

UDC: 582:539.1.047

TOXUMLARIN γ – ŞÜALARLA İŞLƏNMƏSİNİN *CUCUMIS SATIVUS* BİTKİSİNİN ÖZÜNDƏ VƏ ÖZÜNDƏN SONRAKI NƏSLİNDƏ ANTIOKSİDANT FERMENTLƏRİN FƏALİYYƏTİNƏ TƏSİRİ

K.G. Qarayeva¹, E.S. Cəfərov¹, H.Q. Babayev²

¹AMEA Radiasiya Problemləri İnstitutu,

²AMEA Molekulyar Biologiya və Biotexnologiya İnstitutu

Xülasə: Təqdim olunan işdə ilk dəfə olaraq toxumların səpindən əvvəl müxtəlif dozalarda γ – şüalarla işlənməsinin xiyar bitkisinin özünün və özündən sonrakı birinci nəslinin həm boyatma və inkişafına təsiri öyrənilmiş, həm də superoksiddismutaza, katalaza və askorbatperoksidaza kimi antioksidant fermentlərin aktivliklərinin şüalanma dozəsindən asılı dəyişmə dinamikasına əsasən hər iki halda antioksidant mühafizə sisteminin fəaliyyəti qiymətləndirilmişdir.

Müəyyən edilmişdir ki, toxumları səpindən əvvəl müxtəlif dozalarda γ -şüalanmanın təsirinə məruz qalmış xiyar bitkisinin özünün və birinci nəsil meyvələrinin biometrik ölçülərində kontrol meyvələrlə müqayisədə aşkar fərqlər mövcuddur. Daha dəqiq desək, kiçik dozalarda ionlaşdırıcı şüalanma bu bitkinin inkişafına stimullaşdırıcı təsir göstərməklə onun meyvəsinin ölçü və kütləsinin artmasına səbəb olursa, böyük dozalarda, əksinə, inkişafa ingibirləşdirici təsir edərək, onun meyvəsinin ölçü və kütləsini azaldır.

Həmçinin də müəyyən edilmişdir ki, radiasiya stresi şəraitində antioksidant fermentlər müəyyən mənada əlaqəli və balanslaşmış fəaliyyət göstərir.

Açar sözlər: *Cucumis sativus*, toxumların səpindən əvvəl γ – şüalarla işlənməsi, valideyn və birinci nəsil bitki, antioksidant fermentlər, superoksiddismutaza, askorbatperoksidaza, katalaza

1. Giriş

İonlaşdırıcı şüalanmanın bioloji təsirinin çoxsaxəli və bu şüalanma növünün hüceyrəyə təsirinə dair elmi tədqiqat işlərinin kifayət qədər olmasına baxmayaraq, digər fiziki təsir amilləri ilə müqayisədə bu gün radiasiyanın yüksək toksiki təsirini aydınlaşdırmağa imkan verə bilən mexanizm hələ də məlum deyil (*Маргулис, Маргулис, 2005; Эйдыс, 2000*). Buna baxmayaraq, radiasiyanın bioloji təsirinə dair müasir təsəvvürləri ümumiləşdirərək, bu şüalanma növünün bitki orqanizmlərinə bioloji təsir mexanizmini şüalanma enerjisinin orqanizmin hüceyrə və toxumaları tərəfindən udulması, sərbəst radikal və oksidləşdiricilərin (oksidantların) yaranması, biokimyəvi və fizioloji proseslərin pozulması kimi mərhələlərə bölmək olar.

Qeyd etmək lazımdır ki, hal – hazırda ionlaşdırıcı şüalanmanın bioloji obyektlərə təsir mexanizmi ya hüceyrədə baş verən kimyəvi çevrilmələrlə (dolayı təsir mexanizmi), ya da birbaşa DNT molekuluna təsirlə (hədəf nəzəriyyəsi) əlaqələndirilir (*Долгова и др., 2003; Цыцугина и др., 2005*). Dolayı təsir mexanizminin əsasında ionlaşdırıcı şüalanmanın su ilə qarşılıqlı təsiri və bu təsir nəticəsində əmələ gələn müxtəlif ionların və *H*, *OH* kimi radikalların törətdiyi reaksiyalar durur. Birbaşa təsir mexanizmini isə ionlaşdırıcı şüalanmanın hüceyrə daxilində nişangah rolunu oynayan DNT, RNT kimi molekullarla biavasitə qarşılıqlı təsiri ilə bağlayırlar (*Цыцугина и др., 2005*). İonlaşdırıcı şüalanma zərrəciklərinin birbaşa DNT molekulunun üzərinə düşmə ehtimalı çox kiçik olduğundan, əksər müəlliflər dolayı təsir mexanizminin üstünlük təşkil etdiyini qeyd edirlər.

Radioaktiv şüalanmanın bitkilərə təsirinə dair son illərin tədqiqat işlərinin nəticələrindən aydın olur ki, ionlaşdırıcı şüalanmanın təsiri ilə bitkilərdə adaptiv cavab adlanan reaksiya formalaşır və nəticədə onlar bu təsirə özünəməxsus formada müqavimət göstərir [*Серебряный, Зоз, 2001*]. Hesab edilir ki, bitkilərin radiasiyaya qarşı adaptiv reaksiyası reparasiyanın indusibel sistemlərinin fəaliyyətinin nəticəsidir. Belə ki, radiasiyanın yaratdığı “zədələnmə” *de novo* reparativ fermentlərin sintezi üçün signal rolunu oynaya bilər.

Qeyd edək ki, reparasiyanın təqdim olunan formada mexanizmini mikroorqanizmlər və canlı hüceyrələr üçün təcrübi yolla sübut etmək mümkün olmuşdur [*Lindahi et al., 1988*]. Bitkilər üçün isə, oxşar formada proseslərin baş verə bilməsinə baxmayaraq, bu fenomen az öyrənilib. Bitkilərdə bu proses əsasən xromosom mutagenezi, daha dəqiq desək, mitozun ilk şüalanmasından sonra xromosom aberrasiyalarının sayının və xarakterinin dəyişməsi əsasında öyrənilib [*Цыпугина, 2002; Шершунова, 2000; Guo, Huang, 2001; Zaka et al., 2002*].

