг/мл (рис. 10). Более высокие его дозы не повышали выживаемость. Одновременно установлено, что используемый растворитель практически не модифицирует частоту генных мутаций, не увеличивая и не уменьшая показатели абсолютных величин регистрируемого критерия (рис. 11).

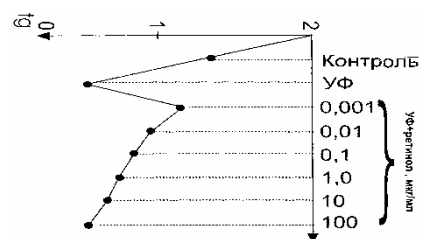


Рис. 10. Выживаемость клеток *E.coli* B/r WP₂ в зависимости от дозы ретинол-ацетата, а именно в дозе 0,001 мкг/мл.

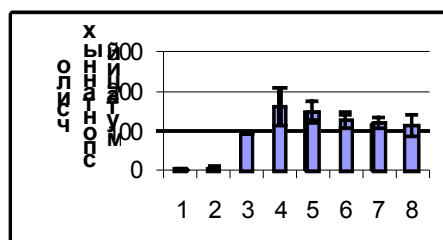


Рис. 11. Влияние концентрации ретинол-ацетата на число спонтанных мутаций в клетках *E.coli* B/r WP₂

Условные обозначения:

1 -1-й контроль (вода), 2 -2-й контроль (этиловый спирт), 3 - ретинол-ацетат в концентрации 0,001 мкг/мл, 4 - ретинол-ацетат в концентрации 0,01 мкг/мл, 5 - ретинол-ацетат в концентрации 0,1 мкг/мл, 6 - ретинол-ацетат в концентрации 1 мкг/мл, 7 - ретинол-ацетат в концентрации 10 мкг/мл, 8 -ретинол-ацетат в концентрации 100 мкг/мл.

УФ-излучение (10 эрг/мм²/сек; 3¹¹) достоверно ингибирует выживаемость клеток *E.coli* дикого типа и индуцирует мутационный процесс, увеличивая частоту реверсий *trp*⁻-*Trp*⁺ практически на 2 порядка (рис. 11, 12). На этом фоне некоторыми недостоверными отклонениями от нормы в показателях выживаемости и мутагенеза в позитивных контрольных вариантах, на наш взгляд, можно пренебречь при интерпретации представленного здесь и далее экспериментального материала.

Представленные на рис. 11, 12 данные показывают, что ретинол-ацетат, не влияя на выживаемость контрольных клеток *E.coli* дикого типа, в определенных, в основном, низких дозах увеличивает их резистентность к действию мутагенов и УФ-излучения. При этом установлено, что, несмотря на способность образования этим мутагеном различных, специфических для каждого из них типов, первичных повреждений молекулы ДНК, разница в показателях относительных величин антимуагенной модификации самой низкой из используемых доз ретинол-ацетата – 0,001 мкг/мл (ФЭА для УФ-лучей 0,66) и самой высокой – 100 мкг/мл (ФЭА УФ-лучей 0,49) находится в пределах близких значений. Хотя концентрация 0,001 мкг/мл отличается из используемых доз наиболее высокой генозащитной активностью.

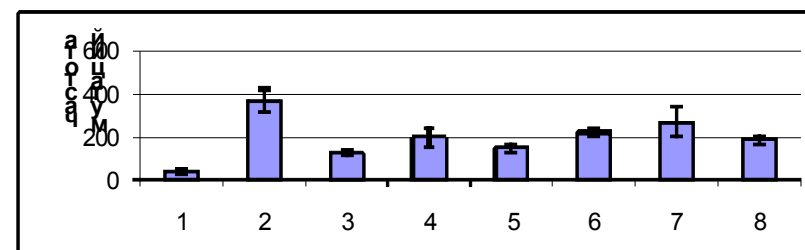


Рис. 12. Изменение частоты мутаций *E.coli* B/r WP₂, вызванное действием УФ в зависимости от концентрации ретинол-ацетата, ч/м × 10⁻⁷.

Условные обозначения:

1 -1-й контроль (вода), 2 – УФ-облучение, 3 - ретинол-ацетат в концентрации 0,001 мкг/мл, 4 - ретинол-ацетат в концентрации 0,01 мкг/мл, 5 - ретинол-ацетат в концентрации 0,1 мкг/мл, 6 - ретинол-ацетат в концентрации 1 мкг/мл, 7 - ретинол-ацетат в концентрации 10 мкг/мл, 8 -ретинол-ацетат в концентрации 100 мкг/мл.

В целом, полученные в настоящем разделе работы экспериментальные данные о неспецифической модификации ретинол-ацетатом генотоксичности мутагена, образующих различные типы

первичных повреждений молекулы ДНК, свидетельствуют о вероятном участии витамина А в коррекции определенных процессов мутагенеза и репарации.

Принимая во внимание результаты концентрационного скрининга ретинол-ацетата, в последующих экспериментах этот витамин испытывался в наиболее эффективной дозе

Особенности путей коррекции УФ-индуцированного мутагенеза ретинол-ацетатом. Схема данного опыта была аналогичной предыдущей. Отличие ее состояло в том, что клетки облучали в течение 3, 6 и 9 секунд, а пробы для анализа отбирали через 0, 30, 60, и 90 минут.

