

2-бөлім
**ӨСІМДІКТЕР ФИЗИОЛОГИЯСЫ
ЖӘНЕ БИОХИМИЯСЫ**

Раздел 2
**ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ
РАСТЕНИЙ**

Section 2
**PLANTS PHYSIOLOGY
AND BIOCHEMISTRY**

Колумбаева С.Ж., Кайрат Б.К.,
Оразова С.Б., Ловинская А.В.,
Шалахметова Т.М.,
Бияшева З.М.

Казахский национальный университет
им. аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

**Влияние биологически
активных веществ из растений
Limonium gmelinii (сем.
Plumbaginaceae) и *Inula bri-
tannica* L. (сем. *Compositae*)
на антиокислительный
статус проростков ячменя,
подвергнутых действию
несимметричного
диметилгидразина**

Kolumbayeva S.Zh., Kairat B.K.,
Orazova S., Lovinskaya A.V.,
Shalakhmetova T.M.,
Biyasheva Z.M.

Al-Farabi Kazakh National University,
Kazakhstan, Almaty

**Effect of bioactive substances
from *Limonium gmelinii*
(*Plumbaginaceae*) and *Inula
britannica* L. (*Compositae*)
on anti-oxidative status of
barley seedlings at asymmetric
dymethylhydrazine effects**

Колумбаева С.Ж., Кайрат Б.К.,
Оразова С.Б., Ловинская А.В.,
Шалахметова Т.М.,
Бияшева З.М.

Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық
университеті, Қазақстан, Алматы қ.

**Симметриялы емес
диметилгидразиннің
әсеріне ұшыраған арпа
өскіндерінің антиоксиданттық
жағдайына *Plumbaginaceae*
тұқымдасының *Limonium
gmelinii* және *Compositae*
тұқымдасының *Inula britannica*
L. өсімдіктерінен алынған
биологиялық белсенді
заттардың әсері**

Устойчивость растений к стресс-факторам окружающей среды во многом зависит от состояния антиоксидантной системы (АОС). Важнейшими антиоксидантами растений, непосредственно обезвреживающими активные формы кислорода, выступают специализированные ферментные системы (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза и т.д.), способные тормозить или устранять свободнорадикальное окисление органических веществ. Ферменты АОС принимают участие в регуляции метаболизма и имеют особую важность в обеспечении быстрой приспособленности к постоянно меняющимся условиям внешней среды. Целью нашего исследования являлось изучение влияния различных концентрации БАВ надземной и подземной частей кермека (*Limonium gmelinii*) и девясила (*Inula britannica*) на функционирование ферментов антиоксидантной системы проростков ячменя при действии 5 мг/л несимметричного диметилгидразина (НДМГ). В результате биохимических исследований установлено, что в ответ на действие НДМГ происходит активация защитной антиоксидантной системы в 2-дневных проростках ячменя. Выявлено повышенное содержание МДА и увеличение активности каталазы по сравнению с контролем. Установлено, что сочетанное воздействие НДМГ и БАВ на семена ячменя способствовало снижению интенсивности ПОЛ и активности каталазы. Непосредственно это свидетельствует о том, что БАВ кермека Гмелина и девясила британского обладают адаптогенными свойствами.

Ключевые слова: несимметричный диметилгидразин, проростки ячменя, кермек Гмелина *Limonium gmelinii*, девясил британский *Inula britannica* L., малоновый диальдегид, супероксиддисмутаза, каталаза.

Plant resistance to environmental stress factors largely depends on the state of the antioxidant system (AOS). Essential antioxidants of plants as a specialized enzyme systems (superoxide dismutase, catalase, etc.) directly effect on reactive oxygen species are liable to hinder or eliminate free radical oxidation of organic substances. AOS enzymes are involved in the regulation of metabolism and are of particular importance in enabling rapid adaptation to constantly changing external conditions of environment. The aim of our research was to study the influence of different concentrations of bioactive substances extracted from aboveground and underground parts of *Limonium gmelinii* and *Inula britannica* on the functioning of antioxidative enzymes of barley seedlings under the unsymmetrical dymethylhydrazine (UDMH). It is found that UDMH activated protective antioxidant system in 2-day barley sprouts. Revealed a high content of malondialdehyde and increasing catalase activity compared with control. The combined impact of UDMH and bioactive substances of plants reduce the intensity of lipid peroxidation and catalase activity in barley sprouts. This directly indicates that bioactive substances of *Limonium gmelinii* and *Inula britannica* have adaptogenic properties.

Key words: unsymmetrical dimethylhydrazine, sprouts of barley, *Limonium gmelinii*, *Inula britannica* L., malondialdehyde, superoxide dismutase, catalase.

Қоршаған ортаның стресс-факторларына өсімдіктердің төзімділігі көбінесе антиоксиданттық жүйенің (АОЖ) жағдайына тәуелді. Өсімдіктердің антиоксиданттарының рөлін арнайы мамандандырылған ферменттік жүйелер (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза және т.б.) атқарады, олар оттегінің белсенді формасын зарарсыздандырып, органикалық заттардың бос радикалды тотығуын тежейді. АОЖ ферменттері зат алмасуды реттеуге қатысады және қоршаған ортаның құбылмалы жағдайларына өсімдіктердің жылдам бейімделуін қамтамасыз етуде аса маңызды орын алады. Зерттеу жұмысымыздың мақсаты кермек (*Limonium gmelinii*) және аңдыз (*Inula britannica*) өсімдіктерінің жерүсті және жерасты мүшелерінен алынған ББЗ әртүрлі концентрацияларының 5 мг/л СДМГ әсеріне ұшыраған арпа өскіндері антиоксиданттық жүйесінің ферменттерінің жұмысына әсерін зерттеу. Биохимиялық зерттеулердің нәтижесінде арпаның 2 күндік өскіндерінде СДМГ әсеріне жауап ретінде антиоксиданттық жүйесінің активациясы жүретіндігі анықталды.

Түйін сөздер: симметриялы емес диметилгидразин, арпа өскіндері, антиоксиданттық жүйе, Гмелин кермегі *Limonium gmelinii*, британдық аңдыз *Inula britannica* L., малон диальдегиді, супероксиддисмутаза, каталаза.

