

УДК 574.2

ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ *ALLIUM CERA* И *LEPIDIUM SATIVUM* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КСЕНОБИОТИКОВ АДАМАНТАНОВОГО РЯДА

© 2010 Ю.Г. Шутова¹

В данной статье проанализирована сравнительная чувствительность двух растительных тест-объектов: *Allium cera* и *Lepidium sativum* по оценке токсического воздействия ксенобиотиков адамантанового ряда. Выявлено, что *Allium cera* является более предпочтительным тест-объектом для оценки токсичности антропогенных ксенобиотиков.

Ключевые слова: *Allium cera*, токсичность, адамантаны.

Введение

Одной из наиболее опасных форм антропогенного воздействия на биосферу является химическое загрязнение окружающей среды, масштабы которого за последние десятилетия резко увеличились. Каждый год не менее 3 тысяч новых вводится в качестве реальных загрязнителей окружающей среды [1]. Многие ксенобиотики, с которыми человек сталкивается в процессе жизнедеятельности, оказывают негативное влияние на организм, что выражается в росте аллергических заболеваний, отравлений и врожденных пороков развития. Кроме того, для ксенобиотиков, как и для радиационного воздействия, предельно допустимой дозы не существует, т. е. порог действия практически отсутствует [2].

Это обуславливает потребность создания оперативной и экономичной системы тестирования химических соединений в отношении их потенциальной опасности для человека.

В настоящее время созданы сотни тест-систем, однако немногие из них в результате длительных исследований признаны валидными [1]. В представленной работе мы анализировали соединения ряда адамантана, широко используемые в настоящее время в медицине как лекарственные препараты и в сельском хозяйстве как пестициды.

Целью нашего исследования было сравнение чувствительности двух растительных тест-объектов — *Allium cera* и *Lepidium sativum* по оценке токсичности адамантанов.

¹Шутова Юлия Георгиевна (shutova79@yandex.ru), кафедра зоологии, генетики и общей экологии Самарского государственного университета, 443011, Российская Федерация, г. Самара, ул. Акад. Павлова, 1.

Материалы и методы исследования

Анализировали токсичность следующих адамантанов: адамантана (I); аминокадмантана (II); 6-амино-адамантилгалактопиранозы (III); 3-(N-адамантиламино)-3-дезоксид-1,2,5,6-ди-О-изопропилиденксилофуранозы (IV); 3-(N-адамантиламино)-3-дезоксид-1,2,5,6-ди-О-изопропилиденаллофуранозы (V); 1-амино-3-метиладаммантана (VI); 1-амино-3-этиладаммантана (VII); 2-дезоксид-2-амино-(N-адамантил)-глюкопиранозы (VIII). Вещества анализировали в виде водных растворов в концентрациях 0,005; 0,05; 0,25; 0,5 и 1 мг/мл.

Токсичность адамантанов оценивали по способности ингибировать прорастание и рост семян по стандартной методике [3]. Для сравнительной оценки чувствительности выбранных тест-объектов мы использовали такие показатели, как энергия прорастания, всхожесть семян, относительный прирост корня в длину.

Достоверность различий в токсичности растворов адамантанов разных концентраций и разного строения оценивали с помощью полного двухфакторного дисперсионного анализа [4].

Результаты и их обсуждение

Наиболее чувствительным показателем токсического воздействия загрязнителей окружающей среды на растения является ингибирование их корневого роста [3], так как клетки зоны меристемы (зоны роста) весьма восприимчивы к неблагоприятному воздействию химических агентов среды [5].

Результаты исследования влияния адамантанов на энергию прорастания семян *Allium cepa* суммированы в табл. 1.

