

УСТОЙЧИВОСТЬ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК *DUNALIELLA*, МОДИФИЦИРОВАННЫЕ СИНТЕТИЧЕСКИМИ АНТИОКСИДАНТАМИ В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОЙ СОЛЕННОСТИ

Г.И. Али-заде^{1*}, А.Р. Джалилова², И.И. Алиев², Х.Х. Маггеррамова²

¹Кафедра биофизики и молекулярной биологии, Бакинский Государственный Университет, Баку, Азербайджан

²Лаборатория Биотехнологии, Бакинский Государственный Университет, Баку, Азербайджан

THE STABILITY OF FUNCTIONAL ACTIVITY IN *DUNALIELLA* CELLS MODIFIED BY SYNTHETIC ANTIOXIDANTS IN HIGH-SALT ENVIRONMENTS

G.I. Alizadeh, A.R. Jalilova, I.I. Aliev, Kh.Kh. Magerramova (Baku State University, Baku, Azerbaijan)

Резюме. На основании полученных результатов показано, что модификация клеток синтетическими антиоксидантами в течение 24 часов в условиях высокой солености, снижают сумму синтезированных каротиноидов и процесс ПОЛ, а также повышает активность каталазы. Выявлено, что клетки *Dunaliella*, модифицированные синтетическими антиоксидантами, в условиях высокой солености, проявляют повышенную функциональную устойчивость к действию различных острых доз УФ-В излучения.

Abstract. In this work, have been presented, that the modification of (SA) cells within 24 hours in high-salt environments decreases amount of synthesized carotenoids, also increases catalase activity and decreases POActivity. It became clear, that cells modified by (SA) in high-salt environments show higher functional stability against the influence of of further various acute doses of UV-B radiation.

Ключевые слова: *Dunaliella*, соленость, синтетические антиоксиданты, УФ-В излучение.

Keywords: *Dunaliella*, high- salt, synthetic antioxidants, UV-B radiation.

***Гафар Али-заде**, Кафедра биофизики и молекулярной биологии, Лаборатория Биотехнологии, Бакинский Государственный Университет, ул. З. Халилова, 23, Баку, Азербайджан, e-mail: galizadeh@mail.ru

Поступила в редакцию: 2 Июня 2017

1. Введение

Известно большое число синтетических соединений, которые при экзогенном применении регулируют рост и развитие растений. Соединения, которые тормозят рост растений путем ингибирования растяжения клеток и их деления, называются ретардантами роста, и есть, которые выполняют ростостимулирующее действие [2, 9]. Значительный интерес представляют исследования особенностей действия синтетических антиоксидантов, как ионол и его аналог 2,6 ди-*трет*-бутил фенол, которые относятся к классу пространственно - затрудненных фенолов [4]. Для эффективного использования

антиоксидантов необходимо связать химию и биологию антиоксидантов, т.е. зависимость биологической активности антиоксидантов от их свойств как ингибиторов радикальных реакций, а также их эффективной концентрации [1, 8]. Активно изучалась возможность использования антиоксидантов в растениеводстве в качестве стимуляторов роста [3]. Известно также, в больших концентрациях синтетические антиоксиданты начинают действовать в обратном направлении и не тормозить, а напротив-ускорять свободно-радикальные реакции [1].

Очень мало сведений о действии синтетических антиоксидантов и их антирадикальными свойствами в зеленых микроводорослях [1]. В связи с этим целью нашей работы явилось исследование влияния различных концентраций синтетических антиоксидантов 2,6 ди-*трет*-бутил крезола (ионол- классический синтетический антиоксидант) и (его аналог) 2,6 ди-*трет*-бутил фенола на рост, активность эндогенной антиоксидантной системы водоросли *Dunaliella* и их УФ-защитной активности в клетке, в условиях высокой солености.

2. Материалы и методы

Объектом исследования служила галофильная зеленая микроводоросль *Dunaliella salina* IPPAS D-294, выделенная из соленого озера Масазыр находящегося на северо-западе территории города Баку.

