

**ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ЕФЕКТИ ПРИ ДІЇ ГУМАТУ
НАТРІЮ В ДІАПАЗОНІ ВИСОКИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ**

**І.Р. Баріляк , В.М.Шкарупа, Л.В. Неумержицька,
І.Д.Гуменюк**

*Науковий центр радіаційної медицини АМН України (Київ)
Національний університет біоресурсів та природокорис-
тування України (Київ)*

Вступ

Висока фізіологічна активність гумінових речовин обумовила зацікавленість в дослідженні їх можливих генопротекторних властивостей. Отримані на сьогодні дані експериментальних досліджень щодо мутагенних/антимутагенних властивостей гумінових речовин не є однозначними. В переважній більшості робіт показано відсутність токсичності і мутагенності гумінових речовин [1-6]. Виявлена можливість зменшення під впливом гумінових сполук мутагенності пестицидів, алкілюючих агентів, сумарної мутагенної активності забруднених ґрунтів, радіопротекторна активність [2-10]. В той же час існують дані про генотоксичність гуматів [9-11]. Деякі автори пояснюють ці мутагенні ефекти біологічною активністю сполук негумінового походження, які можуть бути присутні в складі гумінових препаратів в якості домішок [9, 10]. Суперечливість даних може бути також обумовлена недостатньо вивченими дозовими закономірностями, особливо в діапазоні високих концентрацій. У більшості досліджень використовували не більше двох концентрацій гуматів, які, при застосуванні різних тест-об'єктів, суттєво відрізнялись. Проте відомо, що фізіологічні властивості гуматів при дії низьких та високих концентрацій можуть мати антагоністичний характер [цит. за 2].

Метою роботи було дослідити цитогенетичні ефекти гумату натрію в широкому діапазоні фізіологічно активних та високих концентрацій (за умов пролонгованої дії) в Allium-тесті.

Матеріали та методи дослідження

В якості тест-системи використовували клітини апікальної меристеми проростків насіння Allium сера L. (вік насіння на мо-

мент експерименту складав 14 місяців). В експерименті використовували розчини гумату натрію в концентраціях: 50, 100, 200, 300, 500, 1000 мг/л. Фізіологічно активною концентрацією гумату натрію для рослин, при якій спостерігається активація ростових процесів та збільшення мітотичної активності є 50 мг/л, саме при цій концентрації в більшості робіт показані антимуtagenні властивості препарату [2]. Тому високі концентрації гумату натрію ми визначали як ті що лежать в діапазоні вищому за 50 мг/л. Клітини кореневої меристеми аналізували анафазним методом на тимчасових препаратах, пофарбованих ацетоарсеїном [12]. Визначали мітотичний індекс (МІ) та розподіл клітин по фазах мітозу, частоту аберантних ана-телофаз (ЧАА). До аберантних відносили ана-телофази, що містили фрагменти і мости як показники кластогенного ефекту. Результати експериментальних даних за загальноприйнятими статистичними методиками [13].

Отримані результати та їх обговорення

Результати аналізу дозових залежностей дії гумату натрію на мітотичну активність клітин *Allium sera L.* представлені в табл.1.

Таблиця 1

Вплив гумату натрію на мітотичну активність клітин *Allium sera L.*

Концентрація гумату натрію, мг/л	Всього клітин	Мітотичних	МІ, %
0	8395	849	10,11±0,33
50	6077	796	13,10±0,43
100	7348	924	12,57±0,39
200	6121	825	13,48±0,44
300	5116	800	15,64±0,51
500	7350	1002	13,63±0,40
1000	6828	828	12,13±0,40

В усьому діапазоні досліджених концентрацій гумат натрію проявляє стимулюючий вплив на процеси клітинного поділу. Проте, дозозалежного збільшення проліферативної активності при збільшенні концентрації препарату не спостерігається. Найвища мітотична активність клітин *Allium sera L.* спостерігається при дії гумату натрію в концентрації 300 мг/л (15,64±0,51% порівняно з 10,11±0,33% у контролі). При дії більш високих концентрацій (500, 1000 мг/л) значення МІ зменшуються, залишаючись вірогідно більшими, ніж в контролі. Аналіз роз-

поділу клітин по фазах мітозу виявив збільшення профазного пулу при дії гумату натрію в усіх варіантах порівняно з контролем. Враховуючи збільшення мітотичного індексу під впливом препарату це може свідчити не про затримку мітозу на стадії профазі, а про стимуляцію вступу клітин до поділу.

В таблиці 2 представлені результати аналізу частоти аберантних клітин кореневої меристеми *Allium sera L.* після експозиції з гуматом натрію.

Таблиця 2

Кластогенні ефекти гумату натрію в клітинах *Allium sera L.*

Концентрація гумату натрію, мг/л	Всього ана-телофаз	Аберантних	ЧАА±Sp
0	1330	29	2,18±0,40
50	1815	44	2,42±0,36
100	1157	24	2,07±0,42
200	1368	29	2,12±0,39
300	1758	46	2,62±0,38
500	1390	45	3,24±0,48*
1000	1993	50	2,51±0,35

Примітка: * - при $p < 0,05$

В діапазоні діючих концентрацій препарату 50-300 мг/л ЧАА вірогідно не відрізняється від контролю. При дії гумату натрію в концентрації 500 мг/л, ЧАА незначним чином, але статистично достовірно збільшується ($p < 0,05$) - 3,24±0,48% порівняно з 2,18±0,40% в контролі. Слабкий мутагенний ефект гумату натрію можна було б пояснити його високою концентрацією, яка в 10 разів перевищує фізіологічно активну. Проте, при діючій концентрації препарату - 1000 мг/л не виявлено вірогідного збільшення ЧАА порівняно з контролем. При цьому слід зазначити, що при концентрації 500 мг/л, збільшення ЧАА спостерігається лише в одному корінці з 15 досліджених (9,02±2,9). Таке перевищення, у підсумку, призводить до вірогідної різниці з контролем. Наявність лише одного корінця не дає змогу адекватно оцінити цей ефект, який може бути обумовлений індивідуальною чутливістю чи хромосомною нестабільністю. Залишається не з'ясованим, чи є такий ефект специфічним для дії високих концентрацій препарату, оскільки при концентрації 1000 мг/л також було виявлено 1 корінець з підвищеним рівнем ЧАА (5,40±2,20).

