

УДК 577.391

Э. Н. Шамилов, А. С. Абдуллаев, И. А. Рзаева, И. В. Азизов

*Институт радиационных проблем НАНА, Баку  
Институт ботаники НАНА, Баку*

### **ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСОВ ЖЕЛЕЗА НА ФОРМИРОВАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА И ВЫХОД ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ У ГАММА-ОБЛУЧЕННЫХ СЕМЯН ПШЕНИЦЫ**

Исследовано действие различных доз  $\gamma$ -облучения на биосинтез хлорофиллов и каротиноидов, а также на ход митотического деления меристематических клеток корневых волосков у прорастающих семян пшеницы в присутствии пирокатехина, пирокатехината железа, тиокарбамида, тиокарбамида железа, рутина, рутината железа, юглона и юглоната железа. Пирокатехинат, рутинат, юглонат железа и юглон обладают заметными радиозащитными свойствами, стимулируют адаптивный биосинтез хлорофиллов и каротиноидов, а также значительно уменьшают число хромосомных aberrаций при облучении.

Е. Н. Шамілов, А. С. Абдуллаєв, І. А. Рзаєва, І. В. Азізов

*Институт радіаційних проблем НАНА, Баку  
Институт ботаніки НАНА, Баку*

### **ВПЛИВ КОМПЛЕКСІВ ЗАЛІЗА НА ФОРМУВАННЯ ФОТОСИНТЕТИЧНОГО АПАРАТУ ТА ВИХІД ГЕНЕТИЧНИХ ЗМІН У ГАММА-ОПРОМІНЕНОГО НАСІННЯ ПШЕНИЦІ**

Досліджено вплив різних доз  $\gamma$ -опромінення на біосинтез хлорофілів і каротиноїдів, а також на хід митотичного поділу меристематичних клітин корневих волосків у проростках насіння пшениці у присутності пірокатехіну, пірокатехінату заліза, тіокарбаміду, тіокарбаміду заліза, рутину, рутинату заліза, юглону та юглонату заліза. Виявлено, що пірокатехінат, рутинат, юглонат заліза та юглон мають помітні радіозахисні властивості, які стимулюють адаптивний біосинтез хлорофілів і каротиноїдів, а також значно зменшують кількість хромосомних aberrаций при опроміненні.

E. N. Shamilov, A. S. Abdullayev, I. A. Rzayeva, I. V. Azizov

*Institute of Radiation Problems of Azerbaijan National Academy of Sciences, Azerbaijan  
Institute of Botany of Azerbaijan National Academy of Sciences, Azerbaijan*

### **INFLUENCE OF IRON COMPLEXES ON FORMATION OF PHOTOSYNTHETIC APPARATUS AND OUTCOME OF GENETIC CHANGES AT THE GAMMA IRRADIATED SEEDS OF WHEAT**

Influence of various doses of  $\gamma$ -irradiation on biosynthesis of chlorophyll and carotenoids, and also on a progress of mitotic divisions of meristematic cells of root hairs at sprouting wheat seeds at the presence of pyrocatechol, iron pyrocatechol, thiocarbamide, iron thiocarbamide, rutin, iron rutinate, juglon and iron juglonate was studied. There was revealed that iron pyrocatecholate, iron rutinate, juglon and iron juglonate possess appreciable radioprotective properties which stimulate adaptive biosynthesis of chlorophyll and carotenoids, and also considerably reduce a number of chromosomal aberrations under irradiation.

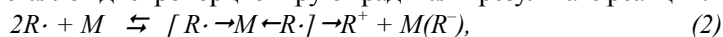
## Введение

В организме жизненно важные металлы находятся преимущественно в виде комплексов. Избыток или недостаток металлов, вмешательство токсичных веществ в конкуренцию за металлы, входящие в макромолекулы приводит к нарушению функций металлоферментов. Поэтому экзогенные комплексы, содержащие металлы, являются своего рода незаменимыми источниками обеспечения организмов микроэлементами – металлами. Исследования, проводимые в области биокоординационной химии основываются на использовании модельных биологически активных молекул, содержащих функциональные группы, характерные для биологических систем. Этот принцип позволяет выявить зависимость координационных возможностей лигандов от природы металла, определить влияние природы лиганда на характер образующихся координационных узлов, сформулировать химические и биологические критерии отбора соединений, наиболее перспективных для практического применения.

