

6. Пирог Т.П., Шевчук Т.А., Волошина И.Н., Грегирчак Н.Н. Использование иммобилизованных на керамзите клеток нефтеокисляющих микроорганизмов для очистки воды от нефти // Прикладная биохимия и микробиология. – 2005. - Том 41. - №1. - С.58-63.
7. Суринова С.И., Малышенко В.С. Получение адсорбентов из ископаемых углей // Химия твердого топлива. – 1996. - №4. - С.39-43.
8. Илялетдинов А.Н., Алиева Р.М. Микробиология и биотехнология очистки промышленных сточных вод. Алма-Ата: Гылым, 1990. – С.244.
9. Вебб К. Иммобилизованные клетки. Экологическая биотехнология. М.: Наука, 1987. – С.278.
10. Мансуров З.А., Жубанова А.А. Получение высокотехнологичных препаратов - нефтедеструкторов на основе иммобилизованных клеток микроорганизмов // Вестник КазНУ. Серия биол. - 2007. - №1 (31). - С.42-57.

В данной работе выявлены высокие сорбционные свойства углеводородокисляющих бактерий при иммобилизации на карбонизованные виноградные косточки. При изучении влияния pH на иммобилизацию установлено, что pH 4 эффективно влияет на прикрепление клеток углеводородокисляющих бактерий.

In the given work are revealed high corption properties of hydrocarbon oxide bacteria at immobilization on carbon grape stones. At studying influence pH on immobilization it is established, that pH 4 effectively influences an attachment of cells of hydrocarbon oxide bacteria.

УДК 575.224.23:599.323.4

С.Ж. КОЛУМБАЕВА

АНТИМУТАГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ СУБСТАНЦИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАСТЕНИЙ *LIMONIUM* СЕМЕЙСТВА *PLUMBAGENACEAE* (= *LIMONIACEAE* *LINCZ.*) СООБЩЕНИЕ I. АНТИМУТАГЕННЫЙ ЭФФЕКТ СУБСТАНЦИЙ ИЗ КОРНЕЙ И КОРНЕВИЩ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ *LIMONIUM*

(КазНУ им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан)

*Изучено модифицирующее влияние растительных экстрактов из подземной части *Limonium tyrianthum*, *L. otolepis*, *L. popovii*, *L. leptophyllum* и *L. suffruticosum*, содержащих комплекс биологически активных веществ, на мутагенный эффект несимметричного диметилгидразина. Установлено, что при совместном применении ксенобиотика и растительных экстрактов наблюдается достоверное снижение уровня хромосомных aberrаций в клетках зародышевой корневой меристемы семян ячменя, индуцированных НДМГ. Не выявлено достоверных различий по уровню антимутагенной активности у растительных экстрактов из различных видов *Limonium*.*

Поиск эффективных протекторов мутагенного и токсического действия многочисленных поллютантов приобретает особую актуальность в связи с усилением антропогенного пресса на окружающую среду /1-3/. Известно, что многие биологически активные вещества растительного происхождения могут существенно модифицировать индуцированный мутационный процесс в сторону его снижения. В качестве модификаторов мутагенного эффекта могут выступать биологически активные вещества (БАВ) природного происхождения, в числе которых витамины, растительные флавонолы, фитогормоны, полипептиды, аминокислоты и др. Многие из них являются антиоксидантами и могут повысить устойчивость организма к мутагенному и токсическому действию широкого ряда загрязнителей /4, 5/. В связи с этим одной из важных задач является проведение скрининга растений богатой дикорастущей флоры Казахстана на антимутагенную активность.