Водоросли выращивали при температуре 27°C в стеклянных фотореакторах (250 мл), на установке для выращивания культур одноклеточных водорослей. Минеральная среда содержала (г/л): NaCl – 175,5 (3,0 M); KNO₃ – 5,0; KH₂PO₄ – 1,25; MgSO₄ – 50; FeSO₄ – 0,009 раствор микроэлементов (мг/л) – Ca(NO₃)₂ • H₂O – 735; H₃BO₃ – 735; ZnSO₄ • 7H₂O – 615; (NH₄)MoO₄ – 100; MnCl₂ • 4H₂O – 180. Суспензию клеток в фотореакторах в течение 24 часов освещали белым светом (16 Вт/м²) и непрерывно продували смесью (воздух+1,5% CO₂) с температурой 25°C. Источником УФ-В излучения служила ртутная лампа СВД-120. Клетки выращивали в течение 24 часов, в интенсивно-накопительном режиме культивирования и освещали круглосуточно. Рост культуры определяли периодическим подсчетом числа клеток в камере Горяева под микроскопом или нефелометрическим измерением оптической плотности суспензии на фотоэлектроколориметре.

Содержание пигментов в клеточных экстрактах (100% ацетон) измеряли на спектрофотометре и рассчитывали на основании коэффициентов Ветштейна [5].

Для измерения фотосинтетической активности клеток, выращенные водоросли осаждали центрифугированием 3000 об/мин в течение 10 минут при комнатной температуре и переносили на свежеприготовленную минеральную среду. Плотность суспензии клеток доводили до 10⁶ кл/мл (оптическая плотность OD=0,8). Скорость выделения кислорода клетками измеряли на полярографической установке, с применением платинового электрода Кларка, освещая суспензию в термостатированном объеме, белым светом насыщающей интенсивности (100 Вт/м²).

Для измерения каталазной активности клеток, суспензию осаждали центрифугированием (3000 об/мин.). Осадок переносили в ступку с 0,5г CaCO₃,

добавляли 5 мл дистиллированной воды и растирали до однородной массы. После этого полученную массу количественно переносили в стакан емкостью 50 мл до метки и настаивали при периодическом взбалтывании 3-4 часа. В течение этого времени идет экстракция фермента из растительного материала. После настаивания суспензию фильтровали в сухой стакан. Активность каталазы измеряли газометрическим методом, который основан на определении объема после прибавления к водному экстракту из растений, содержащему каталазу, перекиси водорода [7].

Оценка степени перекисного окисления липидов (ПОЛ) была проведена по методу определения содержания МДА в клетках *Dunaliella salina* - методом, основанным на реакции с тиобарбитуровой кислотой.

Суспензию клеток (35 мл) центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 минут. Полученный осадок гомогенизировали в 20 мл 0,1%-ой ТХУ. Гомогенат центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 минут. К 1мл супернатанта добавляли 4 мл 20% ТХУ, содержащую 0,5% ТБК. Смесь нагревали в водяной бане при 95⁰С в течение 30 мин. и сразу охлаждали под проточной водой. После центрифугирования смеси при 3000 об/мин в течение 10 минут, определяли оптическую плотность супернатанта при 532 нм [6].

3. Результаты и обсуждение

На рисунке 1 представлена зависимость роста популяции клеток *Dunaliella salina* IPPAS D-294 от различных концентраций 2,6 ди-*трет*-бутил крезола (ионола) (1) и 2,6 ди-*трет*-бутил фенола (2) в минеральной среде, в условиях высокой солености. Как видно из рисунка, присутствие ионола и 2,6 ди-*трет*-бутил фенола в среде выращивания заметно влияет на рост культуры.

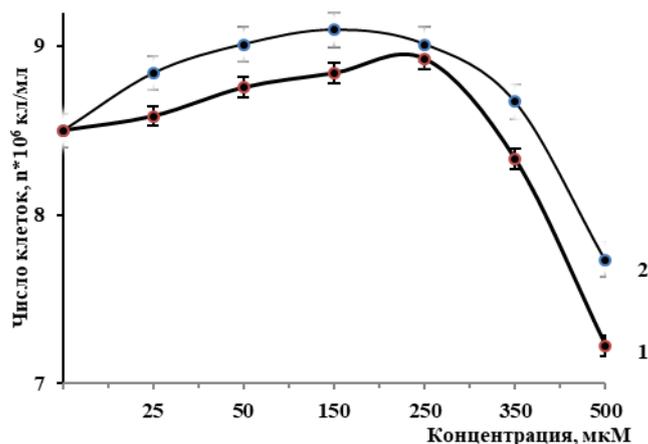


Рис.1. Зависимость роста популяции клеток *Dunaliella salina* IPPAS D-294 от различных концентраций 2,6 ди-*трет*-бутил крезола (1) и 2,6 ди-*трет*-бутил фенола (2) в минеральной среде, в условиях высокой солености (3,0М NaCl). Температура 27⁰С, интенсивность света 16 Вт/м²