Существует значительное количество работ, свидетельствующих о взаимодействии комплексов металлов со свободными радикалами [1; 2]. На модельных системах показано, что комплексы  $ML_n$  служат ловушками свободных радикалов, превращая их в нерадикальные продукты:



а комплексы переходных металлов диспропорционируют радикал в результате реакции:



где  $R\cdot$  – радикал,  $R^+$  – катион,  $R^-$  – анион,  $n$  – валентность металла.

Например, в работе [11] показано, что комплексы меди с салициловой и изопропилсалициловой кислотой обладают радиопротекторной активностью. Изученные реакции моделируют один из возможных этапов действия рассматриваемых комплексов *in vivo*, связанный с тушением свободных радикалов, накапливающихся в организме.

Исходя из вышеизложенного, получение новых биологически активных препаратов на основе координационных соединений металлов, содержащих различные органические лиганды, в том числе природные, является чрезвычайно актуальным.

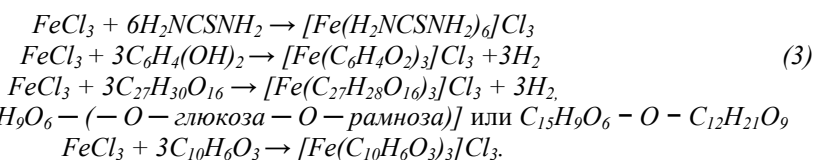
В работах [9; 10], посвященных изучению защитных механизмов в растениях, широко применяются синтетические и природные вещества, повышающие жизнедеятельность организма, восстанавливающие обмен веществ, устраняющие генетические повреждения, вызванные облучением. При исследовании действия солей некоторых металлов на живые организмы выявлено их профилактическое и терапевтическое действие. Обнаружено, что металлы в составе органических комплексных соединений менее токсичны, чем в виде неорганических солей. Присутствие органического лиганда придает металлокомплексам липофильность, нейтрализует электростатический заряд металлов, в результате чего их транспорт через клеточные мембраны сильно облегчается. В этой связи целесообразным представляется изучение радиопротекторных свойств катионов трехвалентных металлов и их комплексов. Использование железа в качестве радиопротектора обусловлено его способностью к устойчивому комплексообразованию биогенного характера.

Исследованию формирования фотосинтетического аппарата в хлоропластах после облучения с применением радиопротекторов посвящено небольшое количество работ. Поэтому основной задачей наших исследований являлось изучение действия  $\gamma$ -облучения на биосинтез хлорофиллов и каротиноидов и на выход хромосомных aberrаций у анафазных клеток корневых волосков проростков пшеницы при использовании комплексов железа с целью выявления их радиопротекторных свойств.

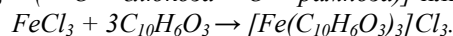
## Материал и методы исследований

В качестве объекта исследований взяты семена засухоустойчивый твердой пшеницы *Triticum durum* L. Семена подвергали общему равномерному  $\gamma$ -облучению от источника  $^{60}\text{Co}$  на  $\gamma$ -установке «Рхунд» при средней мощности дозы излучения  $\text{MD} = 0,024$  Грей/с. Перед облучением семена были обработаны пирокатехином, пирокатехином железа, тиокарбамидом, тиокарбамидом железа, рутином, рутином железа, юглоном и юглоном железа при концентрации  $10^{-2}$  М. Для синтеза комплексов использовали хлорид железа (III), тиомочевина, пирокатехин марки «ч. д. а.». Рутин (3-рамногликозид-3,5,7,3',4'-пентаоксифлавонон, зеленовато-желтый мелкокристаллический порошок) получили из софоры (*Sophora japonica* L.): измельченные листья обрабатывали в аппарате Сокслета 70 % раствором этанола, растворитель отгоняли на водяной бане под вакуумом досуха. Сухой остаток обрабатывали эфиром. После испарения эфира рутин извлекали в три приема кипящей водой по 15–20 мл. Объединенные экстракты охлаждали, выпавшие ярко-желтые кристаллы рутина отделяли и сушили. Юглон (5-гидрокси-1,4-нафтихинон) –  $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{O}_3$  получен из незрелых плодов грецкого ореха путем экстракции.