В работе представлены результаты исследования антимутагенной активности субстанций из разных видов растений *Limonium* семейства *Plumbagenaceae* в тесте по учету хромосомных aberrаций в клетках корневой зародышевой меристемы семян ячменя.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В качестве испытуемых химических соединений были взяты водные растворы экстрактов из подземной части 5 видов растений *Limonium* семейства *Plumbagenaceae*: *Limonium myrianthum* (Schrenk) Kuntze, *L. otolepis* (Schrenk) Kuntze, *L. popovii* Kubansk., *L. leptophyllum* (Schrenk) Kuntze, *L. suffruticosum* (L.) Kuntze /6/. В качестве мутагенного фактора был использован водный раствор несимметричного диметилгидразина (НДМГ) в концентрации 50.0 мг/л /7/. Растительные экстракты каждого вида *Limonium* использовали также в виде водного раствора в концентрации 100 мг/л. Воздушно-сухие семена ячменя сорта Одесская 100 замачивали в растворах НДМГ и растительных экстрактов в течение 6 часов отдельно, а также по очереди – вначале в растворе ксенобиотика, а затем переносили в раствор экстрактов. После замачивания семена проращивали в чашках Петри на фильтровальной бумаге, смоченной дистиллированной водой, при $t = 24-26^{\circ}\text{C}$ в условиях термостата. Контролем служили семена, замоченные в дистиллированной воде. Структурные мутации хромосом анализировали с помощью метафазного метода на временных давленных препаратах, окрашенных водным раствором фуксинсернистой кислоты /8, 9/. Метафазные пластинки анализировали и фотографировали в световом микроскопе Axioskop-40 (Zeiss), подаренном фондом А. фон Гумбольдта биологическому факультету КазНУ им. аль-Фараби. Статистическую обработку результатов наблюдений проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента /10/.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты цитогенетического изучения спонтанного и индуцированного мутагенеза в семенах ячменя представлены в таблице 1. Естественный уровень мутирования в семенах ячменя составил 1.14 перестроек на 100 просмотренных метафаз.

Под воздействием экстрактов частота структурных мутаций в клетках зародышевой корневой меристемы семян ячменя оставалась на уровне контроля. Так, при обработке ячменя препаратами из *L. myrianthum*, *L. otolepis*, *L. popovii*, *L. leptophyllum*, *L. suffruticosum* уровень хромосомных aberrаций на 100 просмотренных метафаз соответственно составил 1.18, 1.32, 0.98, 1.16 и 1.35, соответственно.

НДМГ при обработке семян индуцировал хромосомные aberrации с частотой, достоверно превышающей спонтанный уровень мутирования, - 5.42 % ($p < 0.001$), а число aberrаций на 100 метафаз - 5.82 ($p < 0.001$). Спектр aberrаций хромосом был представлен всеми типами перестроек.

Сравнительный анализ результатов анализа контрольного и опытного (НДМГ) вариантов выявил достоверное увеличение числа aberrаций хромосомного типа с 0.57 до 2.41 ($p < 0.05$), а хроматидного типа – с 0.57 до 3.21 ($p < 0.01$) на 100 метафаз, соответственно. Спектр структурных нарушений хромосом был представлен как перестройками хромосомного, так хроматидного типов. Встречались в основном парные и одиночные концевые делеции, точечные фрагменты (рисунок 1).

Таблица 1.

**Частота и спектр структурных нарушений хромосом, индуцированных НДМГ
и экстрактами из корней и корневищ 5 видов растений *Limonium***

Вариант опыта	Всего изуче но клето к	Частота абберрант- ных клеток ($M \pm m\%$)	Число хромосомных aberrаций на 100 метафазных клеток		
			всего аббераций	хромосомного типа	хроматидного типа
Контроль	525	1.14±0.46	1.14±0.46	0.57±0.33	0.57±0.33
<i>Limonium myrianthum</i>	508	1.18±0.48	1.18±0.48	0.39±0.28	0.79±0.39
<i>L. otolepis</i>	531	1.32±0.50	1.32±0.50	0.56±0.32	0.76±0.38
<i>L. popovii</i>	510	0.98±0.44	0.98±0.44	0.39±0.28	0.59±0.34
<i>L. leptophyllum</i>	518	1.16±0.47	1.16±0.47	0.58±0.33	0.58±0.33
<i>L. suffruticosum</i>	520	1.35±0.51	1.35±0.51	0.58±0.33	0.77±0.38
НДМГ	498	5.42±1.01* **	5.82±1.05***	2.41±0.69*	3.21±0.79**
Примечание: * - $p<0.05$; ** - $p<0.01$; *** - $p<0.001$ в сравнении с контрольными значениями					

Полученные результаты свидетельствуют о равной возможности индукции под воздействием НДМГ хромосомных aberrаций на всех стадиях клеточного цикла, а именно в предсинтетической (G_1), синтетической (S) и постсинтетической (G_2) фазах. Наряду с абберрантными метафазными пластинками встречались и анафазы с хромосомными мостами (рисунок 2).