Так, при концентрациях 25 мкМ и 50 мкМ в минеральной среде ионола рост клеток увеличивается на 4 % и 6% соответственно, а в присутствии 2,6 ди-*трет*-бутил фенола 1% и 3% по отношению с контрольным суспензиям. Значит, ионол и 2,6 ди-*трет*-бутил фенол при низких концентрациях 25 мкМ и 50 мкМ сопоставимы с активностью обычных фитогормонов. При концентрациях 150; 250 и 350 мкМ в минеральной среде, в условиях высокой солености (3,0 М NaCl) ростостимулирующее действие ионола составляет 7%; 6%; 2% соответственно и 2,6 ди-*трет*-бутил фенола при 150 мкМ составляет 4%; 250 мкМ - 5%; 350 мкМ заметно подавляется. При повышении содержания ионола и 2,6 ди-*трет*-бутил фенола в минеральной среде примерно на порядок (500 мкМ) оно приобретает обратный знак, наблюдается подавление (9%) и (15%) соответственно роста культуры в течение 24 часового культивирования в интенсивно-накопительном режиме, в условиях высокой солености (3,0 М NaCl).

Выраженная ростостимулирующая активность при концентрациях ионола 25-350 мкМ и 2,6 ди-*трет*-бутил фенола 25-250 мкМ в условиях высокой солености делает эти антиоксиданты перспективными и эффективными средствами доступной и надежной регуляции (активации) роста культуры клеток *Dunaliella salina* IPPAS D-294.

Выявленное нами регулирующее рост и развитие водорослей действие ионола по сравнению с действием 2,6 ди-*трет*-бутил фенола, который по структуре идентичен ионолу, однако лишен метильной группы, оказался также эффективным антиоксидантом, физиологически активным. Это соединение обладает аналогичным ионолу действием: выращенные в присутствии 25 мкМ - 250 мкМ 2,6 ди-*трет*-бутил фенола при высокой солености наблюдается стимуляция роста водорослей при интенсивном культивировании (рис.1, кривая 1). Концентрации 350 мкМ и 500 мкМ, подавляют биопродуктивность клеток при 24 часовом культивировании, в условиях высокой солености. Таким образом, в присутствии 2,6 ди-*трет*-бутил фенола в минеральной среде с различными концентрациями по показателям роста он действует как антиоксидант, аналогично ионолу. Не исключено, что синтетический антиоксидант 2,6 ди-*трет*-бутил крезол (ионол) и аналог 2,6 ди-*трет*-бутил фенол имитируют и даже играют роль ростостимулирующего агента.

Для выяснения функциональной активности *Dunaliella salina* IPPAS D-294 при модификации водорослей в течение 24 часов с различными концентрациями синтетических антиоксидантов ионола и 2,6 ди-*трет*-бутил фенола в минеральной среде в условиях высокой солености показали, что синтетические антиоксиданты в исследованном диапазоне подавляют фотосинтетическое выделение кислорода суспензией клеток.

На рисунке 2 представлены результаты фотосинтетического выделения кислорода клетками *Dunaliella salina* IPPAS D-294, выращенными при различных концентрациях 2,6 ди-*трет*-бутил крезола (1) и 2,6 ди-*трет*-бутил фенола (2) в минеральной среде, в условиях высокой солености. Как видно из рисунка, фотосинтетическое выделение кислорода клетками *Dunaliella salina* IPPAS D-294, при модификации различными концентрациями ионола (25-500 мкМ) несмотря на ростовую стимуляцию при концентрациях 25 мкМ-350 мкМ (рис.2 кривая 1) значительно подавляется уже при концентрации 25 мкМ (5%). Модификация

клеток ионолом высокой концентрации 50-150 мкМ подавляет функцию клеток на 12-13%, а при 350-500 мкМ до 20-28%.