Məlum olduğu kimi, genetik informasiyanı sonrakı nəsillərə ötürmək funksiyasını daşıyan molekulun zədələnməsi halında müxtəlif ağırlıq dərəcəsinə malik radiasiya effektləri yaranır ki, genetik effektlər adlanan bu effektlər də, adətən, şüalanmış orqanizmin sonrakı nəsillərində özünü biruzə verir. Hesab olunur ki, bitkilərdə adaptiv cavabın nəticələrinin hətta sonrakı nəsillərdə də özünü göstərə bilməsi adaptiv cavaba dair ümumiləşdirilmiş reparativ mexanizm yeganə mümkün ola bilən mexanizm deyil [*Серебряный, Зоз, 2001*]. Belə ki, radiasiyanın təsirinə məruz qalan bitkilərdə onların müdafiə sisteminin, yəni radiasiya “zədələnmələrini” reparasiya edən sistemin “fəallaşması” da mümkündür [*Gudkova, Kosakivska, 1998*]. Bu zaman bitkilərin müxtəlif stress faktorlarına, o cümlədən də radiasiyanın təsirinə adaptasiyası onların antioksidant sistemlərinin aktivləşməsi (antioksidant birləşmələrin sintez olunması) ilə izah oluna bilər.

Sonda qeyd edək ki, radiasiyanın orqanizmlərə genetik təsirinin öyrənilməsi iki əsas səbəbə görə böyük çətinliklərə malikdir. Bu, bir tərəfdən, onunla əlaqədardır ki, bu problemin həlli uzun müddətli müşahidələr tələb edir. İkincisi, yeni nəsillərdə həm irsi keçən, həm də yeni əmələ gələn defektlər yüksək dəyişkənliyə malik olurlar ki, bu da, radiasiyanın təsiri ilə əmələ gələn defektləri digər defektlərdən ayırmağa imkan vermir.

Göründüyü kimi, radioaktiv şüalanmanın bioloji təsir mexanizminin hərtərəfli öyrənilməsi və bu təsirin sonrakı nəsillərdə yarada biləcəyi fəsadların müəyyənləşdirilməsi bu gün aktual olmaqla yanaşı, həm də böyük elmi və praktiki əhəmiyyətə malikdir.

2. Materiallar və metodlar

Tədqiqat obyektini olaraq, balqabaqkimilər fəsiləsindən olan *Cucumis sativus* (xiyar) bitkisi seçilmişdir. Səpindən əvvəl bitkinin toxumları “RUXUND” qurğusunda ^{60}Co şüalanma mənbəyindən istifadə edilməklə, 1, 5, 10, 15, 30, 50, 100, 200 və 300 Qr şüalanma dozalarında (doza gücü bütün hallarda 0.048 Qr/san olmuşdur) γ – şüaların təsirinə məruz qalmış və kontrol nümunə ilə birlikdə Elmi-Tədqiqat Tərəvəzçilik İnstitutunun təcrübə sahəsində yetişdirilmişdir. Vegetasiya periodunun sonunda bitkinin toxumları yığılmış və növbəti mövsümdə yenidən kontrol nümunə ilə birlikdə həmin təcrübə sahəsində yetişdirilmişdir (bu halda toxumlar şüalandırılmamışlar).

Tədqiqat metodları və cihazlar –Radiospektrometriya, spektrofotometriya, ^{60}Co γ – şüalanma mənbəyi, «PROQRESS-BQ» markalı γ - radiospektrometr, HIMAC –CT 15 RE (United Kingdom) markalı sentrifuqa, JENWAY – 67 Series (United Kingdom) markalı spektrofotometr.

Bitki nümunələrində askorbatperoksidaza (APO) fermentinin aktivliyinin təyini. Askorbatperoksidaza fermentinin aktivliyi Rios Gonzales və başq.-nin [*Rios –Gonzales et al., 2002*] təklif etdiyi metoda uyğun olaraq spektrofotometrik üsulla təyin olunmuşdur. Bu məqsədlə

14 q yaşıl yarpaq nümunəsi götürülmüş və 10 ml 50 mM kalium-fosfat bufferində (pH 7.6) homogeneziya olunmuşdur. Fermentin tərkibində çoxlu miqdarda –S-S- (disulfid) rabitələri olduğundan homogeneziya məhluluna bu rabitələrin oksidləşməsinin qarşısını almaq üçün PVP (polivinilpirrolidon) və askorbin turşusu əlavə edilmişdir. Sonra homogenat süzülmüş və 10 dəq ərzində 12000 g sürəti ilə çökdürülmüşdür. Daha sonra çöküntü atılmış, çöküntüüstü ekstrakt isə aktivliyə baxılmaq üçün istifadə edilmişdir. Reaksiya mühitinin yaradılması məqsədi ilə $V=3$ ml həcmli küvetə 2.55 ml 50 mM kalium - fosfat bufferi (pH 7.6), 50 mkl 0.1 mM EDTA (etilendiamin tetra asetat turşusu), 50 mkl 0.05 mM askorbin turşusu ($M=176.1$, $0.000176 + 2$ ml su) və 50 mkl 0.1 mM H_2O_2 (3%) daxil edilmişdir. Daha sonra 300 mkl birki ekstraktı əlavə olunmaqla, reaksiyanın başlanmasına START verilmişdir. Optik sıxlığa dair ölçmələr $t=30$ san müddətində 290 nm dalğa uzunluğunda *Ultraspec 3300 pro* markalı (Amersham USA) spektrofotometrin köməyi ilə aparılmışdır. Aktivliyin ölçüsü olaraq reaksiyanın ilk 30 saniyəsi ərzində optik sıxlığın azalması götürülmüşdür.

Fermentin aktivliyi $mkmol/(mq \cdot dəq)$ vahidləri ilə $A = \Delta OS \frac{V}{\epsilon \cdot b}$ düsturu ilə hesablanmışdır. (Burada V - küvetin həcmi (3ml), ΔOS – optik sıxlıq, ϵ - ekstinksiya sabiti ($\epsilon = 2.8 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{sm}^{-1}$), b – ferment ekstraktının həcmidir ki, bu da 300 mkl -ə bərabərdir).

Nəzarət variantında ferment ekstraktı əvəzinə 300 mkl kalium - fosfat bufferi məhlulu əlavə edilmişdir.