Результаты цитогенетического анализа клеток корневой зародышевой меристемы семян ячменя, обработанных экстрактами из корней и корневищ 5 видов растений *Limonium*, свидетельствуют об отсутствии какой-либо мутагенной активности у изучаемых препаратов в использованных концентрациях. Напротив, НДМГ оказал выраженный мутагенный эффект, увеличив общую частоту абберрантных клеток и число хромосомных aberrаций, соответственно, в 4.75 и 5.11 раз по сравнению с контролем.

Последовательная обработка семян ячменя НДМГ и экстрактами из кермека привела к достоверному снижению как общей частоты абберрантных клеток, так и числа хромосомных нарушений на 100 метафаз во всех вариантах опыта (таблица 2).

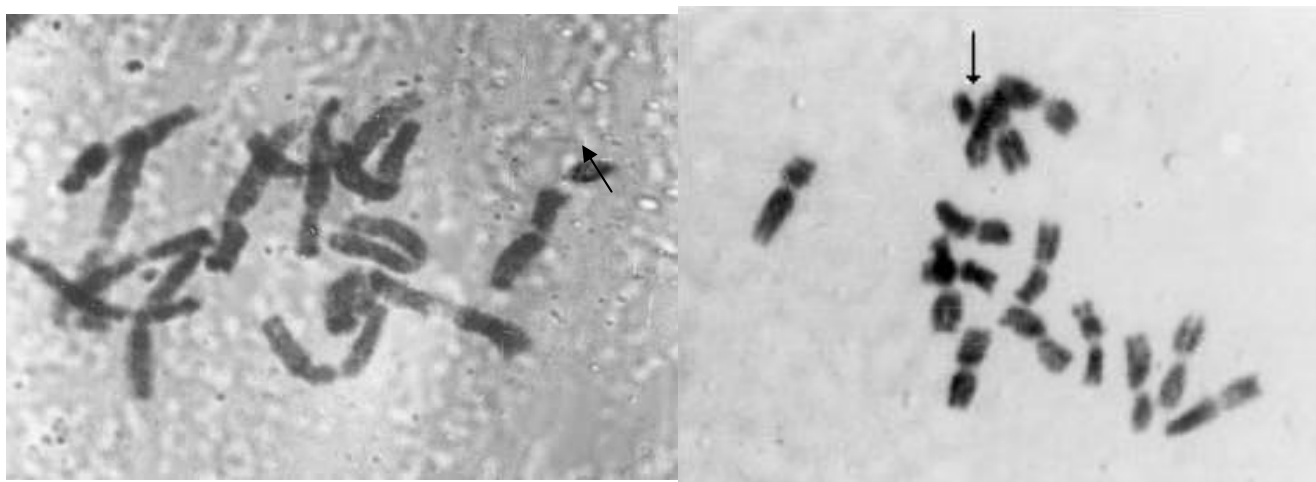


Рисунок 1. Парные концевые делеции



Рисунок 2. Хромосомные мосты в анафазе митоза

Если НДМГ индуцировал аберрантные клетки с частотой 5.42 %, а число aberrаций на 100 клеток – 5.82, то при совместном воздействии с экстрактами из подземной части *L. myrianthum* – 2.46 % и 2.66 ($p < 0.05$), *L. otolepis* – 2.93 % и 2.93 ($p < 0.05$), *L. popovii* – 1.92 % и 1.92 ($p < 0.01$), *L. leptophyllum* – 2.42 % и 2.42 ($p < 0.05$), *L. suffruticosum* – 2.55 % и 2.55 ($p < 0.05$), соответственно.

Достоверной разницы в проявлении антимутагенной активности экстрактов из изучаемых видов растений *Limonium* не выявлено. Однако, исходя из абсолютных чисел, эти растения по уровню модификации мутагенного эффекта НДМГ в сторону его снижения можно расположить в следующем порядке: *L. popovii* (1.92) > *L. leptophyllum* (2.42) > *L. myrianthum* (2.66) > *L. suffruticosum* (2.55) > *L. otolepis* (2.93), что отражено на рисунке 3.

Таблица 2.