Было получено, что все использованные в работе дефектные по репарации линии более чувствительны к мутагену, чем клетки дикого типа. Из этого следует, что продукты генов *uvrB*, *recBC* и *sbcB* в большей или меньшей степени принимают участие в контроле процесса репарации ДНК, поврежденной УФ-лучами.

Среди выборки исследованных мутантов наиболее чувствительными оказались два - *uvrB* и *recBC*. Несколько более высокую резистентность проявлял *recF*, а клетки *sbcB* мутанта лишь незначительно отличались по чувствительности от клеток дикого типа.

При внесении ретинол-ацетата в суспензию клеток после их УФ-облучения повысилась выживаемость клеток дикого типа, а также *sbcB* и *recBC* мутантов (табл. 4). Ретинол-ацетат практически не повлиял на жизнеспособность облученных УФ-светом *uvrB* и *recF* мутантов. Этот результат избирательной модификации выживаемости клеток дикого типа *E.coli*, а также штаммов, дефективных по отдельным генам, под контролем которых находятся различные зависимые и независимые пути эксцизионной и пострепликативной репарации, прямо указывает на вероятность того, что ретинол-ацетат тем или иным образом изменяет процесс репарации. На наш взгляд, это происходит, прежде всего, в результате модуляции активности ряда ключевых ферментов репарации, которые кодируются генами, находящимися в соответствующих штаммах в дефектном состоянии, и в результате повышения репарационного синтеза ДНК.

Все это свидетельствует о том, что, если функция *recBC* и *sbcB* генов и требуется для проявления радиопротекторного действия ретинол-ацетата в условиях УФ-индуцированного мутагенеза, то ее необходимость в настоящих экспериментальных условиях незначительна. Отсутствие же позитивного влияния ретинол-ацетата на выживаемость и, что весьма важно, на мутагенез в клетках *uvrB* и

recF мутантов прямо указывает на то, что функция этих генов, контролирующих соответствующие пути эксцизионной и пострепликативной репарации, на этапе реализации предмутаций в конечные мутационные события совершенно необходимы для проявления радиопротекторного действия витамина А, во всяком случае в отношении определенного типа повреждений, возникающих под воздействием УФ-света.

Таблица 3. Изменение частоты мутаций и протекторной эффективности ретинол-ацетата при УФ-индуцированном мутагенезе в зависимости от генотипа линий клеток *E.coli*, ч/м $\times 10^{-7}$

		Изменения эффективности мутагена								
		Частота мутаций под воздействием УФ		По сравнению с контролем				По сравнению с УФ		
Штамм генотипы	Контроль	В отсутствии ретинол-ацетата	В присутствии ретинол-ацетата	к	t	P	K ₁	t	P ₁	ФЭА
К-12, дикий тип	119±12	7120±734	3350±345	28,1	5,97	0,001	2,1	42,3	0,001	0,53
<i>uvrB</i>	6,5±0,7	2315±238	2298±271	353	6,33	0,001	1,007	0,5	0,05	-
<i>recBC</i>	16,3±1,7	1044±108	534±55	32,8	40,25	0,001	1,9	4,3	0,001	0,49
<i>sbcB</i>	110±11	532±65	151±15,6	1,37	3,74	0,001	3,5	13,5	0,001	0,72
<i>recF</i>	12,8±1,3	61±6,3	56±11,3	4,37	5,04	0,001	1,09	0,9	0,05	-

Сопоставительный анализ протекторной активности ретинол-ацетата при его изолированном применении и в сочетании с витаминами Е и К₁. В связи с расширением использования генозащитных препаратов природного происхождения, а также специальных продуктов питания с радиопротекторными добавками, содержащими комплексы веществ с протекторными свойствами, возникает вопрос насколько эти метаболиты совместимы в том или ином сочетании для защиты генома.

Для ответа на данный вопрос была проведена серия экспериментов на клетках *E.coli* В/г WP₂ (дикий тип). В качестве модификаторов мутационного процесса в условиях спонтанного, а также УФ-индуцированного мутагенеза испытывались витамины А, К₁ и Е по отдельности и в различных их сочетаниях. Упомянутые витамины применялись в наиболее эффективных для данного объекта концентрациях: витамин А в концентрации 0,001мкг/мл (результаты собственных наблюдений), витамин К₁ – 1,0 мкг/мл и витамин Е –

0,1мкг/мл (Сардарлы, 1983).

Результаты экспериментов показали, что каждый из витаминов в используемых дозах проявляет высокую радиопротекторную активность. Показатели относительных величин эффективности антимутагенеза для спонтанного мутагенеза колебались от 0,68 до 0,83, а для индуцированного УФ излучением - от 0,52 до 0,68 (табл. 4 и 5). Было установлено, что ни одно из используемых нами сочетаний витаминов не обладало собственным мутагенным действием, то есть как и при раздельном применении, не увеличивало фона спонтанного мутирования. Характерным также является то, что витамины ни в одном из сочетаний не проявляют синергизма в отношении радиопротекторной активности. Как свидетельствуют данные табл. 4 и 5, эффективность их генозащитного действия при совместном применении в отдельных сочетаниях находится в пределах значений, зарегистрированных для каждого из витаминов в отдельности.