Bitki nümunələrində katalaza fermentinin aktivliyinin təyini. Katalaza fermentinin aktivliyi də *Rios Gonzales və başq.*-nin [*Rios –Gonzales et al., 2002*] təklif etdiyi metoda uyğun olaraq spektrofotometrik üsulla təyin olunmuşdur.

Bunun üçün 1q yaşıl yarpaq və 10ml 50 mM kalium – fosfat buferindən (pH 7.0) ibarət homogenizat hazırlanmışdır. Yarpaq toxumaları dağıdıldıqdan sonra filtrasiya olunmuş və filtrat 10 dəq müddətində 8000 g sürəti ilə sentrifüqasiya olunmuşdur. Çöküntü atıldıqdan sonar təmiz ekstrakt tədqiqat məqsədi ilə istifadə olunmuşdur.

Reaksiya mühitinin tərkibinə 2.85 ml 50 mM kalium-fosfat bufferi, 60 mkl ferment ekstraktı və 90 mkl H_2O_2 daxil edilmişdir. Qarışığa 300 mkl birki ekstraktı əlavə olunaraq reaksiyaya START verilmişdir.

Optik sıxlığın təyininə dair ölçmələr $V=3$ ml həcmli küvetdə $t=60$ san müddətində 240 nm dalğa uzunluğunda *Ultraspec 3300 pro* markalı (Amersham USA) spektrofotometrin köməyi ilə aparılmışdır. Aktivliyin ölçüsü olaraq reaksiyanın ilk 60 saniyəsi ərzində optik sıxlığın azalması götürülmüşdür.

Fermentin aktivliyi $mk \text{ mol}/(mq \cdot dəq)$ vahidləri ilə $A = \Delta OS \frac{V}{\epsilon \cdot b}$ düsturu ilə hesablanmışdır (burada V - küvetin həcmi (3ml), ΔOS – optik sıxlıq, ϵ - ekstinksiya sabiti ($\epsilon = 39.4 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{sm}^{-1}$), b – ferment ekstraktının həcmidir ki, bu da 300 mkl -ə bərabərdir).

Nəzarət variantında ferment ekstraktı əvəzinə 300 mkl kalium-fosfat bufferi məhlulu əlavə edilmişdir. Hesablamalar zamanı həm də aktivliyin şərti $mkmol /ml \cdot dəq$ vahidindən də istifadə edilmişdir.

Bitki nümunələrində superoksiddismutaza (SOD) fermentinin aktivliyinin təyini. Superoksiddismutaza (SOD) fermentinin aktivliyi *Giannopolites və Ries* -in [*Giannopolites, Ries, 1997*] təklif etdiyi metoda uyğun olaraq spektrofotometrik üsulla öyrənilmişdir. Bu məqsədlə 300 mq yaşıl yarpaq nümunəsi götürülmüş və 20 ml 50 mM kalium-fosfat buferində (pH 7.8) homogeneziya olunmuşdur. Alınan homogenat 2 qat tənzip süzgəcdən keçirildikdən sonra 15 dəq ərzində 7000 g sürəti ilə sentrifüqasiya olunmaqla, çökdürülmüşdür. Daha sonra çöküntü atılmış və çöküntüüstü mayedən SOD - un aktivliyini təyin etmək üçün istifadə olunmuşdur. Bu zaman 3 ml həcmli küvetdə aşağıdakı tərkibdə reaksiya mühiti yaradılmışdır:

- 2.65 ml ferment ekstraktı,
- 100 mkl 13 mM L-metionin ($M=149.2$, $0.0388 q + 2 ml$ su) ,
- 50 mkl 75 mkM tetrazolium-xlorid ($M=817.6$, $0.0000612+1 ml$ su),
- 100 mkl 0.1mM EDTA,
- 100 mkl 2 mM riboflavin ($M=376.37$, $0.000753+1 ml$ su)

Ölçmələr hazırlanmış qarışıqın 20 dəq işıqda inkubasiya olunmasından sonra spektrofotometrə 560 nm dalğa uzunluğunda 5 dəq müddətində optik sıxlığın dəyişməsi əsasında aparılmışdır. Ölçmələr zamanı tam tərkibli E_1 təcrübə variantından, yarpaq-ferment ekstraktı əvəzinə 2.65 ml fosfat buferi daxil edilmiş E_2 yoxlama variantından və qaranlıqda saxlanıldıqdan sonra aktivliyinə baxılan E_3 yoxlama variantından istifadə edilmişdir.

Fermentin aktivliyi faizlərlə $A = \frac{[E_n - E_t]}{E_n} \cdot 100 \%$ düsturunun köməyi ilə hesablanmışdır (burada E_n – nəzarət, E_t – təcrübə variantlarının optik sıxlıqları, $\Delta E = E_n - E_t$ – optik sıxlığın dəyişməsidir). $E_n = E_3 - E_2$, $E_t = E_1 - E_2$ kimi təyin edilmişdir. SOD - un aktivliyinin vahidi olaraq formazanın yaranmasının 50% ingibirləşməsi qəbul olunmuşdur.