Синтез комплексов железа проводили по следующей методике: стехиометрическое количество тиомочевины, пирокатехина, рутина и юглона растворяли отдельно в 50 мл изопропилового спирта. К полученным растворам по порциям при перемешивании прибавляли раствор хлорида железа (III). Выпавшие осадки отделяли, сушили до постоянной массы:



где  $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16} = [\text{C}_{15}\text{H}_9\text{O}_6 - (-\text{O} - \text{глюкоза} - \text{O} - \text{рамноза})]$  или  $\text{C}_{15}\text{H}_9\text{O}_6 - \text{O} - \text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{O}_9$



Структурные изменения хромосом определяли в начальной и конечной стадиях анафазы с использованием светового микроскопа Ortoplan. Определение хлорофиллов и каротиноидов проводили по Шлыку [8].

## Результаты и их обсуждение

Содержание хлорофиллов и каротиноидов в проростках пшеницы, предварительно обработанных органическими лигандами и комплексами, приведено в таблице 1.  $\gamma$ -Облучение в дозах 6 и 30 Грей оказывает существенное влияние на содержание зеленых пигментов и каротиноидов в проростках пшеницы. Отмечается небольшое стимулирующее действие  $\gamma$ -лучей при 30 Гр. У проростков, облученных дозой 60 Гр, отмечается снижение содержания каротиноидов и хлорофиллов. Интересно отметить, что под действием  $\gamma$ -облучения в этой дозе содержание хлорофилла снижается больше, чем содержание каротиноидов. С повышением дозы облучения отмечается некоторое увеличение содержания каротиноидов. Известно, что с повышением дозы облучения вступают в действие различные компенсаторные системы, метаболические восстановительные процессы и репарации радиационных повреждений клеток, то есть реализуются различные адаптивные процессы у растений [3–5].

Одним из важных механизмов адаптации растений к облучению является активация антиоксидантных систем, результатом которой может являться накопление каротиноидов и флавоноидных соединений [6; 7]. Применяемые в наших опытах органические лиганды и комплексы действовали по-разному: пирокатехин, тиокарбамид и тиокарбамид железа почти не влияли на биосинтез фотосинтетических пигментов, в то

время как пирокатехинат железа, рутин, рутина́т железа, юглон и юглонат железа оказывали заметное радиопротекторное действие, так как содержание хлорофиллов в этом варианте было почти на уровне контроля, а содержание каротиноидов при дозе 60 Гр – выше контроля. Полученные данные свидетельствуют о том, что пирокатехинат железа, рутин, рутина́т железа, юглон и юглонат железа способствуют активации защитных систем хлоропластов.

Таблица 1

**Влияние органических лигандов и железосодержащих комплексов на содержание пигментов (мг/г) в проростках  $\gamma$ -облученных семян пшеницы**