**ВЛИЯНИЕ
БИОЛОГИЧЕСКИ
АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ
ИЗ РАСТЕНИЙ *LIMON-
NIUM GMELINII* (СЕМ.
PLUMBAGINACEAE) И
INULA BRITANNICA L.
(СЕМ. *COMPOSITAE*) НА
АНТИОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ
СТАТУС ПРОРОСТКОВ
ЯЧМЕНЯ,
ПОДВЕРГНУТЫХ
ДЕЙСТВИЮ
НЕСИММЕТРИЧНОГО
ДИМЕТИЛГИДРАЗИНА**

Введение

В настоящее время ведется активный поиск и изучение природных средств, призванных предотвращать или, по крайней мере, уменьшить воздействие химических агентов на генетический аппарат человека и многих других живых организмов. Одним из перспективных источников биологически активных веществ (БАВ), обладающих протекторными свойствами (антиоксидантной и антимуутагенной), являются лекарственные растения [1]. Фитопрепараты из растений рода *Inula* обладают противовоспалительными, антимикробными, бронхолитическими, противоаллергическими, секреторолитическими, желчегонными, отхаркивающими, ранозаживляющими, мочегонными свойствами [2]. Экстракты из растений рода *Limonium* семейства *Plumbaginaceae* обладают противовоспалительным, антиоксидантным, антиканцерогенным, противовирусным, иммуномодулирующим, антимуутагенным потенциалом [3]. Как правило, БАВ обладают низкой токсичностью и аллергенностью, а также возможностью длительного применения без побочных эффектов. Однако многочисленные исследования показывают, что лекарственные растения в зависимости от дозы применения могут обладать мутагенной и антимуутагенной активностью [4].

Несимметричный диметилгидразин (НДМГ) представляет собой токсичное вещество 1 класса опасности [5, 6]. Кроме общетоксического действия, НДМГ дает отдаленные эффекты – мутагенный, канцерогенный, гонадо- и эмбриотоксический [7]. Основным антропогенным источником поступления НДМГ в окружающую среду является аэрокосмическая отрасль, где он используется в качестве горючего компонента в ракетном топливе [8].

Важнейшим механизмом устойчивости и адаптации растений в условиях промышленного загрязнения является активизация биохимической многоуровневой и многокомпонентной системы антиоксидантной защиты. В растении под действием одного или нескольких стресс-факторов происходит индукция защитного ответа, который позволяет ему выживать и адаптироваться к изменившимся внешним условиям. Выживание

растений предполагает протекание двух качественно различных этапов: быстрого стрессорного ответа (стресс-реакции) и долговременной (специализированной) адаптации. Эти два этапа выполняют различные биологические функции. Стадия стресс-реакции обеспечивает лишь кратковременную защиту за счет мобилизации или индукции систем быстрого ответа. Эти системы энергоемки и не специфичны. На стадии адаптации обычно формируются эффективные долговременные защитные механизмы [9].

Известен целый ряд специализированных механизмов, индуцируемых растением при действии определенного стрессора. Однако в последнее время накоплены многочисленные данные о том, что общим интегральным процессом, характеризующим негативное действие стрессоров различной природы, является усиление генерации активных форм кислорода (АФК) [10-13].

Повышенное образование АФК происходит в хлоропластах и митохондриях в том случае, когда акцептором электронов выступает кислород из-за истощенности пула других акцепторов электронов (например, НАДФ) [10, 14, 15]. Кроме того, источником АФК является фотодыхание, скорость которого контролируется соотношением CO_2/O_2 и температурой. Взаимодействие АФК с белками, липидами, нуклеиновыми кислотами приводит к нарушению структуры и функции мембран, активности ферментов, мутагенезу и, в итоге, к остановке клеточного цикла и апоптозу [16].

В ответ на усиление генерации АФК, как правило, наблюдается активация элементов антиоксидантной защитной системы. Появление и развитие у организмов антиоксидантной системы, позволяющей контролировать уровень АФК, происходило одновременно с появлением и развитием фотосинтезирующих организмов [17, 18].

Антиоксидантная защитная система клетки растения – множество взаимосвязанных окислительно-восстановительных реакций, в которых участвуют антиоксидантные ферменты и низкомолекулярные метаболиты. В нормальных условиях и при окислительном стрессе антиоксидантные ферменты, в числе которых супероксиддисмутаза, различные пероксидазы, каталаза и ферменты аскорбат-глутатионового цикла, играют важную роль в поддержании определенного безопасного уровня АФК. В последнее время активно обсуждается вопрос о способности АФК выступать в качестве сигнальных молекул и регуляторов экспрессии генов, де-

терминирующих защитный ответ растения [19]. Такой уровень необходим для протекания ряда метаболических реакций в клетке и не вызывает повреждения биомолекул [10, 17]. Альтернативным защитным механизмом у растений является стресс-зависимое накопление низкомолекулярных органических антиоксидантов: аскорбиновой кислоты, α -токоферола, глутатиона, пролина, полиаминов (ПА), каротиноидов, антоцианов и других соединений.

Таким образом, образование повышенного количества АФК опасно в том случае, когда происходит нарушение баланса между образованием АФК и их разрушением [10-12]. Именно это нарушение и является негативным интегральным процессом, получившим название окислительного стресса.

Цель данного исследования заключалась в изучении функционирования каталазы и супероксиддисмутазы, а также содержания малонового диальдегида в корнях 2-дневных проростков ячменя при действии НДМГ и БАВ, содержащихся в экстракте кермека (*Limonium gmelinii*) и девясила (*Inula britannica*).

Материалы и методы исследования

В качестве объектов исследований использовали корни семян ярового ячменя сорта «Байшешек», районированного в Алматинской области. Отобранные, простерилизованные семена замачивали при комнатной температуре в течение 24 часов в различных вариантах:

- 1) контроль (дистиллированная вода);
- 2) 50 мг/л экстракта подземной части лекарственного растения;
- 3) 100 мг/л экстракта подземной части лекарственного растения;
- 4) 50 мг/л экстракта надземной части лекарственного растения;
- 5) 100 мг/л экстракта надземной части лекарственного растения.

Затем семена проращивали в чашках Петри по 50 штук при тех же условиях на дистиллированной воде (контроль) и 5 мг/л несимметричного диметилгидразина (НДМГ) в течение 2 суток.