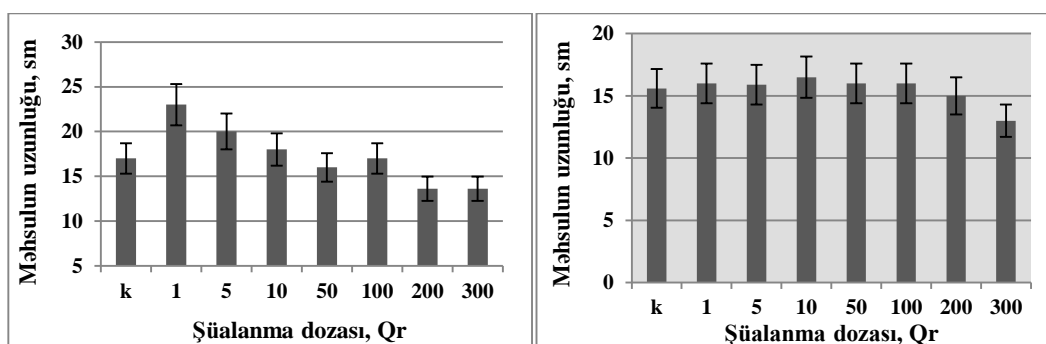
3. Alınmış nəticələr və onların təhlili

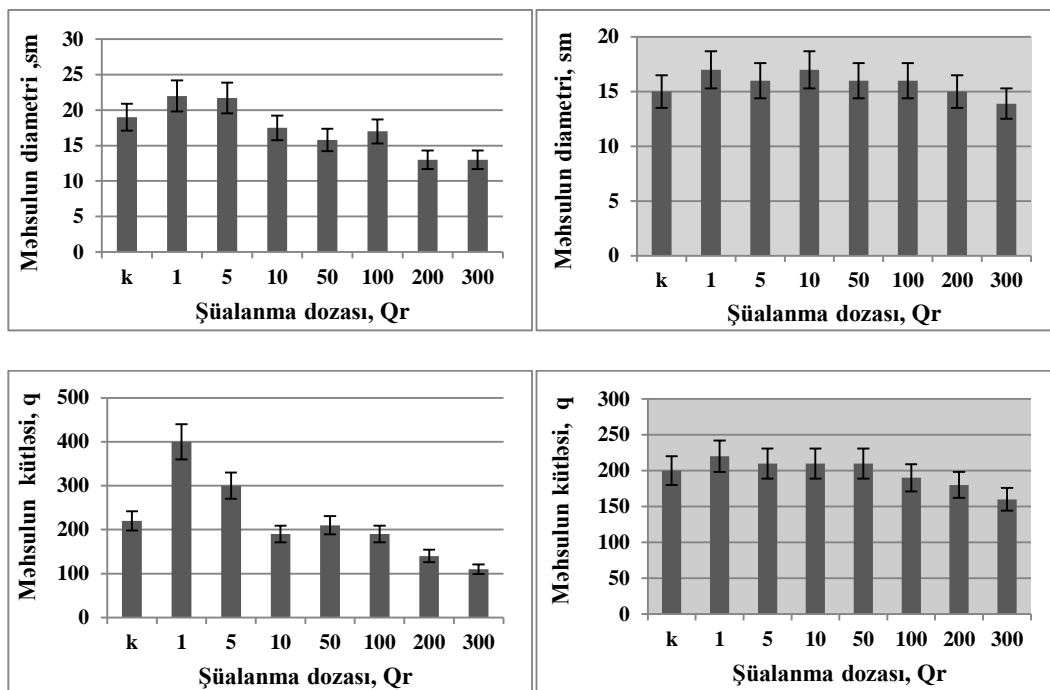
Səpindən əvvəl toxumları müxtəlif dozalarda ionlaşdırıcı şüalanmanın təsirinə məruz qalmış xiyar bitkisinin özündə və birinci nəslində biomorfoloji xüsusiyyətlərin tədqiqi

Məlum olduğu kimi, müəyyən şəraitlərdə kiçik dozalı radiasiya bitkilərin boyatma və inkişafını stimullaşdırır bilir ki, bu da özünü daha çox onların biometrik və reproduktiv xüsusiyyətlərində göstərir. Bu səbəbdən də kənd təsərrüfatı bitkilərinin məhsuldarlığının artırılması məqsədi ilə toxumların səpindən əvvəl şüalandırılmasından uzun müddətdir ki, istifadə olunur.

Bunu əsas götürərək, Respublikamız üçün xüsusi əhəmiyyət kəsb edən kənd təsərrüfatı bitkilərinin radioaktiv şüalanmanın müxtəlif dozalarda təsirinə reaksiyasını öyrənməyi məqsədmüvafiq hesab etmişik.

Tədqiq etdiyimiz bitkinin həm öz meyvələrinin, həm də onun birinci nəsil meyvələrinin şüalanma dozasından asılı ölçü və kütlələrinə dair aldığımız nəticələr şəkil 1- də verilmişdir.





Şək. 1. Xiyar meyvələrinin biometrik ölçülərinin şüalanma dozasından asılı dəyişmə dinamikası (ağ fonlu qrafiklər valideyn bitkiyə, qara fonlu qrafiklər isə onun birinci nəslinə aid nəticələndir).

Nəticələr valideyn bitkinin meyvələrinin ölçü və kütlələrində radiasiya dozasından asılı aşkar fərqlərin olmasını göstərdi. 1 və 5 Qr şüalanma dozalarında meyvələrin ölçü və kütlələrinin böyüməsi, 50 Qr –dən böyük dozalarda isə, əksinə, azalması müşahidə edilmişdir.

Bu nəticələrin əsasında xiyar bitkisi üçün ionlaşdırıcı şüalanmanın stimullaşdırıcı doza qiymətinin 5 Qr -ə bərabər olması fikrini söyləmək mümkündür. 10 Qr –dən yuxarı şüalanma dozaları isə xiyar üçün ingibirləşdirici doza oblastı kimi qəbul oluna bilər.

Birinci nəsil bitkinin toxumlarında baş verən dəyişikliklərə gəldikdə fərqli mənzərənin şahidi oluruq. Belə ki, bu halda meyvələrin biometrik ölçü və kütlələrində şüalanma dozasından asılı böyük miqyaslı dəyişmələr müşahidə olunmur. Yalnız 100 Qr -dən yuxarı dozalarda adı çəkilən parametrlərin qiymətlərində cüzi kiçilmələr müşahidə olunur. Başqa sözlə desək, γ – şüalanma müəyyən doza oblastında xiyarın məhsuldarlığını stimullaşdırdığı halda, birinci nəsilə, əksinə, məhsuldarlığın azalmasına səbəb olur.

Ən çox diqqəti cəlb edən valideyn bitkidə baş verən dəyişikliklərin birinci nəsilə tam təkrar olunmamasıdır. Belə ki, valideyn bitkidə kiçik dozalarda radiasiyanın təsirinə kifayət qədər həssaslıq göstərən xiyar toxumları birinci nəsilə bu şüalanmanın təsirini demək olar ki, “hiss” etmir. Bu bitkinin meyvəsinin nə kütləsi, nə də biometrik ölçüləri kontrollu müqayisədə əhəmiyyətli dəyişmələrə məruz qalmır. Hesab etmək olar ki, şüalanmanın təsiri ilə bu bitkinin özündə adaptiv uyğunlaşma əlamətləri formalaşır və bunun da nəticəsində birinci nəsil bitki şüalanmanın təsirinə kifayət qədər rezistentlik göstərə bilər.