| Варианты  |       | Хлорофилл <i>a</i> |               | Хлорофилл <i>b</i> |               | Каротиноиды |               |
|---|-------|--------------------|---------------|--------------------|---------------|-------------|---------------|
|   |       | мг/г               | % от контроля | мг/г               | % от контроля | мг/г        | % от контроля |
| Контроль  | 0     | 2,6 ± 0,05         | 100,0         | 0,6 ± 0,01         | 100,0         | 1,5 ± 0,06  | 100,0         |
|   | 6 Гр  | 1,7 ± 0,06         | 65,4          | 0,5 ± 0,02         | 83,3          | 0,4 ± 0,07  | 26,6          |
|   | 30 Гр | 2,2 ± 0,08         | 84,6          | 0,5 ± 0,03         | 83,3          | 0,7 ± 0,08  | 46,7          |
|   | 60 Гр | 1,4 ± 0,04         | 53,8          | 0,4 ± 0,02         | 66,6          | 1,1 ± 0,07  | 73,3          |
| $\gamma$ -облученные и обработанные соединениями: пирокатехин | 0     | 2,6 ± 0,05         | 100,0         | 0,6 ± 0,01         | 100,0         | 1,5 ± 0,06  | 100,0         |
|   | 6 Гр  | 1,6 ± 0,02         | 61,5          | 0,5 ± 0,03         | 83,3          | 0,4 ± 0,08  | 26,6          |
|   | 30 Гр | 1,1 ± 0,03         | 42,3          | 0,3 ± 0,04         | 50,0          | 0,6 ± 0,09  | 40,0          |
|   | 60 Гр | 1,6 ± 0,04         | 61,5          | 0,5 ± 0,03         | 83,3          | 1,2 ± 0,05  | 80,0          |
| Пирокатехинат железа  | 0     | 2,6 ± 0,05         | 100,0         | 0,6 ± 0,01         | 100,0         | 1,5 ± 0,06  | 100,0         |
|   | 6 Гр  | 1,5 ± 0,02         | 57,6          | 0,6 ± 0,04         | 100,0         | 0,4 ± 0,06  | 26,6          |
|   | 30 Гр | 2,3 ± 0,05         | 88,4          | 0,6 ± 0,06         | 100,0         | 1,1 ± 0,07  | 93,3          |
|   | 60 Гр | 1,9 ± 0,06         | 73,0          | 0,5 ± 0,02         | 83,3          | 0,7 ± 0,08  | 46,7          |
| Тиокарбамид   | 0     | 2,6 ± 0,05         | 100,0         | 0,6 ± 0,01         | 100,0         | 1,5 ± 0,06  | 100,0         |
|   | 6 Гр  | 1,5 ± 0,07         | 57,6          | 0,5 ± 0,01         | 83,3          | 0,4 ± 0,05  | 66,6          |
|   | 30 Гр | 1,5 ± 0,08         | 57,6          | 0,4 ± 0,02         | 66,6          | 1,2 ± 0,04  | 80,0          |
|   | 60 Гр | 1,5 ± 0,09         | 57,6          | 0,5 ± 0,03         | 83,3          | 1,2 ± 0,05  | 70,0          |
| Тиокарбамид железа  | 0     | 2,6 ± 0,05         | 100,0         | 0,6 ± 0,01         | 100,0         | 1,5 ± 0,06  | 100,0         |
|   | 6 Гр  | 1,8 ± 0,04         | 69,2          | 0,6 ± 0,04         | 100,0         | 0,5 ± 0,05  | 40,3          |
|   | 30 Гр | 0,7 ± 0,03         | 26,9          | 0,3 ± 0,02         | 50,0          | 0,7 ± 0,06  | 46,7          |
|   | 60 Гр | 1,1 ± 0,04         | 42,3          | 0,4 ± 0,01         | 66,6          | 1,1 ± 0,07  | 73,3          |
| Рутин   | 0     | 2,6 ± 0,05         | 100,0         | 0,6 ± 0,01         | 100,0         | 1,5 ± 0,06  | 100,0         |
|   | 6 Гр  | 1,4 ± 0,08         | 53,8          | 0,4 ± 0,01         | 66,7          | 0,4 ± 0,04  | 26,6          |
|   | 30 Гр | 2,0 ± 0,07         | 76,9          | 0,4 ± 0,02         | 66,7          | 0,8 ± 0,05  | 53,3          |
|   | 60 Гр | 1,6 ± 0,09         | 61,5          | 0,5 ± 0,03         | 83,3          | 1,1 ± 0,04  | 73,3          |
| Рутина́т железа   | 0     | 2,6 ± 0,05         | 100,0         | 0,6 ± 0,01         | 100,0         | 1,5 ± 0,06  | 100,0         |
|   | 6 Гр  | 1,5 ± 0,05         | 57,6          | 0,5 ± 0,04         | 83,3          | 0,4 ± 0,06  | 26,6          |
|   | 30 Гр | 2,2 ± 0,03         | 88,4          | 0,5 ± 0,01         | 83,3          | 1,2 ± 0,05  | 93,3          |
|   | 60 Гр | 1,8 ± 0,02         | 73,0          | 0,4 ± 0,02         | 66,7          | 0,6 ± 0,04  | 40,0          |
| Юглон   | 0     | 2,5 ± 0,03         | 100,0         | 0,6 ± 0,04         | 100,0         | 1,6 ± 0,05  | 100,0         |
|   | 6 Гр  | 2,3 ± 0,06         | 90,4          | 0,5 ± 0,05         | 85,5          | 1,3 ± 0,06  | 81,9          |
|   | 30 Гр | 2,3 ± 0,05         | 92,8          | 0,4 ± 0,02         | 71,0          | 1,4 ± 0,02  | 91,6          |
|   | 60 Гр | 2,2 ± 0,04         | 88,4          | 0,5 ± 0,03         | 79,0          | 1,0 ± 0,02  | 66,5          |
| Юглонат железа  | 0     | 2,5 ± 0,03         | 100,0         | 0,6 ± 0,04         | 100,0         | 1,6 ± 0,05  | 100,0         |
|   | 6 Гр  | 2,3 ± 0,04         | 92,0          | 0,6 ± 0,05         | 93,5          | 1,5 ± 0,06  | 97,4          |
|   | 30 Гр | 2,4 ± 0,05         | 94,4          | 0,6 ± 0,02         | 95,2          | 1,4 ± 0,02  | 91,0          |
|   | 60 Гр | 2,3 ± 0,02         | 91,6          | 0,6 ± 0,03         | 88,7          | 1,3 ± 0,02  | 85,8          |