Таблица 4. Влияние раздельного применения витаминов А(0,001мкг/мл), К₁(10мкг/мл) и Е(0,1мкг/мл) на спонтанный мутагенез в клетках *E.coli* В/г WP₂ (дикий тип), ч/мх10⁻⁷

№ опыта	Контроль	Витамин А	Витамин К ₁	Витамин Е
х	10,4	3,35	1,8	3,1
к		3,10	5,77	4,42
t		2,00	11,09	2,46
р		<0,05	<0,001	<0,05
ФЭА		0,68	0,83	0,70

Таблица 5. Влияние раздельного применения витамина А (0,001мкг/мл), К₁(1,0мкг/мл) Е (0,1мкг/мл) на УФ-индуцированный мутагенез в клетках *E.coli* В/г WP₂ (дикий тип), ч/м * 10⁻⁷

Варианты	Контроль	Витамин А	УФ	УФ		
				+ Витамин А	+Витамин К ₁	+ Витамин Е
Х	8,4	2,5	378,1	119,5	173,2	182
К				3,2	2,2	2,08
t				13,25	11,88	11,49
р				<0,001	<0,001	<0,001
ФЭА				0,68	0,54	0,52

Сочетание витаминов А+Е и А+К₁+Е не влияли на частоту спонтанного мутирования в клетках *E.coli* дикого типа (P 0,05) (табл. 6). Что касается их влияния на индуцированный мутагенез, то сочетание А+Е имеет низкое значение показателя достоверности различий между сопоставляемыми вариантами (P <0,05) и влияет на УФ-индуцированный мутагенез. Сочетание же А+К₁+Е достоверно инги-

бирует УФ-индуцированный мутагенез (в обоих случаях P <0,001), а показатель ФЭА составляет 0,58.

Таблица 6. Влияние сочетания витаминов А (0,001мкг/мл), К₁(10мкг/мл) и Е(0,1мкг/мл) на спонтанный мутагенез в клетках *E.coli* В/г WP₂ (дикий тип) ч/мх10⁻⁷

№ опыта	Контроль	Витамин А+ К ₁	Витамин А+Е	Витамин А+К ₁ +Е
х	24,8	8	23	18,2
к		3,1	1,1	1,4
t		2,91	0,55	1,6
р		<0,01	>0,05	>0,05
ФЭА		0,68	0,27	0,58

Все три витамина (Е, А и К₁) выполняют в клетке функцию биоантиокислителей – веществ биогенного происхождения, способных при химическом взаимодействии тормозить свободнорадикальное окисление независимо от механизма его действия, но без необратимой инактивации ферментативных и генетических систем. Антиокислительная активность витамина А проявляется в торможении перекисного окисления липидов и в нормализации их антиокислительной активности, благодаря высокой способности его полиеновой цепи акцептировать электрон радикала жирных клеток (Дмитрев, 2003). Однако, он может оказывать не только прямое, но и косвенное антиоксидантное действие, влияя на проницаемость клеточных мембран. Антиокислительная же активность близких по своему химическому строению альфа-токоферола (витамина Е) и филлохинона (витамина К₁) определяется тем, что эти вещества могут непосредственно реагировать с перекисными радикалами на стадии обрыва цепей перекисного окисления липидов, уменьшая их концентрацию, то есть обладает антирадикальной активностью (Tappel, 1998).

Заслуживает самого пристального внимания феномен несовместимости генозащитного действия витаминов Е и А, используемых в сочетании. Учитывая упомянутые выше базовые антиокислительные свойства этих витаминов, а также выявленные генозащитные свойства каждого из них в отдельности, по принципу простого суммирования эффектов в данной ситуации следовало бы ожидать синергизм их радиопротекторного действия. Однако это предположение опровергается результатами собственных опытов, в которых показано практически полное отсутствие модифицирующего мутагенез действия сочетания витаминов А+Е. Одним из приемлемых предположений может являться эффект гиперфункции их базовых свойств на уровне окислительно-восстановительных процессов, а

также на уровне процессов, связанных со структурно-функциональной организацией биомембран. Теоретической основой для такого предположения может служить известное положение о том, что сумма тканевых антиоксидантов создает в них буферную антиокислительную систему, обладающую определенной емкостью. Изменение содержания одного из индивидуальных биоантиоксидантов может быть следствием изменения всей системы. Одним же из частных проявлений сдвига окислительно-восстановительного равновесия в ту или иную сторону, помимо прочих, на уровне общеклеточных процессов, которые в конечном итоге определяют мутабельность клетки (Лобашов, 1974; Thomas, Dunnill, 1979) является инактивация ферментов, в том числе и тех из них, которые принимают участие в процессах конститутивной репарации.

Генозащитное действие ретинол-ацетата. Получены принципиально важные результаты испытания протекторной активности ретинол-ацетата в зависимости от варибельности последовательности мутагенного воздействия и применения ретинол-ацетата. Эксперименты, выполненные и в этом случае на клетках дикого типа *E.coli* В/г WP₂, подтвердили наличие достоверного протекторного действия ретинол-ацетата при его введении в среду культивирования клеток до воздействия УФ, а также одновременно с ним и после него. Однако, как свидетельствуют оба регистрируемых критерия, наиболее эффективной оказалась предмутагенная обработка. Из всего изложенного, (в частности из более высокой эффективности предмутагенного воздействия ретинол-ацетата в сравнении с другими вариантами комбинированной обработки) следует, что этот витамин участвует в коррекции индуцированного мутагенеза на этапах, предшествующих образованию первичных повреждений молекулы ДНК.