В качестве испытуемых веществ на токсическую и мутагенную активность были взяты водные растворы экстрактов из надземной и подземной частей растений девясила британского (*Inula britannica* L., сем. *Compositae*). Определение содержания общего белка в вытяжках проводили колориметрическим методом по Лоури [20]. Оптическую плотность растворов измеряли

на спектрофотометре Jenway 6405 UV/Vis (Великобритания) при длине волны 740 нм против холодной пробы с дистиллированной водой. Расчет вели по калибровочному графику, в качестве стандарта использовали бычий сывороточный альбумин (РАА Laboratories, Австрия).

Содержание малонового диальдегида определяли по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой, где образовавшийся окрашенный триметиновый комплекс имеет максимум поглощения при 532 нм. При расчете использовали коэффициент молярной экстинкции триметинового комплекса – $1,56 \cdot 10^5$ [21]. Содержание малонового диальдегида выражали в мкмольх / г сырой массы.

Активность супероксиддисмутазы (КФ 1.15.1.1) определяли методом, описанным Ch. Beauchamp и I. Fridovich, основанном на торможении супероксиддисмутазой (СОД) восстановления бесцветных тетразолиевых солей супероксидными анионрадикалами, при котором происходит их превращение в окрашенные соединения формазаны [22]. Оптическую плотность каждой пробы измеряли при 560 нм. Активность СОД выражали в относительных единицах активности о.е.а. / мг белка.

Активность каталазы (КФ 1.11.1.6) определяли по методу, основанному на способности пероксида водорода образовывать с молибдатом аммония стойкий окрашенный комплекс с максимумом поглощения при 410 нм. При расчете использовали коэффициент молярной экстинкции пероксида водорода – $22,2 \cdot 10^6$ [23]. Активность каталазы выражали в мкмольх H_2O_2 / л · мин · мг белка.

Результаты исследования и их обсуждение

Для доказательства развития окислительно-го стресса при действии выбранного стрессора в корнях опытных растений был измерен уровень содержания малонового диальдегида (МДА) – показателя развития перекисного окисления липидов (ПОЛ).

На рисунках 1 и 2 представлены результаты эксперимента по определению количества МДА в корнях 2-дневных проростков ячменя под действием НДМГ и БАВ, экстрагированных из надземной и подземной части кермека и девясила.

Анализ результатов показал, что экстракты подземной и надземной частей кермека снижают содержание МДА в корнях ячменя, так если в контрольных образцах концентрация составила $122,44 \pm 17,51$, то при 100,0 мг/л экстракта под-

земной части (минимальный эффект) данный показатель снизился до $87,54 \pm 19,85$ мкмоль/мг белка. Максимальный эффект наблюдался при действии экстрактов кермека из подземной части в концентрации 50,0 мг/л. В этом варианте содержание МДА по сравнению с контролем снизилось в 1,67 раза ($p < 0,05$). Аналогичные результаты были получены и при изучении экстрактов из надземной части. При этом сравнительный анализ действия БАВ на содержание МДА в корнях ячменя показал, что статистически значимого различия между концентрациями и БАВ из подземной и надземной частями растений не наблюдалось. Несимметричный диметилгидразин (НДМГ) в концентрации 5,0 мг/л вызывал статистически значимое увеличение ($p < 0,05$) содержания МДА в корнях ячменя по сравнению с контролем. Экстракты из подземной и надземной частей кермека Гмелина проявили протекторное действие при стресс-воздействии НДМГ в использованной концентрации. Во всех вариантах эксперимента не наблюдалось статистически значимого превышения контрольного значения. Предобработка семян экстрактами БАВ снижала действие НДМГ. Так, предобработка семян ячменя БАВ из подземной части кермека в концентрации 50,0 и 100,0 мг/л снижала негативное действие НДМГ в 2,10 ($p < 0,01$) и 2,73 ($p < 0,01$) раза, соответственно. Предобработка семян ячменя БАВ из надземной части кермека в концентрации 50,0 и 100,0 мг/л снижала действие НДМГ в 1,18 и 2,71 раза ($p < 0,01$), соответственно (рисунок 1).

Анализ результатов показал, что экстракты надземной и подземной частей девясила увеличивали содержание МДА в корнях ячменя, однако, данное увеличение статистически не значимо, за исключением действия БАВ из надземной части девясила в концентрации 100,0 мг/л ($p < 0,05$). При предобработке семян экстрактами БАВ девясила не наблюдалось снижения действия НДМГ, за исключением предобработки БАВ из подземной части девясила в концентрации 50,0 мг/л ($p < 0,01$) (рисунок 2).

СОД является уникальным ключевым антиоксидантным ферментом. Результаты исследований по влиянию НДМГ и БАВ, экстрагированных из подземной и надземной частей кермека и девясила, на ферментную активность СОД в корнях ячменя представлены на рисунках 3 и 4. При проращивании семян на БАВ из подземной и надземной частей кермека наблюдалось увеличение активности СОД по сравнению с контролем. При этом статистически значимое увеличение по срав-

нению с контролем наблюдалось при действии БАВ из надземной части в концентрации 50,0 мг/л (в 6,2 раза; $p < 0,01$). Установлено, что НДМГ в использованной концентрации не вызывал окислительного стресса, на что указывает активность фермента, составившая $0,06 \pm 0,01$ о.е.а./ мг, а в контроле этот показатель составил $0,05 \pm 0,01$

о.е.а./ мг белка, соответственно. При предобработке семян БАВ из кермека Гмелина с последующим проращиванием на растворе НДМГ не наблюдалось статистически значимого увеличения по сравнению с вариантом без предобработки, во всех вариантах активность СОД была на уровне контроля (рисунок 3).

