

Лабораторная р а б о т а 6. МОДИФИКАЦИЯ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ СЕМЯН ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР

Проблема модификации (изменения) радиочувствительности занимает одно из центральных мест в радиобиологии. Ее решение раскрывает природу лучевого поражения и защиты клеток и организма от действия ионизирующего излучения.

Происхождение, физические и химические свойства, а также механизм действия модификаторов могут быть различными. Модификаторы, повышающие радиостойчивость, называются радиопротекторами, а модификаторы, повышающие радиочувствительность, радиосенсибилизаторами. Особый интерес вызывают модификаторы радиостойчивости. Известно более 1000 радиопротекторов, которые эффективны на растениях. Механизм действия модификаторов находится в стадии изучения.

В качестве модификаторов используются химические вещества и физические факторы. Химические модификаторы взаимодействуют с первичными продуктами радиационно-химических реакций, т.е. свободными радикалами и ионами.

Физические факторы воздействуют непосредственно на ход реакций или косвенно влияют на физиологическое состояние клеток или организма, изменяя характер развития лучевого поражения.

Универсальным модификатором признан кислород. Доказано, что кислород при лучевом поражении играет двойную роль – с одной стороны он усиливает процессы поражения, а с другой – способствует восстановлению после поражения.

Радиопротекторы разделяются на две группы:

- 1) изменяющие выход молекулярных повреждений;
- 2) влияющие на фенотипическое проявление возникающих молекулярных повреждений.

Для растений в качестве радиопротекторов используют:

Органические вещества, в молекуле которых имеется сульфгидрильная группа (дитиопропанол, глутатион, тиомочевина, цистамин, цистеамин, цистеин, цистин, британский антилюизит и др). Механизм радиозащитного действия сульфгидрильных соединений объясняется их способностью перехватывать свободные радикалы и включать их в свою молекулу;

Вещества, способные к окислению и восстановлению (аскорбиновая кислота и ее соли, гидросиламин, гидросульфит натрия, этаноламин, гидрохлорид и спирты: метиловый, этиловый, пропиловый). Радиозащитное действие осуществляется несколькими путями:

- 1) прямое участие в качестве доноров электронов;
- 2) воздействие на активность эндогенных тиолов;
- 3) косвенное действие (увеличивается содержание цистеина при наличии аскорбиновой кислоты);

Антиокислители (оксипиримидин, каротины, эфиры галловой кислоты и другие). Механизм их действия сводится к замедлению окисления молекул кислородом и подавлению цепных реакций окисления липидов;

Ионы некоторых металлов (калий, кальций, марганец, никель, магний, железо, цезий, цинк, бор, кобальт и др.). Механизм действия ионов может быть прямой, вызывающий стабилизацию вторичных структур биологически важных молекул, и не прямой, связанный с восстановлением ферментов, содержащих в своей молекуле металлы;

Фитогормоны (гетероауксин, гиббереллины, цитокинины, этилен и его гомологи). Механизм их действия широкий и разнообразный: они регулируют ростовые процессы, изменяют митотическую активность;

Митотические яды и мутагены (колхицин, кофеин, мезонидазол). Механизм действия: замедляют прохождение клетками фаз митоза, уменьшают выход хромосомных аберраций.

Радиопротекторные эффекты химических веществ при облучении семян определяют различными способами:

- 1) семена перед облучением замачивают на несколько часов в растворе протектора;
- 2) проростки перед облучением выдерживают в растворе протектора;
- 3) облученные семена или проростки помещают в раствор протектора.

Контролем служат облученные семена или проростки без применения протектора.

К защитным факторам физической природы относятся температура, магнитные поля, электромагнитные излучения, световые лучи, которые используются для фотосинтеза.

Цель работы: изучить радиопротекторные свойства различных химических модификаторов и выявить наиболее эффективный радиопротектор для семян зерновых культур.

Материалы и оборудование: семена озимой пшеницы и ржи; рабочие растворы радиопротекторных веществ; чашки Петри, пинцеты, мерные цилиндры; фильтровальная бумага, весы; растильни и термостат для проращивания семян.