Вместе с тем, наиболее важный вывод, основанный на результатах испытания ретинол-ацетата одновременно с действием мутагена и после его действия, заключается в обнаруженном нами, феномене участия в коррекции индуцированного мутагенеза на базе уже возникших предмутаций, то есть участием в процессах мутагенеза и репарации, которые находятся под контролем специальных генов. С целью определения молекулярной природы участия ретинол-ацетата в этих процессах на модели клеток *E.coli*, различающихся репарационными генотипами, выполнены специальные эксперименты, которые помогли выявить некоторые особенности протекторного действия этого витамина в отношении пиримидиновых димеров и ковалентных сшивок молекулы ДНК – типов первичных повреждений,

возникающих под воздействием УФ-лучей.

Выполненные исследования дают основание полагать, что один из путей коррекции ретинол-ацетатом УФ-индуцированного мутагенеза на этапе реализации предмутаций в конечные мутационные события связан с состоянием активности одного из ключевых ферментов мутагенеза и репарации *uvrAB*-зависимой эндонуклеазы, которая принимает участие в ветвях эксцизионной и пострепликативной репарации. Скорее всего, такой эффект ретинол-ацетата связан со стимуляцией инициальных этапов процесса репарации ДНК, прежде всего – этапа энзиматического надрезания нити ДНК вблизи повреждения и в стабилизации этого возникающего надреза. Т.е. процесса, осуществляемого *uvrAB*-зависимой эндонуклеазой, индуктором для действия которой являются исключительно пиримидиновые димеры. Основанием для такого утверждения могут служить данные о том, что при отсутствии в мутанте *uvrB*, как равно и в мутанте *uvrA* этой эндонуклеазы повышается чувствительность клеток *E.coli* к УФ-лучам. Кроме того, подавляется инициальная функция надрезания нитей ДНК вблизи пиримидинового димера, которая в норме в последующем сопровождается выщеплением этого повреждения и процессами застройки возникшей бреши с участием конститутивных полимераз, и, как показано собственными исследованиями, не проявляется протекторная активность ретинол-ацетата.

В целом, полученные в рамках выполненного исследования экспериментальные данные позволили определить некоторые особенности протекторного действия ретинол-ацетата на этапах реализации предмутаций в конечные мутационные события. В своей основе они, как общие механизмы коррекции индуцированного мутагенеза, связаны с состоянием активности продуктов генов *uvrB* и *recF*, независимо от того, несет ли молекула ДНК повреждения типа пиримидиновых димеров или межнитевых сшивок, а также с другими путями, зависящими от типа повреждения, например связанные с состоянием активности продуктов генов *recA* и *recBC*. Однако, и в том, и в другом случаях генозащитное действие ретинол-ацетата связано с теми безошибочными путями репарации и мутагенеза, при протекании которых мутации не возникают (Мамедли, 2004, Мамедли, 2006).

ВЫВОДЫ

1. Повышение числа хромосомных aberrаций в поколениях M1 и M2, установленное нами на примере у растений *Allium* сера, *Nicotiana tabacum* и *Triticum durum* двух таксономических классов

(одно- и двудольных) свидетельствует о вызванной облучением индукции геномной нестабильности у растений разных видов.

2. Развитие цитогенетических нарушений и геномной нестабильности у растений сопровождалось изменением физиолого-биохимических параметров (снижением содержания хлорофиллов *a* и *b*, а также каротиноидов).

3. В результате изучения особенностей индукции нестабильности генома у растений разных видов установлено, что тип опыления влияет на структурные изменения хромосом не только у родительских форм, но в поколениях M1 и M2: при низких дозах облучения у перекрестноопыляющихся растений частота хромосомных aberrаций в 1,3-1,5 раза ниже, чем у самоопыляющихся, что свидетельствует о роли гомо- и гетерозиготности генома растений.

4. Доказано стимулирующее действие низких доз (1-15 Гр) облучения семян на ростовые параметры выращенных из них растений в лабораторных условиях. Кроме того, установлено, что высокие дозы (200-300 Гр) по-разному влияют на содержание пигментов – хлорофиллов и каротиноидов.

5. Найдены эффективные природные радиопротекторы, влияющие на геном облученных растений: экстракты цветков софоры и грецкого ореха и рутин из цветков софоры.

а) Под влиянием рутина, наблюдали снижение выхода хромосомных aberrаций в 1,9-2,4 раза у растений, полученных из облученных семян в дозах от 5 до 15 Гр, полученного из экстракта цветков софоры и его комплексов с железом.

б) установлено уменьшение выхода цитогенетических нарушений в 2,0 раз у облученных растений при обработке экстрактом софоры в концентрации 0,01 %.

с) Обработка 0,01 %-ным экстрактом грецкого ореха обуславливала снижение выхода хромосомных aberrаций в 3,0 раза.

Впервые обоснованы перспективность применения этих растительных препаратов для предупреждения развития радиационно-индуцированных цитогенетических нарушений и геномной нестабильности.