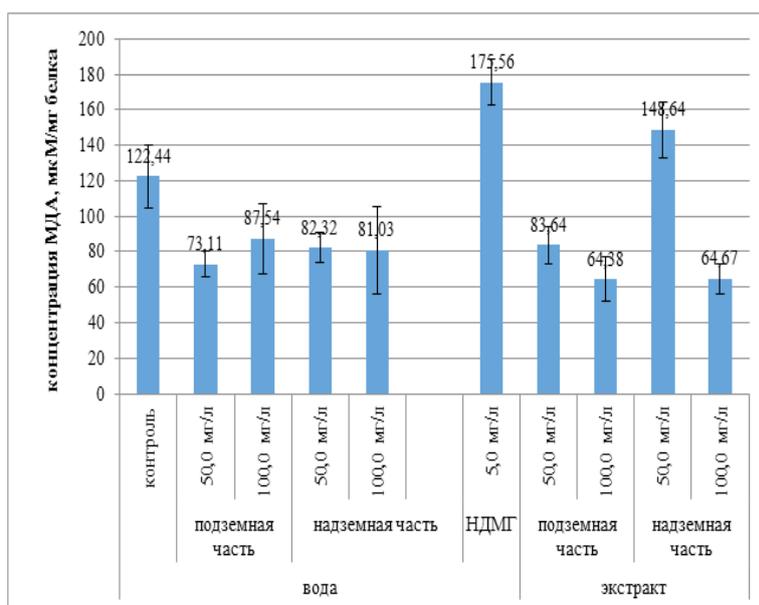


Рисунок 1 – Концентрация МДА в корнях 2-дневных проростков ячменя под действием НДМГ и БАВ кермека

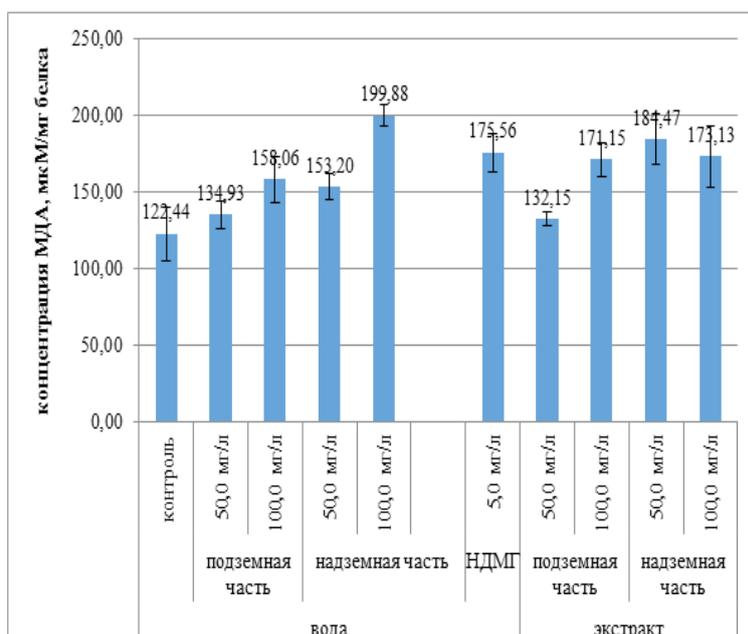


Рисунок 2 – Концентрация МДА в корнях 2-дневных проростков ячменя под действием НДМГ и БАВ девясила

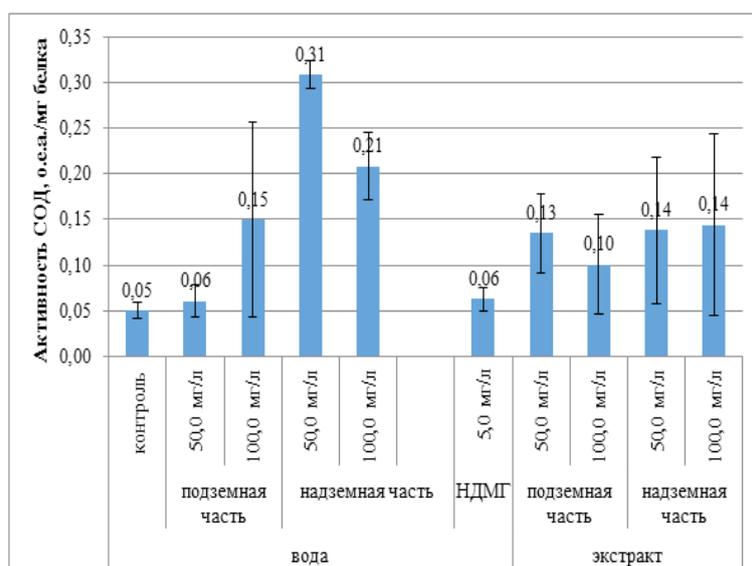


Рисунок 3 – Влияние НДМГ и БАВ кермека на активность СОД в корнях 2-дневных проростков ячменя

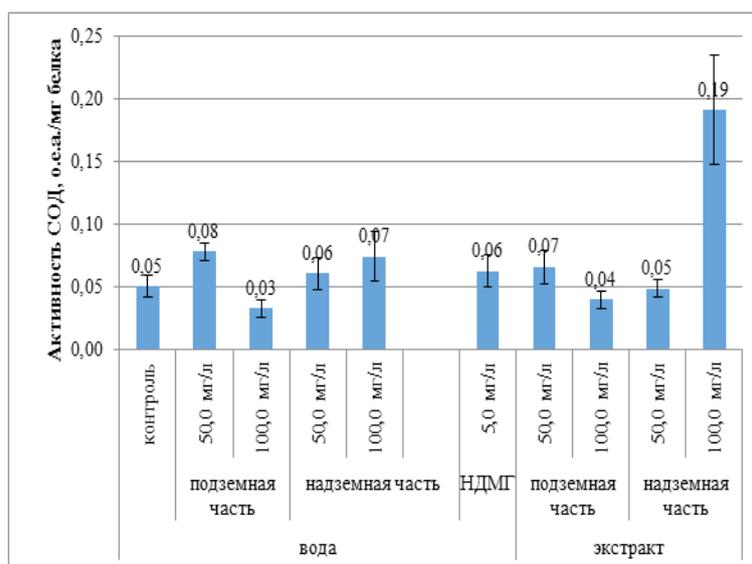


Рисунок 4 – Влияние НДМГ и БАВ девясила на активность СОД в корнях 2-дневных проростков ячменя под действием

При проращивании семян на БАВ из подземной и надземной частей девясила активность СОД была на уровне контрольных значений. При предобработке семян ячменя БАВ из девясила британского с последующим проращиванием на НДМГ не наблюдалось статистически значимого увеличения по сравнению с вариантом без предобработки. Активность СОД была на уровне контроля, за исключением предобработки БАВ из надземной части девясила в концен-

трации 100,0 мг/л, хотя данное увеличение было не статистически значимо (рисунок 4).