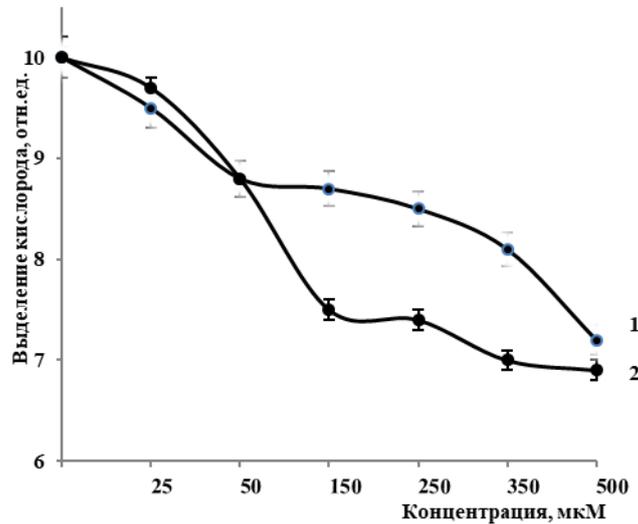


Рис. 2. Фотосинтетическое выделение кислорода клетками *Dunaliella salina* IPPAS D-294, выращенными при различных концентрациях 2,6 ди-*т*-*р*-*е*-*т*-бутил крезола (1) и 2,6 ди-*т*-*р*-*е*-*т*-бутил фенола (2) в минеральной среде, в условиях высокой солености (3,0 М NaCl). Температура 40⁰С, интенсивность света 100 Вт/м²

Исследование фотосинтетического выделения кислорода клетками *Dunaliella salina* IPPAS D-294, выращенными при различных концентрациях 2,6 ди-*т*-*р*-*е*-*т*-бутил фенола в минеральной среде, в условиях высокой солености показало, что концентрации 2,6 ди-*т*-*р*-*е*-*т*-бутил фенола (25-500 мкМ) приводят к подавлению функциональной активности клеток *Dunaliella*. В данном случае наблюдаемое подавление функции 2,6 ди-*т*-*р*-*е*-*т*-бутил фенолом значительно отличаются от антиоксиданта ионола, так при концентрациях 25 мкМ и 50 мкМ подавление функциональной активности клеток незначительно 3% и 12% соответственно. Увеличение концентрации 150 мкМ и 250 мкМ приводит к резкому снижению 25% и 26% фотосинтетического выделения кислорода клетками, а концентрации 350 мкМ и 500 мкМ 30% и 31%, что не наблюдается в исследованиях с ионолом. Несмотря на то, что растительные клетки обычно обладают высоким уровнем антиокислительной активности. Нам хотелось исследовать, в какой степени, использованные синтетические антиоксиданты в среде выращивания в течение 24 часов культивирования в условиях высокой солености могут повлиять на активность эндогенных низкомолекулярных (каротиноиды) и высокомолекулярных (каталаза) антиоксидантов, а также на процесс перекисного окисления липидов.

В таблице 1 представлены показатели роста, пигментообразования, каталазной активности и количества образованного МДА в клетках *Dunaliella* в контроле и при обработке клеток антиоксидантом 2,6 ди-*т*-*р*-*е*-*т*-бутил крезолом (ионол) с различными концентрациями в течение 24 часового культивирования, в условиях высокой солености. Как видно из таблицы, модификация суспензии клеток при концентрациях 25 мкМ и 50 мкМ ионола приводит к повышению

активности эндогенной каталазы на 21% и 25%. Повышение концентрации 150; 250; 350 мкМ ионала приводит к увеличению каталазной активности на 32%; 36%; 50% соответственно.

Таблица 1. Показатели роста, пигментообразования, каталазной активности и количества образованного МДА в клетках *Dunaliella* в контроле и при обработке клеток антиоксидантом 2,6 ди-трет-бутил крезолом в условиях высокой солености (3,0М NaCl)