Qeyd edək ki, elmi ədəbiyyatda toxumları səpindən əvvəl şüalanmış bitkilərin sonrakı nəsillərində baş verən proseslərə dair müxtəlif məlumatlar mövcuddur. Məsələn, bir sıra işlərdə bizim aldığımız nəticələrlə ziddiyyət təşkil edən nəticələr alınmışdır. Bu halda bitkinin özündə baş verən mənfi effekt, birinci nəsilə müsbət effektdə çevrilə bilmişdir [Глуценко, Захарова, 1960; Порядкова, 1958]. Digər bir işdə toxumları 10000 R dozada şüalanmış buğda bitkisinin müşahidə olunan mənfi effekt, birinci nəsilə daha da güclənmiş olur. Yüksək

dozalarda şüalanmış bitkilərdə isə mənfi effekt hətta 3-cü nəsildə də saxlanıla bilər. Kiçik dozalar halında isə üçüncü nəsil bitkilərin məhsuldarlığı kontroldakı kimi olmuşdur [Miller, 1965].

Qeyd edək ki, kiçik dozalı ionlaşdırıcı şüalanmanın bitkilərə təsiri problemi uzun müddət tədqiqatçıların diqqət mərkəzində olmuşdur. Bu problemə bu gün də marağın olması bir çox məqamlarla, əsasən də ətraf mühitin qlobal radioaktiv çirklənməsi ilə əlaqədardır. Çox yəqin ki, bu məsələlərin həlli böyük praktiki əhəmiyyət kəsb etməklə yanaşı, həm də kiçik dozalı ionlaşdırıcı şüalanmanın təsir mexanizminin aydınlaşdırılması baxımından mühüm elmi əhəmiyyətə malik olmalıdır. Bu günə qədər də kiçik dozalı ionlaşdırıcı şüalanmanın antioksidant müdafiə sisteminin elementləri səviyyəsində bitkilərə hansı formada təsir edə bilməsi məsələlərinə aydınlıq gətirmək mümkün olmamışdır. Aydın deyildir ki, hüceyrələrdə baş verən biokimyəvi çevrilmələr son nəticədə nəyə səbəb olur.

Səpindən əvvəl toxumları müxtəlif dozalarda ionlaşdırıcı şüalanmanın təsirinə məruz qalmış xiyar bitkisinin özündə və onun birinci nəsildə antioksidant mühafizə fermentlərinin aktivliklərinin udulma dozasından asılı dəyişmə dinamikasının tədqiqi

Məlum olduğu kimi, ionlaşdırıcı şüalanmanın təsirinə bitkilərin ilkin ümumi qeyri spesifik reaksiyası superoksid radikallar, sinqlet oksigen, peroksid birləşmələri kimi oksigenin aktiv formalarının (OAF) yaranması ilə nəticələnir. Bu cür toksiki, kimyəvi aktiv maddələrin xloroplastların zülalları və DNT-si ilə qarşılıqlı təsirdə olması isə ciddi struktur və funksional pozulmalar yaradır. Belə ki, hüceyrədə OAF-ın toplanması həm transkripsiya və replikasiya proseslərinin gedişini, həm də membranlarda lipidlərin tərkibini dəyişdirə bilər. Bu zaman superoksid radikallar zülalları modifikasiya edir, DNT-nin quruluşunu pozur, hormonları və digər funksional aktiv maddələri dağıdır.

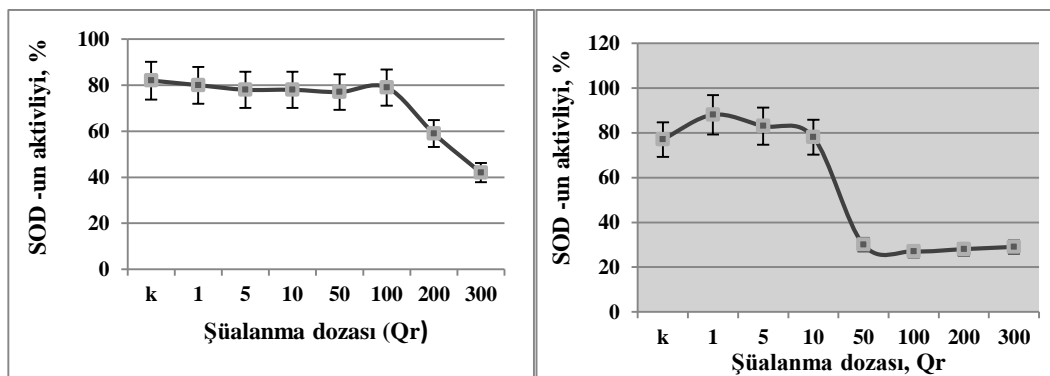
Normal fizioloji şəraitdə OAF-nın konsentrasiyası və onların törətdiyi lipidlərin peroksid oksidləşməsi hüceyrə və bütöv orqanizm üçün toksiki təsirə malik olmayan kifayət qədər aşağı stasionar səviyyəyə malik olur. Əlverişsiz şəraitin təsirinə cavab olaraq, bitkilərdə oksigenin aktiv formalarının əmələ gəlmə prosesi sürətlənir.

OAF-nın struktur dağıntıları yarada bilməsinə imkan verməmək üçün onlar tez bir zamanda aktivləşdirilməlidir. Məlum olduğu kimi, əmələ gələn OAF-nın təsirindən hüceyrənin və bitkilərdə fotosintetik aparatın müdafiə olunma funksiyasını yüksək aktivliyə malik antioksidant mühafizə sistemi (AOMS) həyata keçirir. AOMS - kiçik və böyük molekullu birləşmələrdən təşkil olmuşdur ki, bunlardan da böyük molekullu antioksidant sistemə katalaza (KAT), superoksiddismutaza (SOD), askorbatperoksidaza (APO) kimi fermentlər daxildir.

AOMS komponentləri sərbəst radikal əmələgəlmə proseslərini ləngitməklə, sərbəst radikal əmələgəlmə və toxumalarda lipidlərin peroksid oksidləşməsi proseslərini normal səviyyəsini saxlayır.

Dediklərimizdən aydın olur ki, superoksid radikallar və oksigenin digər aktiv formalarının toksiki təsirindən qorunma vasitəsi onların SOD, KAT və APO kimi xüsusi fermentlərin köməyi ilə dağıdılmasıdır.