6. Уровни снижения выхода хромосомных aberrаций свидетельствуют о том, что рутин и рутинат железа более эффективны, (2,0 и 3,0 раза) чем широкоприменяемые антимуагены Fe-тиокарбамид и Fe-пирокатехинат (1,9 и 1,6 раза).

7. Предварительная обработка семян экстрактом грецкого ореха оказывала наиболее значительный радиозащитный эффект,

который проявлялся в снижении выхода хромосомных aberrаций у проростков и повышении содержания фотосинтетических пигментов в листьях растений, по сравнению с контрольными растениями. Радиопротекторное действие экстракта грецкого ореха оказалось в 2 раза более эффективным, чем рутин.

8. Показано положительное влияние препарата рутина на содержание фотосинтетических (хлорофиллов *a* и *b*, а также каротиноидов) пигментов у растений, полученных из облученных семян. Действие рутина железа имело аналогичную направленность, но было менее выраженным. Показано также, что величина протекторного действия обоих препаратов зависела от вида растений: так, у табака она была выше, чем у пшеницы.

9. Выявлено, что обработка семян экстрактами грецкого ореха и софоры перед облучением вызывала ослабление эффекта перекисного окисления липидов, о чем свидетельствует уменьшение концентрации малонового диальдегида в тканях растений, полученных из обработанных семян. Уменьшение содержания этого соединения, обусловленное воздействием растительных экстрактов, свидетельствует о наличии у них антиоксидантных свойств. Это указывает на то, что снижение развития радиационно-индуцированной нестабильности генома может быть связано с антиоксидантной активностью применяемых природных радиопротекторов рутина, экстрактов софоры и грецкого ореха.

10. Изучение антиокислительных свойств витаминов А, К₁ и Е на бактериальных тест-системах на основе штаммов *E.coli*, мутантных по генам (*uvrB* и *recF*), связанным с разными системами репарации показало, что наибольшее, по сравнению с исследованными витаминами, антиоксидантное действие проявлял ретинол-ацетат в концентрации 0,001 мкг/мл, а также сочетания различных витаминов, в частности, витаминов А+К₁, А+К₁+Е. Установлено, что механизм генозащитного действия ретинол-ацетата связан с активацией безошибочных путей репарации с участием генов *uvrB* и *recF* и их продуктов.

11. На основании полученных результатов можно утверждать о различиях процессов развития генетических нарушений у перекрестноопыляющихся и самоопыляющихся растений при облучении и возможности их коррекции с помощью природных экстрактов с антиоксидантными свойствами.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Mamedova S.A. The features of the retinol-acetate correction of induced by ultra-violet rays mutagenesis //19th Annual Meeting of EEMS, Greece, Rhodes, 1989. P. 138.
2. Sardarli G., Mamedova S.A. Antimutagenic activity of retinilacetate in the case of original of pyrimidin dimmers// In: III National Congress of Medical Biology an Genetics. 28-30 September, 1990. -Varna, Bulgaria. - P.104.
3. Мамедова С.А. Антимутагенное действие ретинола на спонтанный и индуцированный НГ и УФ- лучами мутагенез в клетках E.coli // В мат. VII Всесоюзного симпозиума «Молекулярные механизмы генетических процессов». - М.: Наука, 1990. - С.119-120.
4. Mamedova S.A. The features of antimutagenic effect of retinol- acetate by appearance of the intermolecular sewings of DNA in E.coli cells// XX Annual Meeting of EEMS. - York, 1990. - P. 39.
5. Мамедова С.А. Особенности коррекции ретинолом мутагенеза, индуцированного УФ-излучениями и алкилирующими соединениями // В мат. VI съезда АЗОГиС. Баку,- Азернешр.- 1994.- С. 145.
6. Мамедова С.А. Антимутагенная активность ретинол ацетата в зависимости от вариабельности последовательности его комбинированного применения в сочетании с нитрозогуанидином// ВИНИТИ, - №1572-B94. - от 19.09.94г.,- 1994.
7. Məmmədli S.A. Retinol –asetatın ayrılıqda və E və K vitaminləri ilə birlikdə antimutagen təsir aktivliyi // M. Axundovun 100 illik yubileyinə həsr olunmuş «Eksperimental biologiyanın inkişaf perspektivləri» mövzusunda elmi konfransın materialları. Bakı. - BDU - 2002, may, - S. 61-62.
8. Əliyev Ə.A. , Babayev M.Ş., Məmmədli S. A.,və b. Gen mutasiyasının qısa müddətli analiz üsulu (metodiki göstəriş). - Bakı.- BDU.1997. - 24 s.
9. Мамедли С.А. Механизм генозащитного действия ретинол-ацетата - Киев, Логос, 2004.- 145 С.
10. Мамедли С.А. Концентрационная зависимость протекторного действия ретинол-ацетата при индукции мутаций УФ-светом //Azərb. Resp. Təhsil Nazirliyi. «Bilik» dərgisi. - 2005, №2. - С.48-51.
11. Məmmədli S.A. Retinol-asetatla UB-şüaların induksion mutasiya şəraitində E.coli K-12 hüceyrələrində korreksiyası «Eksperimental biologiya və müasirlik» konfr. mat. Bakı, - BDU, 29-30 aprel, 2005,- S. 150-151.
12. Мамедли С.А. Особенности путей коррекции ретинол-ацетатом УФ-индуцированного мутагенеза //AMİU-nun 30-illik yubileyinə həsr olunmuş 111-Beyn. Simp. Bakı. 23-25 noyabr, 2005.- S. 236 -240.