В обычных условиях существования организма поддерживается баланс между продукцией радикалов O_2^- и их своевременным удалением. При действии неблагоприятных факторов увеличивается образование активных форм кислорода, в том числе и радикалов супероксида. Активность СОД при этом изменяется разнонаправленно: в одних случаях отмечено ее

увеличение, в других – снижение, что зависит от напряженности действия стрессового фактора (интенсивности и длительности воздействия), а также от восприимчивости организма, стадии развития растений и др. [15]. Так при достижении определенного уровня окислительного стресса происходит снижение активности СОД. Например, в листьях пшеницы в условиях засухи вначале отмечалась активация фермента, затем с увеличением длительности воздействия происходило снижение активности. Такая же тенденция отмечена при увеличении не только длительности воздействия, но и его интенсивности: при водном дефиците, переувлажнении, солевом стрессе, обработке абсцизовой кислотой и тяжелыми металлами, фумигации HF и др. [15, 24, 25].

Снижение активности фермента может происходить и без его предварительной активации в случае довольно интенсивного воздействия, что отмечено при обработке растений тяжелыми металлами, UV-C-облучения, солевом стрессе, охлаждении, тепловом стрессе, затоплении, инокуляции патогенами и др. [15, 25-29]. Постепенное снижение активности СОД отмечено в клетках и тканях растений при их старении. Причины снижения активности СОД могут быть разнообразными, например, истощение пула ферментов усиленным его расходом на гашение радикалов $O_2^{\cdot-}$. Кроме того, поскольку активность СОД является результатом как ее синтеза, так и деградации, уменьшение активности может быть следствием снижения синтеза и/или повышения деградации СОД. В инактивации и деградации СОД могут принимать участие АФК – гидроксильные радикалы и пероксид водорода. В частности, H_2O_2 может восстанавливать Cu_2^+ в активном центре фермента до Cu^+ , который, взаимодействуя с новой молекулой пероксида водорода, образует $Cu_2^+OH\cdot$. Этот связанный *in situ* радикал $OH\cdot$ вызывает окислительную модификацию аминокислотных последовательностей в активном центре фермента, что приводит к его инактивации. Не только связанные, но и свободные радикалы $OH\cdot$ повреждают молекулы СОД, вызывая их фрагментацию [15, 30]. Снижение активности фермента при неблагоприятных воздействиях способствует дальнейшему увеличению продукции АФК и развитию окислительных повреждений клеток и тканей растений [15, 24].

Несимметричный диметилгидразин легко восстанавливает кислород. При одноэлектронном восстановлении O_2 образуется супероксид-

ион, который может превращаться в другие формы кислорода (H_2O_2 , $HO^{\cdot-}$, $O_2^{\cdot-}$). Современные данные однозначно говорят о том, что НДМГ вызывает резкое увеличение уровня активных форм кислорода и накопление продуктов ПОЛ в тканях организма [30-34]. С помощью *lux*-биосенсоров рядом авторов были проведены исследования по изучению механизмов токсического действия НДМГ. Горянин И.И. с соавторами показал, что активация промоторов, специфически детектирующих окислительный стресс, повреждения белков и ДНК, происходила за счет образования в растворе НДМГ перекиси водорода. При этом если происходит более глубокое окисление НДМГ, то образуются продукты окисления, в том числе нитрозодиметиламин, который обладает высокой алкилирующей способностью [34]. В другом исследовании с помощью *lux*-биосенсоров был показан четкий ответ на НДМГ у *E. coli*, несущей промоторы *katG* и *soxS*, реагирующих на окислительное повреждение, а также *гесА*, реагирующего на повреждение ДНК. Авторы также делают вывод, что действие НДМГ на бактериальные клетки может быть связано с образованием перекиси водорода [31].

Таким образом, не выявленный окислительный стресс при воздействии НДМГ, связанный с активностью СОД, может быть обусловлен истощением пула ферментов усиленным его расходом на гашение радикалов $O_2^{\cdot-}$. Увеличение активности СОД при предобработке БАВ с последующим проращиванием НДМГ может быть связано с восстановлением пула ферментов за счет действия флавоноидов, дубильных веществ, витамина С, которые проявляют высокую биологическую активность и содержатся в экстрактах девясила британского и кермека Гмелина.

В следующей серии экспериментов нами исследовано влияние БАВ лекарственных растений и НДМГ на активность каталазы в корнях 2-дневных проростков ячменя. Каталаза является гемсодержащим тетрамерным ферментом, осуществляющим реакцию разложения перекиси водорода с образованием молекулярного кислорода и воды. Причем этот процесс, с одной стороны, не требует других соединений со свойствами восстановителя, а с другой стороны, работает только в условиях высокой концентрации перекиси водорода [4, 40].

При проращивании семян на экстрактах девясила как из подземной, так и надземной частей

активность каталазы была неоднозначной. Экстракты из подземной в концентрации 50,0 мг/л и надземной частей в концентрации 100,0 мг/л кермека достоверно увеличивали активность каталазы в корнях проростков. При проращивании семян на растворе экстрактов БАВ из подземной части в концентрации 50,0 мг/л наблюдалось повышение активности каталазы до $3,41 \pm 0,14$ мкМ H_2O_2 /л•мин•мг белка. При проращивании семян на растворе экстрактов из надземной части кермека активность каталазы увеличилась

только при концентрации 100,0 мг/л и составила $2,76 \pm 0,11$. Сравнительный анализ с контрольными значениями показал увеличение активности каталазы соответственно 2,18 ($p < 0,01$) и 1,77 ($p < 0,01$) раза. НДМГ в концентрации 5,0 мг/л повысил активность фермента до $2,58 \pm 0,30$, что в 1,65 раза ($p < 0,05$) выше контрольного уровня. БАВ из подземной и надземной частей кермека Гмелина снижали каталазную активность при воздействии данного стресс-фактора (рисунок 5).