Superoksiddismutaza. Superoksiddismutaza (SOD) fermentinin aktivliyinin həm valideyn, həm də birinci nəsil bitkilər üçün şüalanma dozasından asılılığının tədqiqinə dair aldığımız nəticələr şəkil 2 -də öz əksini tapmışdır.



Şək. 2. Superoksiddismutaza fermentinin aktivliyinin udulma dozasından asılı dəyişmə dinamikası (ağ fonlu qrafiklər bitkinin özünə, qara fonlu qrafiklər isə onun birinci nəslinə aid nəticələrdir).

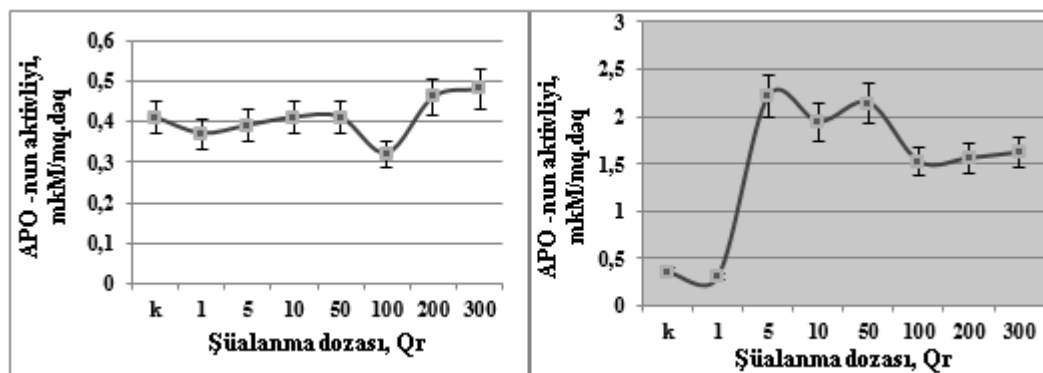
Nəticələrin təhlilindən aydın olur ki, tədqiq olunan bitkinin özündə və onun sonrakı nəsində SOD-un aktivliyinin şüalanma dozasından asılı dəyişmə dinamikasında müəyyən oxşarlıq mövcuddur. Belə ki, hər iki halda bitkidə bu fermentin aktivliyi aşağı doza oblastında şüalanma dozasının artması ilə dəyişməz qalır. Başqa sözlə desək, aşağı dozalarda hər iki halda bu fermentin aktivliyində əsaslı dəyişmələr baş vermir və SOD-un aktivliyinin azalması böyük doza oblastını əhatə edir. Hər iki halda böyük doza oblastında şüalanma dozasının artması bu fermentin aktivliyinin 2.5 – 3 dəfəyə qədər azalmasına səbəb olur.

Ümumiyyətlə götürdükdə, aşağı doza oblastında həm bitkinin özündə, həm də onun birinci nəsində SOD fermenti yüksək, yuxarı doza oblastında isə kiçik aktivlik nümayiş etdirir. Belə çıxır ki, bitkinin özündə müşahidə olunan mənfi effekt sonrakı nəsildə də saxlanılır.

Asılılıqlardakı birinci fərq valideyn bitki üçün SOD –un aktivliyinin dəyişməz qaldığı doza oblastının 1–100 Qr -ə bərabər olması, birinci nəsil üçün bunun 1 – 50 Qr - ə bərabər olmasıdır.

Asılılıqlardakı ikinci fərq isə ondan ibarətdir ki, bitkinin özü üçün SOD–un aktivliyi 100 – 300 Qr doza oblastında müntəzəm azaldığı halda, birinci nəsil bitkidə bu fermentin aktivliyi 50 – 100 Qr doza oblastında azalır, 100 – 300 Qr doza oblastında isə yenidən dəyişməz qalır.

Askorbatperoksidaza. APO fermentinin aktivliyinə dair aldığımız nəticələr şəkil 3-də öz əksini tapmışdır.



Şək. 3. Askorbatperoksidaza fermentinin aktivliyinin udulma dozasından asılı dəyişmə dinamikası (ağ fonlu qrafiklər bitkinin özünə, qara fonlu qrafiklər isə onun birinci nəslinə aid nəticələrdir).

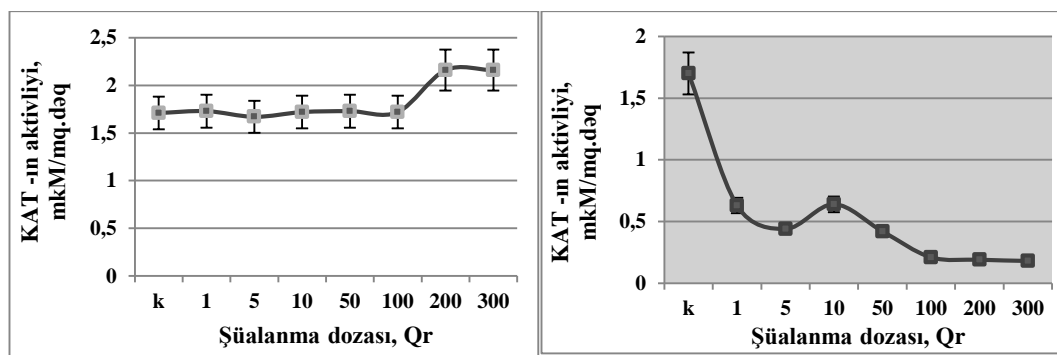
Nəticələrdən aydın olur ki, xiyar bitkisinin kontrol nümunəsi sərbəst radikalların dağıdıcı təsirindən onu mühafizə edən yüksək APO aktivliyinə malik olur. Toxumların γ – şüalarla

işlənməsi isə bu fermentin aktivliyində əhəmiyyətli dəyişmələr yarada bilmir. Belə ki, şüalanma dozasının 1 Qr – dən 50 Qr -ə qədər artması, kiçik kənarçıxmaları nəzərə almasaq, ferment aktivliyinin, demək olar ki, sabit qalmasına, şüalanma dozasının 50 Qr – dən 300 Qr -ə qədər artması isə aktivliyin müntəzəm olaraq çox da böyük olmayan artmasına səbəb olur.