	Рост, OD		Каталазная активность, мкМ H ₂ O ₂ мл ⁻¹ мин ⁻¹ .				Количество пигментов, мг/л.			Содержание МДА, моль/г сырого веса
			5	10	15	20	Ca	Сb	Скар.	
К	0,3	0,85±0,03	0,4	0,9	1,2	1,4	3,13±0,05	1,64±0,05	1,06±0,1	0,75*10 ⁻³ ±0,05
O ₁	0,3	0,88±0,03	0,6	0,9	1,30	1,7	2,98±0,05	1,58±0,05	1,05±0,1	0,95*10 ⁻³ ±0,05
O ₂	0,3	0,9±0,03	0,6	1,05	1,35	1,75	2,52±0,05	1,24±0,05	1,08±0,1	1,26*10 ⁻³ ±0,05
O ₃	0,3	0,91±0,03	0,7	1,1	1,45	1,85	3,01±0,05	1,59±0,05	1,08±0,0	0,5*10 ⁻³ ±0,05
O ₄	0,3	0,9±0,03	0,65	1,2	1,6	1,9	2,75±0,05	1,65±0,05	0,85±0,1	0,45*10 ⁻³ ±0,05
O ₅	0,3	0,87±0,03	0,75	1,4	1,8	2,1	2,52±0,05	1,39±0,05	0,81±0,1	0,5*10 ⁻³ ±0,05
O ₆	0,3	0,77±0,03	0,35	0,65	0,85	1,0	2,57±0,05	1,39±0,05	1,12±0,1	0,3*10 ⁻³ ±0,05

Примечание: оптическая плотность OD=0,8; Температура 27⁰С, интенсивность света 16 Вт/м²; К-контроль; O₁-обработка 2,6 ди-трет-бутил крезолом (25 мкМ); O₂-обработка 2,6 ди-трет-бутил крезолом (50 мкМ); O₃-обработка 2,6 ди-трет-бутил крезолом (150 мкМ); O₄-обработка 2,6 ди-трет-бутил крезолом (250 мкМ); O₅-обработка 2,6 ди-трет-бутил крезолом (350 мкМ); O₆-обработка 2,6 ди-трет-бутил крезолом (500 мкМ);

Но при концентрации 500 мкМ она сильно подавляется (30%) по отношению к контрольным клеткам. Обработка суспензии клеток с концентрациями ионала 25 мкМ; 50 мкМ; 150мкМ; не влияет на синтез суммы каротиноидов. Только при концентрациях 250 мкМ и 350 мкМ наблюдается подавление синтеза суммы каротиноидов на 20% и 24% соответственно, а при концентрации 500 мкМ синтез каротиноидов превышают контрольные клетки на 6%. Обработка клеток ионалом подавляет синтез хлорофиллов «а» и «б». Проведена также оценка интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в условиях модификации клеток синтетическим антиоксидантом ионалом на стадии развития водоросли в интенсивно-накопительном режиме культивирования, в условиях высокой солености. Показатели интенсивности процессов перекисного окисления липидов клеток, определяемые по содержанию МДА, при малых концентрациях 25 мкМ и 50 мкМ остаются выше уровня контроля, а по мере увеличения концентрации синтетического антиоксиданта снижаются до минимального уровня 40% при 500 мкМ.

Таким образом, модификация различными концентрациями ионала суспензии клеток *Dunaliella* в течение 24 часов культивирования, в условиях высокой солености приводит к изменениям эндогенной антиоксидантной

системы, которая сказывается на функциональной активности и биопродуктивности водорослей.

Второй синтетический антиоксидант 2,6 ди-*трет*-бутил фенол также исследовался в диапазоне концентраций 25-500 мкМ в среде выращивания в течение 24 часов культивирования суспензии водорослей, в условиях высокой солености.

В таблице 2 представлены показатели роста, пигментообразования, каталазной активности и количества образованного МДА в клетках *Dunaliella* в контроле и при обработке клеток антиоксидантом 2,6 ди-*трет*-бутил фенолом в условиях высокой солености. Как видно из таблицы, модификация клеток 2,6 ди-*трет*-бутил фенолом приводит к повышению эндогенной каталазной активности на 50%. А также повышение показателей биосинтеза суммы каротиноидов, при концентрациях 25-500 мкМ по отношению к контрольным клеткам. Увеличение концентрации синтетического антиоксиданта 2,6 ди-*трет*-бутил фенола в минеральной среде в диапазоне 25-500 мкМ снижает биосинтез биосинтез хлорофиллов «а» и «б».