Частота и спектр структурных нарушений хромосом, индуцированных совместным воздействием НДМГ и экстрактов из корней и корневищ 5 видов растений *Limonium*

Вариант опыта	Всего изучено клеток	Частота aberrantных x клеток ($M \pm m\%$)	Число хромосомных aberrаций на 100 метафазных клеток		
			всего aberrаций	хромосомного типа	хроматидного типа
НДМГ	498	5.42 $\pm$ 1.01	5.82 $\pm$ 1.05	2.41 $\pm$ 0.69	3.21 $\pm$ 0.79
НДМГ + экстракты из подземной части					
<i>L. myrianthum</i>	488	2.46 $\pm$ 0.70*	2.66 $\pm$ 0.73*	1.02 $\pm$ 0.45	1.43 $\pm$ 0.59
<i>L. otolepis</i>	512	2.93 $\pm$ 0.75*	2.93 $\pm$ 0.75*	1.37 $\pm$ 0.51	1.56 $\pm$ 0.55
<i>L. popovii</i>	521	1.92 $\pm$ 0.60**	1.92 $\pm$ 0.60* *	0.77 $\pm$ 0.38	1.15 $\pm$ 0.47
<i>L. leptophyllum</i>	495	2.42 $\pm$ 0.69*	2.42 $\pm$ 0.69* *	1.01 $\pm$ 0.45	1.41 $\pm$ 0.53
<i>L. suffruticosum</i>	510	2.55 $\pm$ 0.70*	2.55 $\pm$ 0.70* *	1.37 $\pm$ 0.51	1.18 $\pm$ 0.48
Примечание: * - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$ в сравнении с НДМГ					

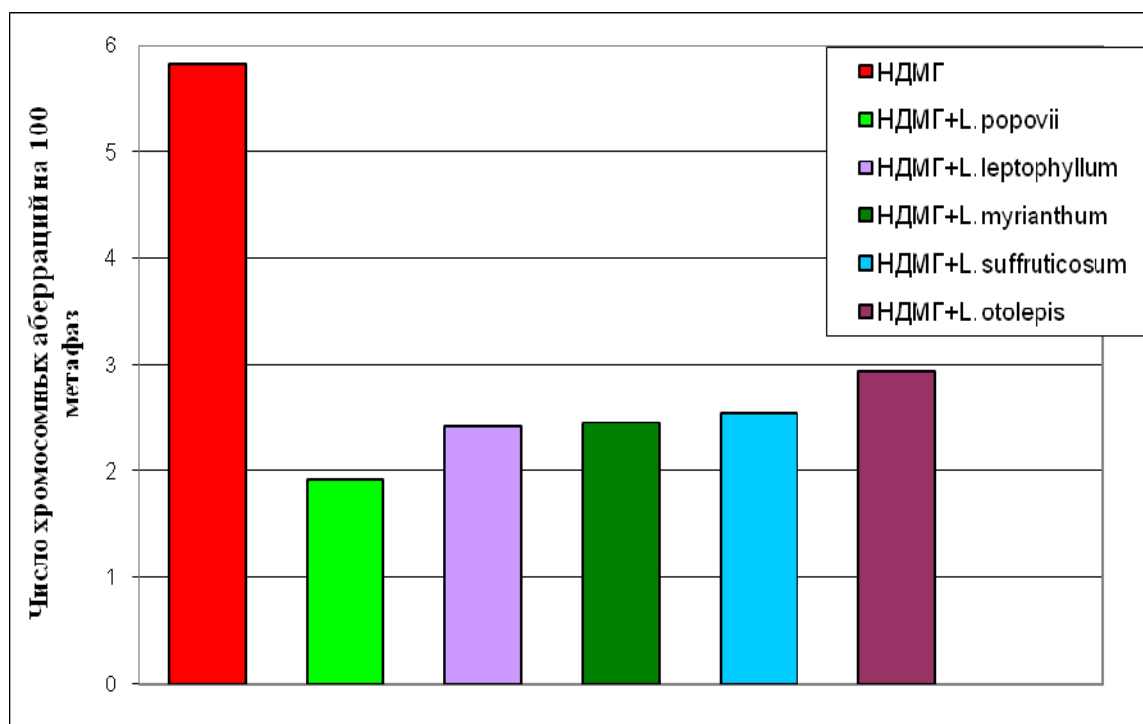


Рисунок 3. Уровень антимуtagenной активности субстанций из подземной части *Limonium* при индуцируемом НДМГ мутагенезе

Полученные результаты свидетельствуют о наличии антимутагенного эффекта у субстанций, выделенных как из корней и корневищ изучаемых 5-ти видов *Limonium*. Сравнительный анализ частоты аберрантных клеток и числа хромосомных aberrаций на 100 метафаз не выявил достоверной разницы в уровне модификации мутагенного эффекта НДМГ комплексом БАВ из различных частей *L. popovi*, *L. otolepis*, *L. myrianthum*, *L. leptophyllum* и *L. suffruticosum*.