Bitkinin birinci nəsl üçün APO fermentinin aktivliyinə dair aldığımız nəticələr valideyn bitki üçün nəticələrdən fərqlənir. Belə ki, şüalanma dozasının 1 Qr -dən 10 Qr -ə qədər artması bu fermentin aktivliyinin kəskin artmasına səbəb olur. Şüalanma dozasının 10 Qr -dən 100 Qr -ə qədər artması isə aktivlikdə əsaslı dəyişmələr yarada bilmir. 100 - 200 Qr doza intervalında APO fermentinin aktivliyi nəzərəçarpacaq azalır və şüalanma dozasının sonrakı artımı ferment aktivliyini dəyişdirmir.

Alınmış nəticələrin əsasında “tədqiq etdiyimiz bitkinin özündə müşahidə olunan müsbət effekt daha kəskin formada birinci nəsildə də saxlanılır” fikrini söyləmək mümkündür.

Katalaza. KAT fermentinin aktivliyinin şüalanma dozasından asılılığının tədqiqinə dair aldığımız nəticələr şəkil 4 - də yerləşdirilmişdir.



Şək. 4. Katalaza fermentinin aktivliyinin udulma dozasından asılı dəyişmə dinamikası (ağ fonlu qrafiklər bitkinin özünə, qara fonlu qrafiklər isə onun birinci nəslinə aid nəticələrdir).

Nəticələrdən aydın olur ki, tədqiq etdiyimiz bitkidə KAT fermentinin aktivliyinin şüalanma dozasından asılı dəyişmə dinamikası APO fermentinin aktivliyinin dəyişmə dinamikasından fərqlənmir. Belə ki, bu fermentin aktivliyi də bitkinin kontrol nümunəsində kifayət qədər yüksəkdir və şüalanma dozasının 1 Qr - dən 50 Qr -ə qədər artması ferment aktivliyini dəyişdirmir, 50 Qr -dən 300 Qr -ə qədər artması isə aktivliyin çox da böyük olmayan artmasına səbəb olur.

Tədqiq etdiyimiz bitkinin birinci nəsində isə KAT fermentinin aktivliyi APO fermentinin aktivliyindən əsaslı surətdə fərqlənir. Belə ki, 1 Qr -ə bərabər dozada şüalanma bu bitkinin birinci nəsində KAT fermentinin aktivliyini kəskin azaldır, şüalanma dozasının sonrakı artımı (300 Qr -ə qədər) isə ferment aktivliyinin irimiqyaslı olmayan müntəzəm azalmasına səbəb olur.

Radiasiya stressi şəraitində antioksidant fermentlərin fəaliyyətinə dair aldığımız nəticələri ümumiləşdirərək, bitkilərin antioksidant müdafiə sistemi elementlərinin bu prosesdə fəal iştirak etməsi fikrini söyləmək mümkündür.

Məlum olduğu kimi, bitkilərin məruz qaldığı stress şəraitlərdə yaranan superoksid anion radikallar hidrogen peroksida çevrilir ki, bunlar da sonradan KAT fermenti tərəfindən inaktivasiya olunur. Bu prosesdə APO-nun rolu isə həm suyun, həm də membran lipidlərinin doymamış yağ turşularının radiolizi nəticəsində yaranmış üzvi peroksidləri inaktivasiya etməkdir [Крёмович, 1986].

Tədqiq etdiyimiz fermentlərin yüksək radiasiya şəraitində bitkilərin rezistentliyinin endogen fonunun formalaşmasında mühüm rol oynamasını nəzərə alaraq, hesab etmək olar ki,

tədqiq etdiyimiz fermentlər radiasiya stressi şəraitində müəyyən mənada uzlaşmış fəaliyyət göstəriciləri və bu formada fəaliyyət şüalanma dozasından asılı olmaqla yanaşı, həm də bitkinin özündə və onun sonrakı nəsində eyni olmur. Daha dəqiq desək, aşağı doza oblastında (1 – 50 Qr) bitkinin özündə SOD yüksək aktivlik nümayiş etdirdiyi halda, APO və KAT nisbətən kiçik aktivlik nümayiş etdirir. Yuxarı doza oblastında isə SOD-un aktivliyinin azalması APO və KAT fermentlərinin aktivliklərinin artması fonunda baş verir. Bitkinin sonrakı nəsində isə aşağı doza oblastında SOD və APO yüksək, KAT isə kiçik aktivliyə malik olurlar, yuxarı doza oblastında isə, əksinə, SOD və KAT kiçik, APO isə yüksək aktivlik nümayiş etdirir.

İonlaşdırıcı şüalanmanın ən maraqlı xüsusiyyətlərindən birinin onun uzaq təsirə malik olması, yəni təsirlərin nəticələrinin ilkin şüalanma baş verən müddətdən keçən bir neçə ay və hətta bir neçə ildən sonra üzə çıxmasıdır. Ona görə də keçən müddət ərzində ilkin “zədələnmələrin” şüalanmış orqanizmdə hansı formada saxlanılmasının öyrənilməsi xüsusi əhəmiyyət kəsb edir. Daha böyük əhəmiyyət kəsb edən isə bu müddət ərzində baş verən proseslərə müdaxilə etməklə onun arzuolunmaz effekt yaratmasının qarşısının alınmasının mümkün olub-olmamasının sübut olunmasıdır.

Çox təəssüf ki, bu suallar bu gün də öz cavabını tapmamışdır. Sadəcə olaraq, hesab etmək olar ki, şüalanmış orqanizmdə baş verən dəyişikliklərin aşkar edilməsi istiqamətində aparılan tədqiqatların nəticələrindən orqanizmdə ilkin dəyişikliklərin inkişafı, ötürülməsi və saxlanması mexanizmlərinin aydınlaşdırılması üçün ilkin məlumatlar kimi istifadə etmək mümkündür.