Действие различных доз  $\gamma$ -облучения на выход хромосомных aberrаций у проростков пшеницы в присутствии и отсутствии комплексов железа показано в таблице 2.

**Действие различных доз  $\gamma$ -облучения на выход хромосомных aberrаций  
у проростков пшеницы в присутствии органических лигандов и комплексов железа**

| Варианты                          |       | Количество наблюдаемых анафазных клеток | Количество клеток с aberrациями | Количество aberrаций | Запоздание хромосом | Фрагменты | Мостики | Неравные деления | Другие сложные аномалии |
|-----------------------------------|-------|---|---------------------------------|----------------------|---------------------|-----------|---------|------------------|-------------------------|
| Необлученный (контроль)           | 0 Гр  | 1559                                    | 17                              | 17                   | 6                   | 10        | 1       | –                | –                       |
| Облученный (контроль)             | 30 Гр | 1665                                    | 136                             | 149                  | 55                  | 59        | 20      | 8                | 7                       |
|                                   | 60 Гр | 1663                                    | 191                             | 230                  | 98                  | 82        | 32      | 12               | –                       |
| Обработаны пирокатехинатом железа | 30 Гр | 1611                                    | 81                              | 87                   | 31                  | 36        | 14      | 2                | –                       |
|                                   | 60 Гр | 1583                                    | 111                             | 135                  | 62                  | 61        | 12      | 6                | –                       |
| Обработаны тиокарбамидом железа   | 30 Гр | 1665                                    | 70                              | 77                   | 25                  | 32        | 10      | 2                | –                       |
|                                   | 60 Гр | 1639                                    | 115                             | 124                  | 54                  | 51        | 16      | 5                | –                       |
| Обработаны рутином                | 30 Гр | 1617                                    | 68                              | 75                   | 23                  | 31        | 10      | 1                | –                       |
|                                   | 60 Гр | 1596                                    | 113                             | 122                  | 49                  | 44        | 15      | 6                | –                       |
| Обработаны рутином железа         | 30 Гр | 1635                                    | 62                              | 72                   | 32                  | 30        | 15      | 2                | –                       |
|                                   | 60 Гр | 1612                                    | 104                             | 119                  | 45                  | 33        | 18      | 7                | –                       |
| Обработаны юглоном                | 30 Гр | 1611                                    | 76                              | 81                   | 38                  | 27        | 11      | 3                | 2                       |
|                                   | 60 Гр | 1595                                    | 108                             | 121                  | 59                  | 31        | 12      | 5                | 1                       |
| Обработаны юглонатами железа      | 30 Гр | 1643                                    | 71                              | 62                   | 24                  | 16        | 11      | 8                | 3                       |
|                                   | 60 Гр | 1627                                    | 112                             | 108                  | 47                  | 36        | 19      | 6                | –                       |

В опытах проанализирована 24 321 анафазная клетка 408 корневых волосков. В облученных вариантах 30 и 60 Гр обнаружены следующие аномалии хромосом: образование фрагментов в метафазе и анафазе, мостики в анафазе, запоздания хромосом, неравномерное, симметрические и асимметрические деления хромосом. При изучении выхода хромосомных aberrаций после  $\gamma$ -облучения выяснилось, что при дозе 60 Гр достоверно увеличивается выход хромосомных aberrаций.