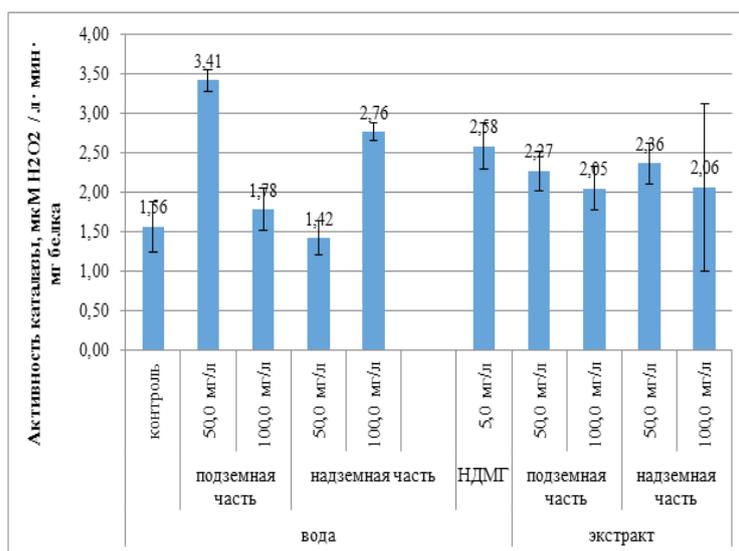


Рисунок 5 – Влияние НДМГ и БАВ кермека на активность каталазы в корнях 2-дневных проростков ячменя (убрать 50 мг/л подземной)

Неоднозначные результаты были получены и при изучении каталазной активности в корнях 2-дневных проростков ячменя, проращиваемых на экстрактах из надземной и подземной частей девясила британского (рисунок 6). Из представленного рисунка видно, что БАВ из надземной части в концентрации 100,0 мг/л повысил активность каталазы в 1,60 раза ($p < 0,05$), что указывает на индукцию окислительного стресса под воздействием экстракта. Во всех остальных вариантах опыта активность каталазы была на уровне контроля. При предобработке семян ячменя БАВ с последующим проращиванием на растворе НДМГ в концентрации 5,0 мг/л отмечено снижение активности каталазы, указывающее на антиоксидантное действие экстрактов девясила. При замачивании семян ячменя в экстрактах БАВ из подземной части в концентрации

50,0 и 100,0 мг/л с последующим проращиванием на НДМГ активность каталазы снизилась по сравнению с вариантом без предобработки БАВ в 3,00 и 1,80 раза, соответственно. При замачивании семян ячменя в экстрактах БАВ из надземной части в концентрации 50,0 и 100,0 мг/л с последующим проращиванием на НДМГ активность каталазы снизилась по сравнению с вариантом без предобработки БАВ в 1,41 и 9,02 раза, соответственно (рисунок 6).

Повышение каталазной активности под воздействием изучаемых БАВ требует дополнительного исследования, поскольку в данной серии экспериментов они проявили окислительную активность, в противоположность ожидаемым результатам и результатам, полученным на микробиологических и растительных тест-системах.

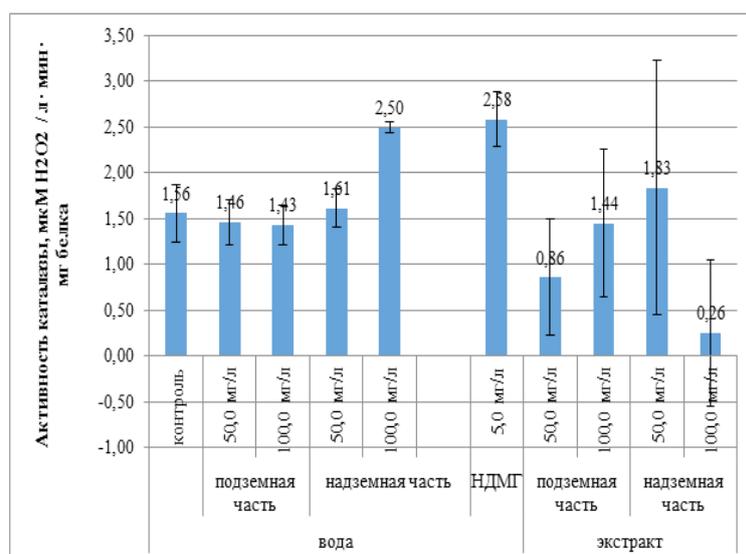


Рисунок 6 – Влияние НДМГ и БАВ девясила на активность каталазы в корнях 2-дневных проростков ячменя под действием

Таким образом, НДМГ в концентрации 5,0 мг/л индуцировал окислительный стресс в 2-дневных проростков ячменя, т.к. в клетках корня увеличилось содержание МДА и активность каталазы по сравнению с контролем. При сочетанном воздействии НДМГ и БАВ из экстрактов надземной и подземной частей кермека и девясила на семена ячменя способствовало снижению интенсивности ПОЛ и активности каталазы. Возможно, для проявления более выраженного протекторного действия БАВ кермека и девясила на фоне НДМГ необходимо использовать другие концентрации. Механизмы столь различного действия БАВ лекарственных расте-

ний на фоне НДМГ должны явиться предметом дальнейшего исследования.

Druzhinin VG (2003) Quantitative characteristics of chromosome aberration frequency in the human population of a large Western Siberian industrial region, Russian Journal of Genetics, 10 (39): 1161-1167.

Goncharova RI, Kuzhir TD (2005) Molecular basis of applying antimutagens as anticarcinogens. Ecological genetics [Molekuliarnye osnovy primeneniia antimutagenov v kachestve antikantserogenov. Ekologicheskaia genetika] 3 (3): 19-32. (In Russian)

Литература

- 1 Seca A.M.L., Grigore A., Pinto D.C.G.A., Silva A.M.S. The genus *Inula* and their metabolites: From ethnopharmacological to medicinal uses // Journal of Ethnopharmacology. – 2014. – Vol. 154, № 2. – P. 286-310. DOI: 10.1016/j.jep.2014.04.010
- 2 Hong T., Zhao J., Dong M., Meng Y., Mu J., Yang Z. Composition and bioactivity of polysaccharides from *Inula britannica* flower // International Journal of Biological Macromolecules. – 2012. – Vol. 51, № 4. – P. 550–554.
- 3 Medini F., Bourgou S., Lalancette K.G., Snoussi M., Mkadmini K., Coté I., Abdelly C., Legault J., Riadh K. Phytochemical analysis, antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer activities of the halophyte *Limonium densiflorum* extracts on human cell lines and murine macrophages // South African Journal of Botany. – 2015. – Vol. 99. – P. 158–164
- 4 Antonelli-Ushirobira T.M., Blainski A., Fernandes H.G., Moura-Costa G.F., Costa M.A., Campos L.B., Salgueiro-Pagadigorria C.L., Kaneshima E.N., Becker T.C.A., Leite-Mello E.V.S., de Mello J.C.P. Acute toxicity and long-term safety evaluation of the crude extract from rhizomes of *Limonium brasiliense* in mice and rats // Journal of Ethnopharmacology – 2015. – Vol. 174. – P. 293-298. doi:10.1016/j.jep.2015.08.022.
- 5 Колумбаева С.Ж., Бегимбетова Д.А. Мутагенные эффекты химических загрязнителей окружающей среды. – Алматы: Казак университети, 2013. – 196 с.
- 6 Панин Л.Е., Перова А.Ю. Медико-социальные и экологические проблемы использования ракет на жидком топливе (гептил) // Бюллетень СО РАМН. – 2006. – Т. 119, № 1. – С. 124-131.
- 7 Ушакова В.Г., Шпигун О.Н., Старьгин О.И. Особенности химических превращений НДМГ и его поведение в объектах окружающей среды // Ползуновский Вестник. – 2004. – № 4. – С. 177-184.

