

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКЗОГЕННЫХ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ГЕНОМНУЮ ДНК ТОМАТОВ (SOLANUM LYCOPERSICUM)

В статье представлены результаты исследования влияния экзогенных химических факторов на структуру геномной ДНК растительного происхождения.

Ключевые слова: ДНК, мутаген, геномная ДНК, электрофорез, газовая хроматография.

Существует огромное количество антропогенных химических факторов негативно действующих на структуру ДНК растений сельскохозяйственных культур, употребляемых человеком в качестве продуктов питания. Попадая в организм человека с пищей данные вещества способны аккумулироваться и вызывать повреждения структуры ДНК человека.

Целью данного исследования явилось изучение влияния экзогенных химических факторов, таких как удобрения и талые воды на геномную ДНК растений на примере томатов *Solanum lycopersicum*.

Материалы и методы

Объектом исследования служили семена и вегетативные побеги томатов сорта «Аврора». Выбор сорта обусловлен высокой популярностью растений в качестве посадочного материала среди населения.

Среди химических факторов были выбраны удобрения и стимуляторы роста «Корневин», «Проросток» и «Эпин», а так же талые воды с различных участков города Оренбурга в зависимости от антропогенной нагрузки.

Экспериментальная часть работы была проведена в два этапа. Первый этап включал исследование по изучению ДНК семян и растений, подвергшихся влиянию изучаемых химических факторов. Выделение растительной ДНК проводилось с применением набора «Проба ЦТАБ» фирмы ООО «ДНК-технология» (г. Москва) по предложенной производителем технологии. Изучение ДНК было проведено методом горизонтального электрофореза в агарозном геле. [8]. Фотографии электрофореграмм обрабатывались программой ImageJ (разработчик United States Department of Health and Human Services). Засушивание проводилось по

методике «холодной засушки» [7]. На втором этапе осуществлён анализ химического состава исследуемых образцов (вегетативные надземные части растений, удобрения и талые воды) на наличие веществ, классифицированных IARC (International Agency for Research on Cancer) как опасные и потенциально опасные (категории 1, 2А и 2В), а так же других веществ, повреждающих ДНК, с использованием газового хроматомасс-спектрометра GCMS QP-2010 Plus (Япония).

Результаты и обсуждения

В ходе первого этапа работы по исследованию ДНК растительного происхождения, семена томатов сорта «Аврора» были обработаны препаратами «Корневин», «Эпин», «Проросток» согласно инструкции производителей. Для получения вегетативной надземной части семян томатов выращивались в течение одного месяца, с использованием при поливе различных по происхождению вод с участков города Оренбурга. Всхожесть семян составила 98%. В первой исследуемой группе применялись талые воды, полученные расплавлением снега собранного с обочины автомобильной дороги с интенсивным трафиком. Во второй группе при поливе взяты талые воды, собранные на расстоянии 150 метров от крупных автомобильных дорог, в пешеходной зоне регулярно обрабатываемой коммунальными службами антигололёдным составом. В качестве контроля выступала группа, где для полива использовалась водопроводная вода.

Наибольшее количество ДНК по интенсивности свечения было выделено из семян, обработанных «Корневином» и составило 118% от яркости свечения контрольного образца (табл. 1). Однако ДНК данной группы семян прошла боль-

ший путь, чем ДНК других образцов, что может свидетельствовать о повреждении и накоплении разрывов в структуре ДНК. Семена, обработанные препаратами «Эпин» и «Проросток» показали недостоверные отличия с группой контроля по яркости свечения (109 и 111% соответственно) и пройденному шмером ДНК пути без повреждения её структур.

При исследовании ДНК вегетативной надземной части растений томата в контрольной группе выделено два шмера: высокомолекулярной и низкомолекулярной фракции (табл. 2). Исследуемые группы сравнивались внутри каждой фракции.

Образец ДНК, выделенный из 1 исследуемой группы образовал только один шмер, соответствующий низкомолекулярной фракции, который мигрировал дальше контрольного образца и был более вытянут. Высокомолекулярная фракция в данной группе не выделялась. Образец ДНК 2 группы образовал два шмера: низкомолекулярный и высокомолекулярный, отличающихся яркостью свечения от контрольной группы, что свидетельствует о большем количестве ДНК в данном образце. Самое большое количество ДНК выделено из растений контрольной группы (табл. 2).

На втором этапе работы по изучению химического состава исследуемых образцов (вегетативные надземные части растений, удобрения и талые воды) с использованием газового хроматома-спектрометра не было выявлено веществ, классифицированных IARC как опасные и потенциально опасные.

Тем не менее, в образце воды 1 группы обнаружена трихлоруксусная кислота, которая может выступать в качестве повреждающего

фактора структуры ДНК, способствующая уменьшению её количества [5].

Из изученных растений выделены стероиды, классифицированные программным обеспечением как прегнан, по имеющимся данным стероиды повышают риск развития онкологических заболеваний у человека [2]. Вместе с тем, в растениях обнаружены ненасыщенные жирные кислоты, кверцетин, токоферол ацетат, являющиеся антиоксидантами и протекторами ДНК от активных форм кислорода и свободных радикалов. В представленных растительных образцах выявлены соединения кремния. Есть данные о повреждающем действии кремния на ДНК [4], однако стоит отметить, что повреждающее действие оказывается силиконами, а не соединениями, в которых кремний присутствует в относительно небольших количествах 1–2 атома.