Висновки

1. Дія гумату натрію в діапазоні концентрацій 50-1000 мг/л проявляє стимулюючий вплив на проліферативну активність клітин кореневої меристеми *Allium sera* L., який не має дозозалежного характеру.

2. В досліджуваному діапазоні діючих концентрацій препарату, лише при 500 мг/л виявлено слабкий мутагенний ефект.

Література

1. Суй В.М. Изучение грязевого препарата гумизоль на канцерогенность и мутагенность / В.М.Суй, А.И.Кюнг, Т.И.Вейденбаум // *Вопр. курортolog. физиотер. и леч. физ. культ.* - 1986. - № 2. - С.34-37.

2. Горовая А.И. Гуминовые вещества / А.И.Горовая, Д.С.Орлов, О.В.Щербенко. К. - 1995. - 303 с.

3. Klocking R. Medical aspects and applications of humic substances / R.Klocking, B.Helbig // *Biopolymers for medical and pharmaceutical applications.* - Weinheim, 2005. - P. 3-15.

4. Sato T. Desmutagenic effect of humic acid / T.Sato, Y.Ose, H. Nagase // *Mutat. Res.* - 1986. - 162, № 2. - P.173-178.

5. Севостьянова Н.В. Антимутагенный эффект гумизоль в культурах Т-лимфоцитов крови, подвергнутых воздействию циклофосфана / Н.В.Севостьянова // *Вопросы курортологии и физиотерапии.* - 1998. - № 4. - С. 46-47.

6. Ferrara G. Anticlastogenic, antitoxic and sorption effects of humic substances on the mutagen maleic hydrazide tested in leguminous plants / G.Ferrara, E.Loffredo, N.Senesi // *Europ. J. of Soil Sci.* - 2004. - Vol. 55, № 3. - P. 449-458.

7. Cytogenetic effects of Humic substances and their use for remediation of polluted environments. In: *Use of Humic substances to remediate polluted environments: From Theory to Practice* / A. Gorova, T. Skvortsova, I. Klimkina, A. Pavlichenko. - 2005, Springer. - P. 311-327.

8. Шкарупа В.М. Антимутагенний ефект лігногуматів при Х-опроміненні / В.М.Шкарупа, Л.В.Неумержицька, І.Р.Бариліак // *Проблеми радіац. медицини та радіобіології: збірник наукових праць.* - К., 2006. - Випуск 12. - С.239-243.

9. Genotoxicity of humic acid in cultured human

lymphocytes and its interaction with the herbicides alachlor and maleic hydrazide / G.Ribas, E.Carbonell, A.Creus [e.a.] // *P. Environ. Mol. Mutagen.* - 1997. - № 3. - P.272-276.

10. Use of *Saccharomyces cerevisiae* D7 to analysis of genotoxicity/antimutagenicity of processed humic acids / J.Kubesova, V.Turkova, A.Mikulcova [e.a.] // *34th Annual conference on yeast, 10-12 May 2006.* - Praha, 2006. - P. 1186.

11. In vivo cytogenetic effects of natural humic acid / F.Bernacchi, I.Ponzanelli, M.Minunni [e.a.] // *Mutagenesis.* - 1996. - № 5. - P. 467-469.

12. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений / З. П.Паушева. - М.: Агропромиздат, 1988. - 271с.

13. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф.Лакин. - М.: Высшая школа, 1980. - 293 с.

Резюме

Бариліак І.Р., Шкарупа В.М., Неумержицька Л.В., Гумєнюк І.Д. Цитогенетичні ефекти при дії гумату натрію в діапазоні високих концентрацій.

Показано, що гумату натрію в діапазоні концентрацій 50-1000 мг/л проявляє стимулюючий вплив на проліферативну активність клітин кореневої меристеми *Allium sera* L. В досліджуваному діапазоні діючих концентрацій препарату, лише при 500 мг/л виявлено слабкий мутагенний ефект.

Ключові слова: гумат натрію, *Allium sera* L., цитогенетичні ефекти.

Резюме

Бариліак І.Р., Шкарупа В.М., Неумержицькая Л.В., Гумєнюк І.Д. Цитогенетические эффекты при действии гумата натрия в диапазоне высоких концентраций.

Показано, что гумат натрия в диапазоне концентраций 50-1000 мг/л проявляет стимулирующее влияние на пролиферативную активность клеток корневой меристемы *Allium sera* L. В исследованном диапазоне действующих концентраций препарата, только при 500 мг/л выявлен слабый мутагенный эффект.

Ключевые слова: гумат натрия, *Allium sera* L., цитогенетические эффекты.

Summary

Barilyak I.R., Shkarupa V.M., Neumergitskaya L.V., Gumenyuk I.D. Cytogenetic effects at action of sodium humate in a range of high concentration.

It is shown, that sodium humate in a range of concentration of 50-1000 mg/l are stimulates mitotic activity of root cells *Allium cepa* L. In the investigated range of operating concentration of a preparation, only at 500 mg/l the weak mutagen effect is revealed.

Key words: sodium humate, *Allium cepa* L., cytogenetic effects.

Рецензент: д.біол.н., с.н.с.Е.А.Дьоміна