Таким образом, в результате проведенных цитогенетических исследований установлена антимутагенная активность субстанций из *L. myrianthum*, *L. otolepis*, *L. popovii*, *L. leptophyllum* и *L. suffruticosum*, проявляющаяся в достоверном снижении уровня хромосомных aberrаций, индуцированных воздействием несимметричного диметилгидразина. В их составе имеются такие БАВ, как антрахиноны, дубильные вещества, полисахариды, флавоноиды, фенолы, фенолокислоты, аминокислоты, витамины. Антимутагенный эффект этих препаратов может быть обусловлен активацией или восстановлением репарационных систем клетки, поврежденных мутагенами. Кроме того, генопротекторное действие может быть обусловлено их способностью ингибировать свободнорадикальные процессы и стимулировать репарацию ДНК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тарасов В.А., Тарасов А.В., Любимова И.К., Асланян М.М. Проблема количественной оценки опасности химических соединений в генетической токсикологии // Успехи современной биологии. 2002. Т. 122. № 2. С. 136-147.
2. Тарасов В.А., Абилов С.К. и др. Эффективность батарей тестов при оценке потенциальной мутагенной опасности химических соединений // Генетика. 2003. Т. 39. № 10. С. 1406-1418.
3. Осипова Т.Б., Синельщикова Т.А., Перминова И.Н., Засухина Г.Д. Репаративные процессы в культивируемых клетках человека при воздействии соли никеля и их модификация // Генетика. 1998. Т.34. №6. С.852-856.
4. Кужир Т.Д. Антимутагены и химический антимутагенез в системе высших эукариот. – Минск: Научная думка. - 1999. - 263 с.
5. Засухина Г.Д., Синельщикова Т.А. Мутагенез, антимутагенез, репарация ДНК // Вестник РАМН. 1993. № 1. – С.9-14.
6. Черепанов С.К. Сосудистые растения СССР. - Л.: Наука, 1981. - 509 с.
7. С.Ж. Колумбаева, Т.М. Шалахметова, Д.А. Бегимбетова, Р.И. Берсимбаев, А.М. Калимагамбетов. Мутагенное действие компонента ракетного топлива несимметричного диметилгидразина на крыс разного возраста // Генетика. - 2007. - Том 43, № 6. - С. 742-746.
8. Макаров В.П., Сафронов В.В. Цитогенетические методы анализа хромосом.-М.: Наука.1978.С. 85.
9. Немцева Л.С. Метафазный метод учета перестроек хромосом.-М.: Наука.1970.С. 126.
10. Рокицкий Н.Ф. Введение в статистическую генетику.- М.: Высшая школа. 1978.- 253 С.

Симметриялық емес диметилгидразиннің мутагендік қабілеттілігіне *L. myrianthum*, *L. otolepis*, *L. popovii*, *L. leptophyllum* және *L. suffruticosum*-нің жер асты бөлімдерінен алынған биологиялық белсенді кешенді заттары бар өсімдіктер сығындыларының модификацияланған әсері зерттелді. Ксенобиотикті өсімдіктер сығындыларымен бірге қолданғанда НДМГ-мен өңделген арпа дәндерінің тамыр ұрық меристемасының клеткаларында хромосомалық aberrацияларының сандық деңгейі сенімді ретінде төмендеуі анықталды. *Limonium*-нің әр түрлерінен алынған өсімдік сығындыларында антимутагендік белсенділігінің деңгейі бойынша сенімді айырмашылық табылған жоқ.

Modifying influence of vegetative extracts from roots of *L. myrianthum*, *L. otolepis*, *L. popovii*, *L. leptophyllum* and *L. suffruticosum*, biologically active substances containing a complex, on mutagen effect of unsymmetrical dimethylhydrazine (NDMH) is studied. It was established, that at joint application of xenobiotic and vegetative extracts authentic decrease in a level of chromosomal aberrations in seed barley induced by NDMH. It was not revealed authentic distinctions on a level of antimutagen activity of vegetative extracts from underground parts of plants.