13. Мамедли С.А., Фараджов М.Ф., Шамилов Э.Н. Регуляция мутационной изменчивости в клетках Allium сера. /Международная конференция “Биорад-2006” Биологические эффекты малых доз ионизирующей радиации и радиоактивное загрязнение среды. 28 февраля-3 марта, Сыктывкар, 2006г. - С. 103-104.

14. Мамедли С.А., Шамилов Э.Н., Фараджов М.Ф, Абдуллаев А.С. Генозащитное действие экстракта зеленых плодов грецкого ореха на хромосомные aberrации в проростках Allium сера. /Российская Академия Наук, Международная Ассоциация Академий Наук, Международный радиоэкологический Союз. V Съезд по радиационным исследованиям. 10-14 апреля 2006 г. Тезисы докладов. - Том 2.- Москва, 2006.- С. 44

15. Мамедли С. А. Генозащитное действие ретинол-ацетата в клетках E. Coli.//AMEA, Xəbərlər, Biologiya elmləri .- № 1-2. - Bakı. - 2006. - S. 109-117.

16. Шилина Ю.В., Мамедли С.А., Рашидов Н.М. Спонтанная и индуцированная генетическая нестабильность соматических клеток растений /Вісник Українського Товариства Генетиків і Селекціонерів. - 2006. - Т.4, №2. - С. 249-271.

17. Şamilov E.N., Abdullayev A.S., Məmmədli S.A., Əzizov İ.V. Aşağı və kritik dozalarda şüalandırılmış Triticum, Zea mays, Allium sera toxumlarında radioprotektorların fotosintez pıqmentlərinə və xromosom aberrasiyalarına təsiri. /Botanika institutunun elmi əsərləri. - Bakı, 2006. - С. 344- 352.

18. Rzayev A.A., Huseynova Z.H., Suleymanova A., Mamedli S.A., Azizov I.V. Comparative study of radioprotective properties of pyrocatechol, thiocarbamide, rutin and their iron complexes. //European Radiation Research 2006, The 35th Annual Meeting of the European Radiation Research Society and The- 4th Annual Meeting of the Ukrainian Society for Radiation Biology.- 22nd to 25 th August, 2006. Kyiv.- Ukraine.- P.99.

19. Şamilov E.N, Rzayev A.A., Huseynova Z.H. , Mamedli S.A. , Azizov I.V. Influence of complexes of iron on genetic changes at γ -irradiated wheat./The fourth Eurasian conference on Nuclear science and its application. October 31 - November 3, 2006 Baku, Azerbaijan. - P. 116.

20. Мамедли С.А. Протекторная активность ретинол-ацетата в сочетании с витаминами Е и К₁//Sağlamlıq, Bakı. - 2006.- С. 133-139.

21. Мамедли С.А. Радиационно-индуцированная нестабильность генома у растений и бактерий. Баку. Элм. -256с.

22. Мамедли С.А., Гродзинский Д.М. Роль типа опыления в проявлении радиационно-индуцированной нестабильности генома у

растений.//Доповиди НАН України. - № 7.- 2007. - С. 165-170.

23. Shamilov E.N., Rzayev A.A., Huseynova Z.H., Suleymanova A.S., Mamedli S.A., Azizov I.V. Influence of complexes of iron on genetic changes at γ -irradiated wheat /The fourth Eurasian conference on Nuclear science and its application. October 31 - November 3, 2006. - Baku, Azerbaijan. - 2007. - P. 230-236.

24. 10. Мамедли С.А., Халилов Р.И Радиопротекторное воздействие препаратов рутина и рутината-железа на семена пшеницы. //BDU Xəbərləri. - Bakı. - 2007. - №3. - С. 69-74.

25. Мамедли С.А. Радиопротекторные свойства экстракта софоры.//Сб. Проблеми Радіаційної Медицини та Радіобіології. - Киев. - 2006. - 12 выпуск.-С. 258-265.

26. Мамедлі С.А. Радіопротекторна дія препаратів рослинного походження //Карантин і Захист Рослин. - Киев. - 2007. - №4.- С. 27.

27. Мамедли С.А. Радиационно-индуцированная нестабильность генома у растений табака //Харчові добавки харчування здорової та хворої людини. - Матеріали другої міжгалузевої міжнародної науково-практичної конференції, 5-6 квітня 2007 року.- Донецьк, 2007.- С. 133-134.

28. Мамедлі С.А. Радіопротекторна дія препаратів рутину, екстрактів волоського горіху та софори на насіння тютюну//Наукові доповіді Національного аграрного університету. - вып. №1(6). - 2007. - Киев. -<http://www.nbu.gov.ua/e-Journals/nd/2007-1/07msatls.pdf>.

29. Məmmədli S.A., Sadıxova N.D. Bəzi dəmir komplekslərinin və qoz ekstraktının genomüdəfiə təsiri // Kimya problemləri dərgisi, - № 4. - Bakı -2007. - S. 758-761.