Таблица 2. Показатели роста, пигментообразования, каталазной активности и количества образованного МДА в клетках *Dunaliella* в контроле и при обработке клеток антиоксидантом 2,6 ди-*трет*-бутил фенолом в условиях высокой солености (3,0М NaCl)

	Рост, OD		Каталазная активность, мкМ H ₂ O ₂ мл ⁻¹ мин ⁻¹ .				Количество пигментов, мг/л.			Содержание МДА, моль/г сырого веса
			5	10	15	20	Ca	Cb	Скар.	
К	0,3	0,85±0,03	0,4	0,95	1,25	1,4	3,4±0,05	1,64±0,05	0,59±0,1	0,68*10 ⁻³ ±0,05
O ₁	0,3	0,86±0,03	0,6	1,35	1,6	2,05	3,0±0,05	1,62±0,05	0,60±0,1	0,66*10 ⁻³ ±0,05
O ₂	0,3	0,87±0,03	0,65	1,5	1,7	2,05	2,95±0,05	1,59±0,05	0,66±0,1	0,63*10 ⁻³ ±0,05
O ₃	0,3	0,88±0,03	0,55	1,55	1,7	2,1	2,47±0,05	1,68±0,05	0,68±0,0	0,55*10 ⁻³ ±0,05
O ₄	0,3	0,89±0,03	0,55	1,45	1,6	1,9	2,62±0,05	1,2±0,05	0,86±0,1	0,5*10 ⁻³ ±0,05
O ₅	0,3	0,83±0,03	0,58	1,6	1,8	2,2	2,67±0,05	1,2±0,05	1,0±0,1	0,35*10 ⁻³ ±0,05
O ₆	0,3	0,72±0,03	0,45	1,1	1,55	2,0	2,39±0,05	1,2±0,05	0,70±0,1	0,68*10 ⁻³ ±0,05

Примечание: оптическая плотность OD=0,8; Температура 27⁰С, интенсивность света 16 Вт/м²; К-контроль; O₁-обработка 2,6 ди-*трет*-бутил фенолом (25 мкМ); O₂-обработка 2,6 ди-*трет*-бутил фенолом (50 мкМ); O₃-обработка 2,6 ди-*трет*-бутил фенолом (150 мкМ); O₄-обработка 2,6 ди-*трет*-бутил фенолом (250 мкМ); O₅-обработка 2,6 ди-*трет*-бутил фенолом (350 мкМ); O₆-обработка 2,6 ди-*трет*-бутил фенолом (500 мкМ);

Показатели (ПОЛ), определяемые по содержанию МДА, при малых концентрациях 25 мкМ и 50 мкМ остаются ниже уровня контроля, а по мере увеличения концентрации синтетического антиоксиданта снижаются до уровня 50% при 350 мкМ.

Важной задачей в исследованиях было выяснение пределов устойчивости популяции контрольных клеток *Dunaliella*, а также модифицированных синтетическими антиоксидантами 2,6 ди-*трет*-бутил крезола и 2,6 ди-*трет*-бутил фенола с концентрациями 25 и 50 мкМ в условиях высокой солености на действие различных острых доз УФ-В излучения.

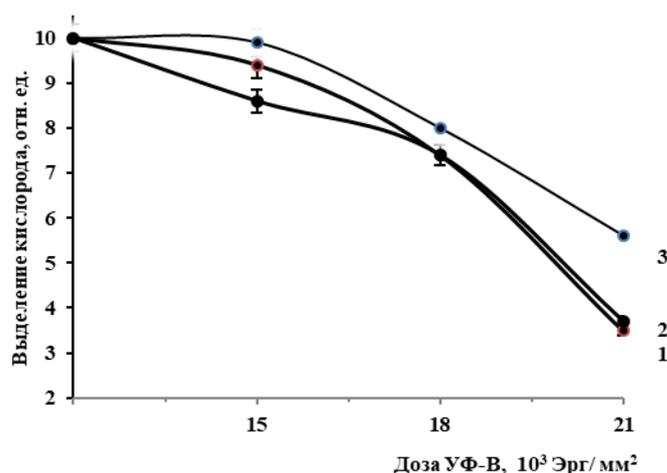


Рис.3. Фотосинтетическое выделение кислорода контрольными и клетками, выращенными в среде с различными концентрациями 2,6 ди-*трет*-бутил крезола, в условиях высокой солености (3,0М NaCl), при облучении острыми дозами УФ-В света: 1- контроль; 2- 25 мкМ 2,6 ди-*трет*-бутил крезола; 3- 50 мкМ 2,6 ди-*трет*-бутил крезола. Температура 40⁰С, интенсивность света 100 Вт/м²

На рисунке 3 представлены результаты фотосинтетического выделения кислорода облученными различными острыми дозами УФ-В света контрольными клетками *Dunaliella*, и клетками, модифицированными в течение 24 часов при интенсивном культивировании с 25 мкМ и 50 мкМ 2,6 ди-*трет*-бутил крезолом, в условиях высокой солености. Как видно из рисунка, у контрольных клеток, облученных острой дозой $15 \cdot 10^3$ Эрг/мм² функциональная активность подавляется до уровня 94%.