При облучении в дозе 30 Гр (см. табл. 2) в 1665 образцах анафазных клеток обнаружено 149 хромосомных aberrаций, в то время как у необлученного контрольного образца aberrаций почти не обнаружено. При облучении в дозе 60 Гр зарегистрировано 230 aberrаций, а применение комплексов железа привело к значительному снижению частоты хромосомных aberrаций.

Среди применяемых комплексов наибольшее антимуtagenное действие на геном пшеницы оказывали пирокатехинат железа, рутинат железа, рутин, юглон и юглонат железа, которые способствовали значительному снижению частоты хромосомных aberrаций. Следует отметить, что противолучевые свойства пирокатехината железа, рутината железа и юглоната железа обнаружены также при обработке семян и после облучения.

### Выводы

Впервые выявлено, что пирокатехинат железа, рутинат железа, юглон и юглонат железа заметно уменьшают повреждающее действие  $\gamma$ -облучения. Эти комплексы обуславливают формирование оптимального фотосинтетического аппарата пшеницы в пост-радиационный период, способствуют устранению аномалий митотического деления в клетках корневых волосков, стимулируя репаративные механизмы целого организма.

## Библиографические ссылки

1. **Взаимодействие** между трифенилвердазильным радикалом и комплексами меди, железа, алюминия и цинка с N-3-трифторметилфенилантралиновой кислотой / А. С. Григорьева, Н. Ф. Конохович, Е. Е. Крисс, Ю. А. Малетин // Координационная химия. – 1981. – Т. 11, № 12. – С. 1620–1625.
2. **Взаимодействие** некоторых хелатов меди (II) с иминоксильным и вердазильным радикалами / Ю. А. Малетин, А. С. Григорьева, Е. Е. Крисс, Н. Ф. Конохович // Координационная химия. – 1981. – Т. 7, № 10. – С. 1464–1470.
3. **Влияние** хронического облучения на адаптивный потенциал растений / Н. И. Гуца, Г. Ю. Перковская, А. П. Дмитриев, Д. М. Гродзинский // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2002. – Т. 42, № 2. – С. 155–158.
4. **Гераськин С. А.** // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1995. – Т. 35, вып. 5. – С. 563–571.
5. **Гераськин С. А.** Закономерности формирования цитогенетических эффектов малых доз ионизирующего излучения. Автореф. дисс. ... д-ра биол. наук. – 1998. – 50 с.
6. **Корогодина В. Л.**, Бамблевский В. П., Гришина И. В. // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2000. – Т. 40, № 3. – С. 334–348.
7. **Феденко В. С.**, Хлызина Н. В., Хуторная Н. А. // Радиобиологический съезд. Тез. докл. – Т. 4, ч. 3. – К., 1993. – С. 1028.
8. **Шлык А. А.** Определение хлорофилла и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биохимические методы в физиологии растений / Под ред. О. М. Поляновой. – М. : Наука, 1971. – С. 154–171.
9. **Abdullayev A. S.** Biological active iron complexes possessing radioprotector property / A. S. Abdullayev, M. F. Farajov, E. N. Shamilov // Development Perspectives of Experimental Biology. – Baku : Baku State University, 2002. – P. 144–145.
10. **Mc Cord** Inflammatory Diseases and Cooper / Ed. J. R. Sorenson. – J. Clifton (New Jersey) : Human press, 1982. – p. 255.
11. **Reactivity** on antiinflammatory and superoxide dismutase active Cu(II)-salicylates / U. Weser, C. Richter, A. Wendel, M. Vannes // Bioinorg. Chem. – 1978. – Vol. 8, N 3. – P. 201.

Надійшла до редколегії 18.07.2010