30. Мамедли С.А. . Радиационно-индуцированная нестабильность генома у растений табака./ Науковий Вісник, НАУ. - 105.- Киев. - 2007. - С. 227-232.

31. Məmmədli S. A., Xəlilov R.İ. Bitkilərdə ionlaşdırılı şüaların təsiri ilə yaranmış genomun qeyri –stabil vəziyyətinə çarpaz tozlanmanın təsiri //Fövqaladə hallar və həy.fəal.təhlükəsizliyi prob.10 illik yub.həsr olun.IVBeyn. Simp.mat. - 15-16 noyabr,2007. - Bakı. - 2007. - S. 176-179.

32. Mamedli S.A. Antioxidant properties of the extract of sophora // Natural cataclysms and global problems of the modern civilization. - Baku. - 2007. - P. 534-538.

33. Məmmədli S.A. Şüalandırılmış bitki toxumlarında radioprotektorların təsirlə genomun qeyri-stabilliyinin tənzimlənməsi//Akademik H. Əliyevin 100 illik yub.həsr olun.elmi konfrans. mat. - 5-7 dekabr, Bakı. - 2007. - S. 62-68.

34. Мамедли С.А., Садыгова Н.Д. Потекторное воздействие препаратов растительного происхождения на семена Allium Cera L.//БДУ Хябярляри. - Бақы.- 2008. - №3. - С. 73-78.

35. Мамедли С.А. Антимутагенное и антиоксидантное действие препаратов растительного происхождения при облучении семян Allium Cera L./Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології: збірник наукових праць. –Т. 2.- Київ: Логос, 2007. – С. 528-532.

36. Мамедли С.А. Радиационно-индуцированная нестабильность генома у растений и бактерий. Баку: Элм; - 2007. – 256 с.

37. Мамедли С.А. Радиационно-индуцированная нестабильность генома у растений лука Allium Cera L //Екоенергетика , №2. - Baku. - 2007. - S. 26-29.

38. Мамедли С.А., Садыгова Н.Д. Генозащитное действие препаратов растительного происхождения на семена Allium Cera L. //BDU Xəbərləri. - Bakı.- 2008. - №3. - S. 62-67.

39. Мамедли С.А. Протекторного действия ретинол-ацетата при индукции мутаций УФ-светом. //Sağlamlıq, Bakı. - 2008. - S. 139-143.

40. Məmmədli S.A., Sadıxova N.D. Radioprotektorların təsirlə genomun qeyri-stabilliyinin tənzimlənməsi. // Kimya problemləri dərgisi, № 3.- Bakı. - 2008. -S. 529-532.

41. Мамедли С.А., Садыгова Н.Д. Роль типа опыления в проявлении радиационно-индуцированной нестабильности генома в клетках Allium Cera L. //БДУ Хябярляри. - Бақы. - 2009. - №2. - С. 92-97.

42. Мамедли С.А. Радиопротекторная активность витаминов А, Е и К1 // Azərbaycan Aqrar Elmi. – Bakı. - 2009.- №3-4. – S. 126-128.

43. Мамедли С.А. Экологическое определение проявлений нестабильности генома у перекрестно опыляющихся растений. АТС-nin əsərlər toplusu. - Bakı. - 2009. –X1 c.11-h. - S. 527-535.

44. Мамедли С.А. , Халилов Р.И., Новрузов В.С. Протекторные действия ретинол-ацетата на спонтанные и индуцированные УФ-светом мутации. // Gəncə Dövlət Universiteti.Elmi Xəbərləri. - Gəncə. - 2009. - №1. - С. 122-128.

45. Мамедли С.А. Уровень перекисного окисления липидов в клетках ALLIUM CERA после обработки семян растительными препаратами /Фактори експериментальної еволюції організмів. Зб. Наукових праць, т. 9 – Київ: Логос, 2011. – С.472-476.

46. Məmmədli S.A. Ətraf mühitin canlı orqanizmlərdə yaratdığı ekogenetik dəyişkənliklər //Radiasiya tədqiqatları və onların praktiki aspektləri.V111 konf. Bakı.20-21 noyabr, 2013.s131.

47. Sevil Akif Mamedli. Radioprotective properties of Sophora

extract. European Journal of Biophysics. Vol. 2, No. 3, 2014, pp.13-16. doi.10.11648/j.ejb.20140203.11.

48. Sevil A. Mamedli. Effects of plant drugs on lipid peroxidation in irradiated cells onion seeds. Journal of Advances in Biology. Vol. 5, No. 3. 2014. pp.728-731.

49. Sevil Mamedli. Study of Pollination Type Role in the Manifestation of Genome Genetic Instability in *Nicotiana tabacum L.* Cells. International Journal of Scientific Research. Vol.3.2014. pp.486-488.