Последующее увеличение острой дозы УФ-В излучения $18 \cdot 10^3$ Эрг/мм² существенно снижает до (74%) функцию клеток (рис.3, кривая 1). Острые дозы $21 \cdot 10^3$ Эрг/мм² приводит к более глубокому подавлению фотосинтетического выделения кислорода клетками 35%. Клетки, модифицированные 2,6 ди-*трет*-бутил крезолом с концентрацией 25 мкМ при действии острой дозы УФ-В излучения $15 \cdot 10^3$ Эрг/мм² не проявляют функциональную устойчивость 86%, по сравнению с контрольными клетками. Увеличение острой дозы до $18 \cdot 10^3$ Эрг/мм² подавляет функциональную активность модифицированных клеток (74%). А острые дозы УФ-В излучения $21 \cdot 10^3$ Эрг/мм² значительно снижают (37%) фотосинтетическое выделение кислорода модифицированными ионолом клетками (рис.3, кривая 2). Увеличение концентрации (50мкМ) синтетического антиоксиданта ионола при модификации клеток показало, что устойчивость функциональной активности сохраняется на высоком уровне (99%) при острых дозах $15 \cdot 10^3$ Эрг/мм² УФ-В излучения (рис.3, кривая 3). Острые дозы $18 \cdot 10^3$

Эрг/мм² УФ-В излучения подавляют функциональную активность клеток (80%), которая отличается от контрольных клеток, где подавление составляет (74%). Увеличение острой дозы $21 \cdot 10^3$ Эрг/мм² УФ-В излучения снижает функциональную активность клеток до (56%). Это высокие показатели устойчивости функциональной активности модифицированных ионолом клеток в условиях высокой солености, по сравнению с контрольными клетками (35%).

Исследования, проведенные с антиоксидантом 2,6 ди-*трет*-бутил фенолом показали, что этот синтетический антиоксидант проявляет протекторную роль при действии УФ-В света.

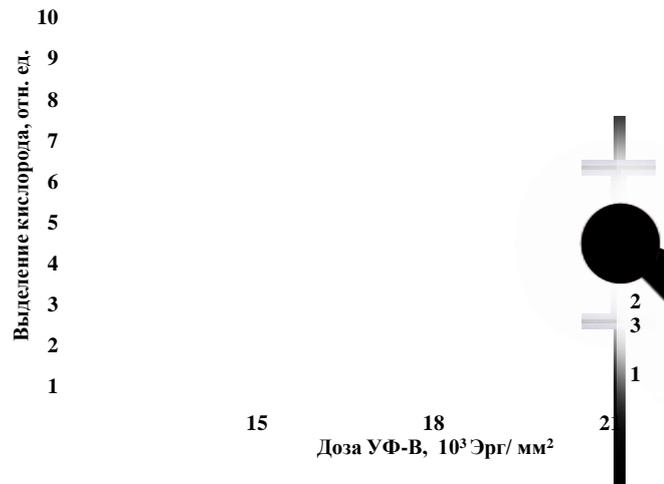


Рис. 4. Фотосинтетическое выделение кислорода контрольными и клетками, выращенными в среде с различными концентрациями 2,6ди-*трет*-бутил фенола, в условиях высокой солености (3,0 М NaCl), при облучении острыми дозами УФ-В света: 1- контроль; 2- 25 мкМ 2,6 ди-*трет*-бутил фенола; 3- 50 мкМ 2,6 ди-*трет*-бутил фенола. Температура 40⁰С, интенсивность света 100 Вт/м²