Ədəbiyyat

1. Глущенко И.Е. Захарова Г.М. - Труды Института генетики, М. 1960, с. 304-310.
2. Долгова Т.А., Бабак Е.Н., Кузнецова Ю.А. и др. Цитологические и морфологические проявления радиопдаптивного ответа у растений в связи с генотипом, условиями выращивания и старением семян. 7 Пушинская школа-конференция молодых ученых, Сборник тезисов. Пушино, 2003, с.166.
3. Кретович В.Л. Биохимия растений. М.: Высш. школа, 1986, 503 с.
4. Маргулис М.А., Маргулис И.М. О механизме биологического действия ионизирующей радиации // Журнал физической химии, 2005, т. 79, №6, с. 1142-1151.
5. Миллер А.Т. Радиационное последствие на рост растений. В кн. Ионизирующие излучения в биологии. Рига. 1965. стр.33-39.
6. Порядкова Н.А. Действие ионизирующих излучений на рост и урожай гороха. Автореферат канд. диссертация, Свердловск 1958, 23 с.
7. Серебряный А.М., Зоз Н.Н. Радиационный адаптивный ответ у пшеницы. Феноменология и вероятный механизм // Радиационная биология. Радиоэкология, 2001, т. 41, №5, с. 589-598.
8. Цыпугина В.Г. Эквидозиметрический подход к оценке действия радиоактивного и химического загрязнения на природные популяции гидробионтов // Доп. Нац. АН Украины, 2002, №3, с. 204-208.
9. Цыпугина В.Г., Флору Х., Поликарпов Г.Г. Мультиабберрантные клетки и пикноз ядер у гидробионтов из района с повышенным содержанием естественных радионуклидов // Мор. экол. ж., 2005, 4, №1, с. 84-90.
10. Шершунова В.И. Генетические тест-системы растений и малые дозы радиации // 2 Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров. Санк-Петербург, 1-5 февр., 2000, Тезиси докладов. Т.2, СПб, 2000, с.178-179.

11. Эйдуc Л.Х. О механизме индукции репарации повреждений ДНК при действии ионизирующего излучения на клетки // Радиационная биология. Радиозэкология, 2000, т. 40, №6, с.674-677.
12. Giannopolites C.N., Ries S.K. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants // Plant Physiol., 1997, v. 59, №2, p. 309-315.
13. Gudkova N.V., Kosakivska I.V. The effect of γ -irradiation on the protein synthesis in wheat / Abstr. 11th Congress of the Federation of European Societies of Plant Physiology, Varna, 7-11 Sept. 1998. Bulg. J. Plant Physiol., 1998, Spec. issue. p. 247.
14. Guo Jian-hui, Huang Xi-dong. Mutational selection in vitro kidneys on cuts of a banana. III. Estimation of outstanding lines of mutant posterity. Fujian nongye daxue xuebao. // J. Fujian Agr. Univ. 2001, 30, №4, с.473-476.
15. Lindahi T., Sedgwick B., Sektguchi M., Nakabeppu Y. Antioxidant Status of Plantain // Ann. Rev. Biochem., 1988, v. 57, № 1, p. 133-157.
16. Rios -Gonzales K., Erdei L., Lips S.H. The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and different nitrogen sources // Plant sci., 2002, v. 162, p. 923-930.
17. Zaka R., Chenal C., Missset M.T. Study of external low irradiation dose effects on induction of chromosome aberrations in *Pisum sativum* root tip on induction of chromosome aberrations in *Pisum sativum* root tip meristem // Mutat. Res. Genet. Toxicol. And Environ. Mtagen. 2002, 517, №1-2, с. 87-99.

THE EFFECT OF SEED IRRADIATION ON THE FUNCTIONING OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN *CUCUMIS SATIVUS* AND IN ITS FIRST GENERATION

K.G. Karaeva¹, E.S. Jafarov¹, G.G. Babayev²

¹*Institute of Radiation Problems of ANAS*

²*Institute of Molecular Biology and Biotechnology of ANAS*

Abstract: In the present work, the effect of presowing γ - irradiation in different doses on the growth and development of the cucumber itself and its subsequent first generation was studied for the first time. In addition, based on the dynamics of a dose-dependent change in the activity of antioxidant enzymes, such as superoxide dismutase, catalase and ascorbate peroxidase, the functioning of the antioxidant protection system was evaluated both in the plant itself and in the next generation.

It is shown that, compared with the control, there are obvious differences in the biometric indices of both the parent cucumber, the seeds of which were subjected to pre-seed γ -irradiation, and its first generation. More precisely, ionizing radiation in small doses, acting as a growth stimulator, leads to an increase in the size and mass of the fruits of cucumber, and in large doses, on the contrary, the effect of γ - irradiation inhibits the development of fruits.

It has been established that during radiation stress, in the protection of cells from the harmful effects of radiation, individual components of antioxidant protection function interconnectedly and in a coordinated manner.

Keywords: *Cucumis sativus*, preseeded γ - seed irradiation, parent and first generation plants, antioxidant enzymes, catalase, ascorbate peroxidase, superoxide dismutase

**ВЛИЯНИЕ γ – ОБЛУЧЕНИЯ СЕМЯН НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ
АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В РАСТЕНИИ *CUCUMIS SATIVUS* И В ЕЕ
ПОСЛЕДУЮЩЕМ ПОКАЛЕНИИ**

К.Г. Караева¹, Э.С. Джафаров¹, Г.Г. Бабаев²

¹*Институт Радиационных Проблем НАНА*

²*Институт Молекулярной Биологии и Биотехнологии НАНА*

Резюме: В представленной работе впервые исследовано влияние предпосевого γ - облучения в разных дозах на рост и развитие самого огурца и его последующего первого поколения. Кроме того, на основе динамики доза-зависимого изменения активности антиоксидантных ферментов, таких как супероксиддисмутаза, каталаза и аскорбатпероксидаза было оценено функционирование системы антиоксидантной защиты как в самом, так и в последующем поколении этого растения.

Показано, что по сравнению с контрольными существуют очевидные различия в биометрических показателях как родительского огурца, семена которого подверглись к предпосевному γ – облучению, так и его первого поколения. Точнее, ионизирующее излучение в малых дозах, действуя как стимулятор роста развития, приводит к увеличению размеров и массы плодов огурца, а в больших дозах, наоборот, влияние γ – облучения ингибирует развития плодов.

Установлено, что при радиационном стрессе в защите клеток от вредного воздействия радиации отдельные компоненты антиоксидантной защиты функционируют взаимосвязано и координированно.

Ключевые слова: *Cucumis sativus*, предпосевное γ - облучение семян, родительское и первое поколение растения, антиоксидантные ферменты, каталаза, аскорбатпероксидаза, супероксиддисмутаза