Выполнение работы. 1. При выполнении работы используют один из двух вариантов.

В а р и а н т 1. Семена пшеницы и ржи раскладывают по 200–250 штук в чашки Петри, замачивают в растворах радиопротекторов на несколько часов и затем облучают гамма-излучением дозой 250–300 Гр.

В а р и а н т 2. Семена облучают гамма-излучением дозой 250–300 Гр, раскладывают в чашки Петри по 200–250 шт., затем замачивают их в растворах радиопротекторов на 12 часов.

В качестве контроля используются семена, замоченные в воде.

2. Облученные семена проращивают в термостате на фильтровальной бумаге в двукратной повторности (методика изложена в работе).

3. Через 3 суток определяют энергию прорастания семян по всем вариантам опыта. Через 7 суток определяют всхожесть и интенсивность роста у проростка и главного корешка.

Для определения интенсивности роста берут из каждой растильни по 10 проростков и при помощи линейки или миллиметровой бумаги измеряют длину проростка и главного корешка. Результаты опыта записывают в табл.5.

По результатам опыта определяют наличие и величину модификации изучаемых признаков, выбирают наиболее эффективные радиомодификаторы.

Для определения защитного действия радиопротектора используют коэффициент защиты (K_z), который рассчитывается по формуле

$$K_z = \frac{P_{р\delta}}{P_{д}}$$

где $P_{р\delta}$ – среднее значение признака с применением протектора;

$P_{д}$ – средняя величина признака без применения протектора.

В случае проявления радиозащитного действия протектора коэффициент защиты будет больше единицы.

Т а б л и ц а 8 . Модификационный эффект радиопротекторов

Радиопротектор	Энергия прорастания, %			Всхожесть, %			Интенсивность роста						
							Длина проростка			Длина корешка			
	1	2	Ср	1	2	Ср	1	2	Ср	1	2	Ср	
1. Вода (контроль) 2. Цистин, 10^{-3} М 3. Тиомочевина, 10^{-3} М 4. Аскорбиновая кислота, 10^{-3} М 5. Этиловый спирт, 0,7 М 6. $Fe_2(SO_4)_3$, 10^{-3} М 7. $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$, 10^{-3} М 8. $Ca(NO_3)_2$, 10^{-3} М 9. $Mg(NO_3)_2$, 10^{-3} М 10. Гетероауксин, 10^{-4} М													

Используя средние значения всхожести семян, длины проростка и длины корешка (табл. 8), вычислить коэффициент защиты изучаемых радиопротекторов. Полученные результаты записать в таблицу 9 и сделать выводы.

Т а б л и ц а 9 . Коэффициент защиты радиопротекторов

Радиопротектор (водный р-р)	Признак								
	Длина проростка			Длина корешка			Всхожесть		
	П	П _д	К _з	П	П _д	К _з	П	П _д	К _з
1. Вода	рд			рд			рд		
2. Цистин									
3. Тиомочевина									
4. Аскорбиновая кислота									
5. Этиловый спирт									
6. $Fe_2(SO_4)_3$									
7. $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$									
8. $Ca(NO_3)_2$									
9. $Mg(NO_3)_2$									
10. Гетероауксин									

Контрольные вопросы

1. Объясните понятие "модификация лучевого поражения".
2. Назовите типы модификаторов.
3. Расскажите о механизме действия основных модификаторов.

4. Что такое радиопротекторы и радиосенсибилизаторы? Когда их применяют?
5. Какие радиопротекторы используют на растениях?
6. На сколько групп разделяются радиопротекторы? Что лежит в основе этого разделения?
7. Назовите возможные варианты оценки модификационного эффекта радиопротекторов при облучении семян.
8. Какую роль играет кислород при лучевом поражении?
9. Расскажите о механизме действия сульфгидрильных соединений и фитогормонов.
10. Что показывает коэффициент защиты?
11. Какие радиопротекторы оказались наиболее эффективными в проведенном опыте?