На рисунке 4 представлены результаты фотосинтетического выделения кислорода облученными различными острыми дозами УФ-В света контрольными клетками *Dunaliella*, и клетками, модифицированными в течение 24 часов при интенсивном культивировании с 25 мкМ и 50 мкМ 2,6 ди-*трет*-бутил фенолом, в условиях высокой солености. Как видно из рисунка, функции контрольных клеток при действии острых доз УФ-В излучения в диапазоне $15 \cdot 10^3$ Эрг/мм²- $21 \cdot 10^3$ Эрг/мм² сильно подавляются (рис.4, кривая 1). Модификация клеток 2,6 ди-*трет*-бутил фенолом с концентрацией 25 мкМ показала, что синтетический антиоксидант проявляет слабую протекторную функцию функциональной активности клеток, к действию острых доз УФ-В излучения (рис.4, кривая 2). Так, при острой дозе $15 \cdot 10^3$ Эрг/мм² УФ-В излучения защита функциональной активности клеток составляет 65% против 57% (у контрольных клеток), а при острой дозе $18 \cdot 10^3$ Эрг/мм² функциональная устойчивость (49%) незначительно отличается от контрольных клеток 47% (рис.4, кривая 2). Острая доза $21 \cdot 10^3$ Эрг/мм² подавляет функцию модифицированных 2,6 ди-*трет*-бутил фенолом клеток ниже контрольных.

Увеличение концентрации антиоксиданта до 50 мкМ, заметно повышает протекторную функцию 2,6 ди-*трет*-бутил фенола. Модификация заметно

увеличивает функциональную устойчивость клеток, где наблюдается плавный спад функциональной активности при увеличении острой дозы УФ-В излучения (рис.4, кривая 3).

Таким образом, функциональная защита клеток синтетическими антиоксидантами 2,6 ди-*трет*-бутил крезолом и 2,6 ди-*трет*-бутил фенолом при низких концентрациях защищают функциональную активность клеток неодинаково. Вероятно, защитная функция 2,6 ди-*трет*-бутил крезола (ионол-классический синтетический антиоксидант) превышает протекторные функции аналога 2,6 ди-*трет*-бутил фенола.

4. Выводы

- Показано, что синтетические антиоксиданты 2,6 ди-*трет*-бутил крезол и 2,6 ди-*трет*-бутил фенол в минеральной среде в условиях высокой солености стимулируют рост (1-6%) популяции клеток *Dunaliella* по отношению к контролю.
- Популяции водоросли *Dunaliella*, модифицированные синтетическими антиоксидантами в условиях высокой солености, проявляют повышенную функциональную устойчивость к различным острым дозам УФ-В излучения по отношению к контрольным клеткам.

Литература

1. Ali-zadeh, G.I., Magerramova, Kh.Kh., Aliev, I.I., Jalilova, A.R. (2016). The stability of functional activity in *Dunaliella* cells against the acute doses of UV-B irradiation, modified by synthetic antioxidants. *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, 4(10), 34-38
2. Burlakova, E.B. (2007). Bioantioxidants. *Russian Chemical Journal*, 51(1), 3-12, (In Russian).
3. Burlakova, E.B., Krasashov, S.A., Khrapova, N.G. (1998). The role of tocopherols in peroxide oxidation of biomembrane lipids. *Biological Membranes*, 15(2), 137-167, (In Russian).
4. Ershov, V.V., Nikiforov, G.A., Volodkin, A.A., (1972). *Spatially Hindered Phenols*, Moscow, Chemistry (In Russian).
5. Gavrilenko, V.F., Ladygina, M.E., Khandobina, L.M. (1975). *A Practicum on Physiology of Plants*, Higher School, 392 p. (In Russian).
6. Heath, R.L., Packer, L. (1968a). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch. of Biochem. and Biophys.*, 125, 189-198.
7. Pleshkov, B.P. (1976). *Practicum on Plant Biochemistry*, Moscow, 255 p. (In Russian).
8. Radyuk, M.S., Domanskaya, I.N., Shcherbakov, R.A., Shalygo, N.V. (2009). The effect of low positive temperature on the content of low-molecular antioxidants and the activity of antioxidant enzymes in green barley leaves. *Physiology of Plants*, 56(2), 193-199 (In Russian).
9. Shirshikova, G.N., Kreslavsky, V.D., Ladygin, V.G., Zharmukhamedov, S.K., Ignatiev, A.R. (2001). Photosynthetic release of oxygen, variable and delayed fluorescence of chlorophyll *Chlamydomonas reinhardtii* cells under action choline chloride, *Biophysics*, 46(4), 647-651 (In Russian).