- 8 Батырбекова С.Е., Могильный В.В., Зебрева А.И., Наурызбаев М.К. Источники загрязнения объектов окружающей природной среды в результате деятельности космодрома «Байконур» // Вестник КазНУ. Серия химическая. – 2007. – Т. 49, № 5. – С.8-12.
- 9 Кузнецов В.В. Физиологические механизмы адаптации и создание стресс-толерантных растений. Проблемы экспериментальной биологии. – Минск: Тэхналогія, 2009. – 116 с.
- 10 Полесская О.Г. Растительная клетка и активные формы кислорода. – М.: КДУ, 2007. – 140с.
- 11 Poljsak B. Strategies for reducing or preventing the generation of oxidative stress // Oxidative medicine and cellular longevity // Hindawi Pub. Corp. – 2011. – Vol. 2011. – P. 1-15.
- 12 Poljsak B., Milisav I. The Neglected Significance of “Antioxidative Stress” // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2012. – Vol. 2012. – P. 1-12. – DOI:10.1155/2012/480895.
- 13 Miura K., Tada Ya. Regulation of water, salinity and cold stress responses by salicylic acid // Frontiers in plant science. – 2014. – Vol. 5. – P. 1-12.
- 14 Gill S.S., Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants // Plant Physiol. And Biochem. – 2010. – Vol. 48. – P. 909-930.
- 15 Foyer Ch.H., Noctor G. Ascorbate and glutathione: The heart of the redox hub1 // Plant Physiology. – 2011. – Vol. 155. – P. 2-18.
- 16 Hong S.Y., Roze L.V., Linz J.E. Oxidative stress-related transcription factors in the regulation of secondary metabolism // Toxins. – 2013. – Vol. 5. – P. 683-702.
- 17 Бараненко В.В. Супероксиддисмутазы в клетках растений // Цитология. – 2006. – Т. 48. – С. 465-473.
- 18 Foyer C.H., Noctor G. Defining robust redox signalling within the context of the plant cell // Plant, Cell and Environment. – 2015. – Vol. 38. – P. 239-239.
- 19 Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction // Annu. Rev. Plant Biol. – 2004. – Vol. 55. – P. 373-399.
- 20 Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // The Journal of Biological Chemistry. – 1951. – Vol 193, No 1. – P. 265-275.
- 21 Heath R.L., Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation // Archives of Biochem. and Biophys. – 1968. – Vol. 125. – P. 189-198.
- 22 Beauchamp Ch., Fridovich I. Superoxide Dismutase Improved Assays and an Assay Applicable to Acrylamide Gels // Anal. Biochem. – 1971. – Vol. 44. – P. 276-287.
- 23 Практикум по биохимии /Под ред. С.Е. Северина, Г.А. Соловьевой. – 2 изд. – М.: Изд. МГУ, 1989. – 509 с.
- 24 Sandalio L., Dalurzo H., Gomez M., Romero-Puertas M., Del Rio L. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants // J. Exp. Bot. – 2001. – Vol. 52. – P. 2115-2126.
- 25 Barka E.A. Protective enzymes against reactive oxygen species during ripening of tomato (*Lycopersicon esculentum*) fruits in response to low amounts of UV-C // Austr. J. Plant Physiol. – 2001. – Vol. 28. – P. 785-791.
- 26 Hernandez J., Rubio M., Olmos E., Ros-Barcelo A., Martinez-Gomez P. Oxidative stress induced by long-term plum pox virus infection in peach (*Prunus persica*) // Physiol. Plant. – 2004. – Vol. 122. – P. 486-495.
- 27 Ягужинский Л.С. О токсичности гептила. – М.: Редакционно-издательский отдел ИПХФ РАН, 2014. – 128 с.
- 28 Горянин И.И., Котова В.Ю., Краснопева Е.Д., Чубуков П.А., Балабанов В.П., Чалкин С.Ф., Шатров Т.Я., Завильгельский Г.Б., Манухов И.В. Определение генотоксического действия 1,1-диметилгидразина алкилирующими соединениями, возникающими при его окислении, и перекисью водорода // Труды МФТИ. – 2013. – Т. 5, № 1. – С. 103-111.
- 29 Havsteen V.H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. // Pharmacol. Ther. – 2002. – Vol. 96. – P. 67-202.
- 30 Farghalaly A.A., Abo-Zeid M.A.M. Evaluation of the antimutagenic effect of vitamin C against DNA damage and cytotoxicity induced by trimethyltin in mice // Nature and science. – 2009. – Vol. 7, No 12. – P. 1-7.
- 31 Sram R.J., Binkova B., Rossner P.Jr. Vitamin C for DNA damage prevention // Mutation Research. Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. – 2012. – Vol. 733. – P.39– 49.