50. Sevil Akif Mamedli. Gene protection effect of the Retinol-acetate upon the spontaneous and UV-light induced mutations// The Journal of Radiology Photon-126, Photon 126 (2015) 202-206 <https://sites.google.com/site/photonfoundationorganization/home/the-journal-of-radiology> Short Communication. ISJN: 5743-8483: Impact Index: 5.20

QAMMA VƏ UB FAKTORLARLA İNDUKSİYALANMIŞ GENOMUN QEYRİ-STABİLLİYİNİ AŞAĞI SALAN RADIOPROTEKTOR TƏSİRLƏRİ

MƏMMƏDLİ SEVİL AKİF QIZI

XÜLASƏ

Tütün *Nicotiana tabacum L.* və soğan *Allium cepa L.* bitkilərində genomun radiasiya-induksion qeyri-stabilliyi qədqıq olunmuşdur. M_0 , M_1 və M_2 bitkilərində xromosom aberrasiyalarının sayının artması radiasiya dozəsindən və çarpaz tozlanmadan asılılığı göstərilmişdir.

Bitkilərdə xromosom aberrasiyalarının səviyyəsi şüalanmanın dozəsindən və tozlanmanın tipindən asılı olduğu müəyyən edilmişdir. Müəyyən olunmuşdur ki, tozlanmanın tipi yalnız valideyn formalarda deyil, bitkilərin M_1 və M_2 nəsində də xromosomların struktur dəyişkənliyinə səbəb olur. Radiasiyanın aşağı dozalarında çarpaz tozlananlara nisbətən, öz-özünə tozlanan bitkilərin toxumlarında genomda baş verən dəyişkənlik 1,3-1,5 dəfə artıq olmuşdur. Eyni zamanda rutin, dəmir-rutin, qoz ekstraktı və *Sophora japonica L.* bitkisindən alınmış sofora ekstraktı tütün, soğan və buğda toxumlarının cüvətilərinin meristem hüceyrələrində qamma şüalanmanın aşağı və yuxarı dozalarında radioprotektor aktivliyini müəyyənləşdirən tədqiqatlar aparılmışdır. Toxumların şüalanmadan əvvəl bu preparatlarla işlənməsi bitkilərin yaşıl yarpaqlarında xlorofill pigmentlərinin və karotinoidlərin tərkibinin tənzimlənməsinə, köklərin meristem hüceyrələrində şüalanmanın yaratdığı xromosom aberrasiyalarının miqdarının azalmasına kömək göstərir.

Bu protektorlar bitkilərdə lipidlərin peroksidləşmə məhsulu olan malon dialdehidinin miqdarını azaltmağa xidmət edir.

Müəyyən olunmuşdur ki, iki müxtəlif toksonomik qruplara (birləpəli və ikiləpəli) daxil olan bitkilərin M_1 və M_2 nəsində xlorofil *a, b* və xromosom aberrasiyalarının miqdarının azalması genomun radiasiya-induksion qeyri-stabilliyinin qanunauyğunluğudur.

Açma sözlər: Genomun qeyri-stabilliyi, tütün, *Nicotiana tabacum L.* və soğan *Allium cepa L.*, buğda, rutin, dəmir-rutin, ekstrakt *Juglans regia L.*, *Sophora japonica L.*, pigmentlər, xromosom aberrasiyaları, lipidlərin peroksidləşməsi, ionlaşdırıcı şüalar.

**RADIOPROTECTIVE INFLUENCE OF REDUCING
INSTABILITY OF GENOME, INDUCED
BY GAMMA AND UV FACTORS**

MAMMEDLI SEVİL AKİF GİZİ

SUMMARY

There was investigated radiation-induced genome instability at plants of tobacco *Nicotiana tabacum L.* and onion *Allium cepa L.*. There have been shown increase amount of chromosomal aberrations at the plants of M₁ and M₂. Level of chromosomal aberrations depended on the dose of irradiation and method of plants pollination.

Radioprotective activity of routine, iron rinate, walnut extract and extract of *Sophora japonica L.* at the sharp gamma-irradiation of tobacco, onion and wheat seeds was investigated. Preliminary processing of seeds by these preparations resulted in stabilization of chlorophylls and carotenoid contents and significant decrease of chromosomal aberrations in root apex meristem of seedlings received from irradiated seeds. There was shown inhibition of lipid peroxidation level by the herbal preparation.

Stimulating action of high doses of an irradiation of seeds (200-300 Gr) on growth of the plants grown up from them in laboratory conditions is proved. It is besides, established, that it differently influences the content of pigments - chlorophyll and carotenoid. On the basis of literary data and results of the bioecological researches spent by us it is possible to approve about identity of the processes happening in eukaryotic and prokaryotic organisms.

Keywords: genome instability, tobacco *Nicotiana tabacum L.*, onion *Allium cepa L.*, wheat, routine, iron rinate, walnut extract, extract of *Sophora japonica L.*, seeds, pigments, chromosomal aberrations, lipid peroxidation, ionizing radiation.

**AZƏRBAYCAN MİLLİ ELMLƏR AKADEMİYASI
TORPAQŞÜNASLIQ VƏ AQROKİMYA İNSTİTUTU**

Əlyazması hüququnda

SEVİL AKİF QIZI MƏMMƏDLİ

**QAMMA VƏ UB FAKTORLARLA İNDUKSİYALANMIŞ
GENOMUN QEYRİ- STABİLLİYİNİ AŞAĞI SALAN RA-
DİOPROTEKTOR TƏSİRLƏRİ**

İxtisas: 2426.01 – ekologiya
2418.01 – radiobiologiya

Biologiya elmləri doktoru elmi dərəcəsi
almaq üçün təqdim olunmuş dissertasiyanın

AVTOREFERATI

Bakı-2016