Таблица 1. Числовые значения электрофореграммы ДНК семян томата

Исследуемые группы семян	Расстояние, пройдено ДНК (по программе ImageJ в пикселях)	Яркость свечения шмера по сравнению с контрольной группой (%)
Контрольная	921	100
Группа семян, обработанная препаратом «Проросток»	971	111
Группа семян, обработанная препаратом «Эпин»	994	109
Группа семян, обработанная препаратом «Корневин»	1015	118

Таблица 2. Числовые значения электрофореграммы ДНК растений томатов

Фракция ДНК (шмер)	Характеристика шмера	Название исследуемой группы		
		Контрольная	1 группа	2 группа
Высокомолекулярная фракция	Начало, пиксель	214	Не обнаружена	220
	Конец, пиксель	276		269
	Длина, пиксель	62	-	49
	Яркость, %	100	-	71
Низкомолекулярная фракция	Начало, пиксель	908	931	911
	Конец, пиксель	955	992	960
	Длина, пиксель	47	61	49
	Яркость, %	100	75	82

Выводы

В результате проведённых исследований были сделаны следующие выводы:

1) применение удобрений и стимуляторов роста, обладающих высоким физиологическим эффектом оказывает слабое повреждающее действие на структуру ДНК изученных растений;

2) талые воды, стекающие как с автомобильных дорог, так и с городских пешеходных зон, не

оказывают заметного влияния на всхожесть растений, но снижают количество ДНК относительно контроля.

Стоит отметить, что использование газового хромато-масс-спектрометра GCMS QP-2010 Plus не позволяло выявить соединения тяжёлых металлов в исследуемых образцах, негативное влияние которых уже доказано многочисленными исследователями [9].

2.09.2013

Список литературы:

1. Johnson B.F., GMO foods and crops: Africa's choice, *New Biotechnology* 27, 609-613, 2010
2. Beral V., Herman C., Kay C., Hannaford P., Darby S., Reeves G. Mor tality associated with oral contraceptives use: 25 year follow up of cohort of 46000 // *Brit. Med. J.* 1999. Vol. 318, P. 96-101.
3. Bernard A. Kunz, Mutagenesis and deoxyribonucleotide pool imbalance, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, Volume 200, Issues 1-2, July-August 1988, Pages 133-147
4. Jiang J, Huo K, Wu Z, Chen S, Pu S, Yu Z, Liu X, Chu PK., Silicon-induced DNA damage pathway and its modulation by titanium plasma immersion ion implantation, *Biomaterials*. 2008 Feb;29(5):544-50. Epub 2007 Nov 5.
5. Mary E. Davis, Subacute toxicity of trichloroacetic acid in male and female rats, *Toxicology* Volume 63, Issue 1, July 1990, Pages 63-72
6. Paul W. K. Rothemund, Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns, *Nature* 440, 297-302 (16 March 2006)
7. Бедингауз М.П. Засушивание растений с сохранением естественной окраски, издание 3- М.: Известия, 1955. -48 с
8. Маддалена Кверчи, Марко Джермини и Ги Ван ден Эде, Анализ образцов пищевых продуктов на присутствие генетически модифицированных организмов, Люксембург: Бюро официальных изданий ЕЭС, 2007
9. Улахович Н.А., Медянцева Э.П., Бабкина С.С., Кутырева М.П., Гатаулина А.Р., Металлы в живых организмах, Казань: Казанский университет, 2012.

Сведения об авторах:

Барышева Е.С., заведующий кафедрой биохимии и молекулярной биологии Оренбургского государственного университета, доктор медицинских наук, доцент, e-mail: baryshevae@mail.ru

Барышева Д.А., студентка финансово-экономического факультета Оренбургского государственного университета, e-mail: freeswallow@mail.ru

Мликов Е.М., студент химико-биологического факультета Оренбургского государственного университета, e-mail: mlikov026@yandex.ru

Объедкова Ю.А., магистр химико-биологического факультета Оренбургского государственного университета, e-mail: pshik8mail@mail.ru

UDC 577.113.083

Barysheva E.S., Barysheva D.A., Mlikov E.M., Obedkova Y.A.

Orenburg state university, e-mail: baryshevae@mail.ru, mlikov026@yandex.ru

STUDY OF THE EFFECT OF EXOGENOUS CHEMICAL FACTORS ON THE GENOMIC TOMATOES DNA

The article presents the results of investigation of the influence of exogenous factors on the chemical structure of the genomic DNA of plant origin.

Bibliography:

1. Johnson B.F., GMO foods and crops: Africa's choice, *New Biotechnology* 27, 609-613, 2010
2. Beral V., Herman C., Kay C., Hannaford P., Darby S., Reeves G. Mor tality associated with oral contraceptives use: 25 year follow up of cohort of 46000 // *Brit. Med. J.* 1999. Vol. 318, P. 96-101.
3. Bernard A. Kunz, Mutagenesis and deoxyribonucleotide pool imbalance, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, Volume 200, Issues 1-2, July-August 1988, Pages 133-147
4. Jiang J, Huo K, Wu Z, Chen S, Pu S, Yu Z, Liu X, Chu PK., Silicon-induced DNA damage pathway and its modulation by titanium plasma immersion ion implantation, *Biomaterials*. 2008 Feb;29(5):544-50. Epub 2007 Nov 5.
5. Mary E. Davis, Subacute toxicity of trichloroacetic acid in male and female rats, *Toxicology* Volume 63, Issue 1, July 1990, Pages 63-72
6. Paul W. K. Rothemund, Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns, *Nature* 440, 297-302 (16 March 2006)
7. Baedinhhaus M.P. Drying plants with preservation of natural color.: *Izvestia*, 1955. -48 с
8. Maddalena Querci, Marco Jermini and Guy Van den Eede, Analysis of Food Samples for the Presence of Genetically Modified Organisms PRACTICAL GUIDE, Luxembourg: World Health Organization Regional Office for Europe, 2007
9. Ulahovich NA, Medyantseva EP, Babkin SS, Kuttyeva MP, Gataulina AR, Metals in living organisms, Kazan University, Kazan, 2012.