References

- 1 Seca AML, Grigore A, Pinto DCGA, Silva AMS (2014) The genus *Inula* and their metabolites: From ethnopharmacological to medicinal uses, Journal of Ethnopharmacology, 154(2): 286-310. DOI: 10.1016/j.jep.2014.04.010
- 2 Hong T, Zhao J, Dong M, Meng Y, Mu J, Yang Z (2012) Composition and bioactivity of polysaccharides from *Inula britannica* flower, International Journal of Biological Macromolecules, 51(4): 550–554.
- 3 Medini F, Bourgou S, Lalancette KG, Snoussi M, Mkadimi K, Coté I, Abdely C, Legault J, Riadh K (2015) Phytochemical analysis, antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer activities of the halophyte *Limonium densiflorum* extracts on human cell lines and murine macrophages, South African Journal of Botany, 99: 158–164.
- 4 Antonelli-Ushirobira TM, Blainski A, Fernandes HG, Moura-Costa GF, Costa MA, Campos LB, Salgueiro-Pagadigorria CL, Kaneshima EN, Becker TCA, Leite-Mello EVS, de Mello JCP (2015) Acute toxicity and long-term safety evaluation of the crude extract from rhizomes of *Limonium brasiliense* in mice and rats, Journal of Ethnopharmacology, 174: 293-298. doi:10.1016/j.jep.2015.08.022.
- 5 Колумбаева SZh, Begimbetova DA (2013) Mutagenic effects of environmental chemical pollutants [Mutagennyye efekty khimicheskikh zagriaznitelei okruzhaiushchei sredy. Almaty: Kazak universiteti], 196 p.

- 6 Panin LE, Perova AI (2006) Medico-social and environmental problems of liquid-fuel rockets (heptyl) using [Mediko-sotsial'nye i ekologicheskie problemy ispol'zovaniia raket na zhidkom toplive (geptil). Biulleten' SO RAMN] 119(1):124-131.
- 7 Ushakova VG, Shpigun ON, Starygin OI (2004) Features chemical transformations of ADMH and its behavior in environments [Osobennosti khimicheskikh prevrashchenii NDMG i ego povedenie v ob'ektakh okruzhaiushchei sredy. Polzunovskii Vestnik] 4: 177-184.
- 8 Batyrbekova SE, Mogilnyi VV, Zebreva AI, Nauryzbaev MK (2007) Sources of pollution of environmental objects as a result of the activities of the cosmodrome "Baikonur" [Vestnik Kaznu. Chemical series [Istochniki zagriazneniia objektov okruzhaiushchei prirodnoi sredy v rezultate deiatelnosti kosmodroma «Baikonur». Vestnik KazNU. Serii khimicheskaiia] 49(5): 8-12.
- 9 Kuznetsov VV (2009) physiological mechanisms to adapt and create stress-tolerant plants. Problems of experimental biology [Fiziologicheskie mekhanizmy adaptatsii i sozdanie stress-tolerantnykh rastenii. Problemy eksperimental'noi biologii. Minsk: Tekhnologia], 116 p.
- 10 Poleskaya OG (2007) Plant cell and reactive oxygen species [Rastitel'naya kletka i aktivnyye formy kisloroda] KDU, Moscow, Russia, pp. 140. (In Russian)
- 11 Poljsak B (2011) Strategies for reducing or preventing the generation of oxidative stress, Oxidative medicine and cellular longevity, Hindawi Pub. Corp., 2011:1-15.
- 12 Poljsak B, Milisav I (2012) The Neglected Significance of "Antioxidative Stress", Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2012:1-12. DOI:10.1155/2012/480895.
- 13 Miura K, Tada Ya (2014) Regulation of water, salinity and cold stress responses by salicylic acid, Frontiers in plant science, 5:1-12.
- 14 Gill SS, Tuteja N (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants, Plant Physiol. and Biochem., 48:909-930.
- 15 Foyer CH., Noctor G (2011) Ascorbate and glutathione: The heart of the redox hub1, Plant Physiology, 155:2-18.
- 16 Hong SY, Roze LV., Linz JE (2013) Oxidative stress-related transcription factors in the regulation of secondary metabolism, Toxins, 5:683-702.
- 17 Baranenko VV (2006) Superoxide dismutase in plant cells [Superoksiddismutaza v kletkakh rasteniy], Cytology, 48:465-473. (In Russian)
- 18 Foyer CH, Noctor G (2015) Defining robust redox signalling within the context of the plant cell, Plant, Cell and Environment, 38:239-239.
- 19 Apel K, Hirt H (2004) Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction, Annu. Rev. Plant Biol., 55:373-399.
- 20 Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent, The Journal of Biological Chemistry, 193(1):265-275.
- 21 Heath RL, Packer L (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation, Archives of Biochem. and Biophys., 125:189-198.
- 22 Beauchamp Ch, Fridovich I (1971) Superoxide Dismutase Improved Assays and an Assay Applicable to Acrylamide Gels, Anal. Biochem., 44:276-287.
- 23 Severin SE, Solovieva GA (1989) Practicum in biochemistry [Praktikum po biokhimii]. MSU, Moscow, USSR, pp. 509. (In Russian)
- 24 Sandalio L, Dalurzo H, Gomez M, Romero-Puertas M, Del Rio L (2001) Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants, J. Exp. Bot., 52:2115-2126.
- 25 Barka EA (2001) Protective enzymes against reactive oxygen species during ripening of tomato (*Lycopersicon esculentum*) fruits in response to low amounts of UV-C, Austr. J. Plant Physiol., 28:785-791.
- 26 Hernandez J, Rubio M, Olmos E, Ros-Barcelo A, Martinez-Gomez P (2004) Oxidative stress induced by long-term plum pox virus infection in peach (*Prunus persica*), Physiol. Plant., 122:486-495.
- 27 Yaguzhinskiy LS (2014) About heptyl toxicity [O toksichnosti geptila]. Editorial-publishing department IPHF RAS, Moscow, Russia, pp. 128. (In Russian)
- 28 Goryanin II, Kotova VYu, Krasnopyeva YeD, Chubukov PA, Balabanov VP, Chalkin SF, Shatrov TYa., Zavitelskiy GB, Manukhov IV (2013) Determination of genotoxic activity 1,1-dimethylhydrazine alkylation compounds occur when its oxidation and hydrogen peroxide [Opredeleniye genotoksicheskogo deystviya 1,1-dimetilgidrazina alkiliryuyushchimi soyedineniyami, vozni-kayushchimi pri yego okislenii, i perekis'yu vodoroda], proc. of MIPT, 5(1):103-111
- 29 Havsteen BH (2002) The biochemistry and medical significance of the flavonoids, Pharmacol. Ther., 96:67-202.
- 30 Farghalaly AA, Abo-Zeid MAM (2009) Evaluation of the antimutagenic effect of vitamin C against DNA damage and cytotoxicity induced by trimethyltin in mice, Nature and science, 7(12):1-7.
- 31 Sram RJ, Binkova B, Rossner PJr (2012) Vitamin C for DNA damage prevention, Mutation Research. Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 733:39-49.