Таблица 1

**Влияние адамантанов на энергию прорастания
семян *Allium cepa*, %**

Адамантаны	Концентрация, мг/мл					
	0	0,005	0,05	0,25	0,5	1
I	33±2,4	51±3,2	52±3,2	22±3,0	20±3,2	28±3,2
II	72,5±1,4	73,3±2,8	71,2±3,0	70±3,0	70±3,2	52,7±3,1
III	23,3±2,6	23,3±3,5	20,5±3,6	18,3±3,2	15±3,2	15±3,0
IV	38,3±3,2	33,3±3,2	33,3±3,2	63±3,2	55±3,2	46,6±3,2
V	18,33±3,6	11,67±3,2	8,33±3,2	6,67±3,2	6,67±3,2	1,67±3,2
VI	56,9±1,6	54,7±1,3	53,5±1,1	44±3,2	14±3,2	0±0,2
VII	33,3±3,2	26,6±3,2	18,3±3,2	6,6±3,2	3,3±0,1	0±0,2
VIII	66,6±1,2	70±1,1	50±3,2	45±3,2	43,3±3,2	28,3±3,2

Все исследуемые адамантаны проявили токсичность. В низких концентрациях действие адамантанов II, III, IV, V, VI, VII было минимальным, а вещества I, VIII оказывали слабое стимулирующее действие. При увеличении концентрации веществ наблюдалось усиление их токсичности. Вещество IV в концентрациях 0,25; 0,5 и 1 мг/мл достоверно ($p < 0,01$) стимулировало прорастание семян *A. cepa*.

В образцах, подвергшихся воздействию адамантанов VI и VII в концентрации 1 мг/мл, после трехдневной экспозиции проросших семян *A. cepa* обнаружено не было.

Проведенный двухфакторный дисперсионный анализ выявил достоверные различия в действии как концентраций ($p < 0,001$), так и в строении анализируемых веществ ($p < 0,001$). Максимальное ингибирующее действие проявляли адамантаны в концентрациях 0,25; 0,5 и 1 мг/мл ($p < 0,01$).

Ранняя всхожесть семян в значительной степени зависит от наличия доступной воды. Полученные нами результаты позволяют предполагать, что адамантаны, являясь мембранотропными веществами, вступая во взаимодействие с биомембранами, нарушают проводимость ионных каналов и изменяют скорость поступления воды и рН клетки, что приводит к снижению энергии прорастания семян. Однако это справедливо только для начального этапа прорастания семян.

На следующем этапе мы проанализировали воздействие адамантанов на всхожесть семян *A. cepa*, подвергшихся токсическому стрессу в течение пяти суток. Результаты эксперимента показаны на рис. 1.

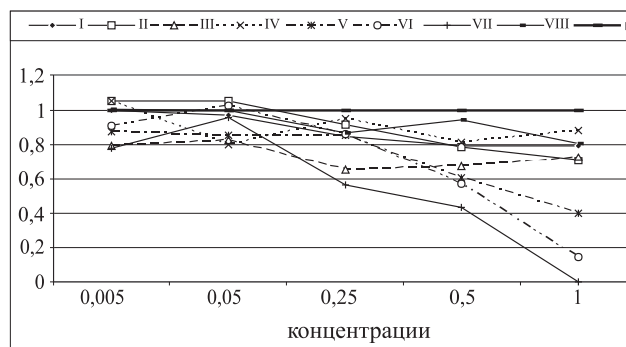


Рис. 1. Всхожесть *Allium cepa* под воздействием адамантанов на пятые сутки относительно контроля

Пятидневная экспозиция семян показала, что число проросших семян и в контроле, и в опыте увеличилось, однако общая тенденция токсического действия изменилась незначительно, и с увеличением концентрации анализируемых адамантанов увеличилось и их токсические свойства.

Чтобы выявить влияние строения адамантанов и концентрации используемых растворов, нами был проведен полный двухфакторный дисперсионный анализ, который показал достоверное влияние концентрации раствора на токсичность ($p > 0,01$) и достоверное влияние строения адамантанов, выражающееся в ингибировании всхожести семян ($p > 0,01$).

Анализ результатов выявил, что максимальной токсичностью обладают алкильные производные адамантана, на втором месте стояли адамантаны, в состав которых входили сахара. По-видимому, адамантаны, имеющие полярную группировку, с такой же скоростью проникают в растительные клетки, как и гликозифицированные адамантаны, вызывая ингибирование ростовых процессов.

Однако этилаадамтан (VII), имеющий наиболее простое строение, оказался высокотоксичным соединением, и в концентрации 1 мг/мл он полностью подавлял всхожесть семян. На основании проведенного исследования можно сказать, что токсичность, проявляющаяся в снижении всхожести семян, убывает в следующем ряду: VII > VI > V > III > IV > VIII = II > I.

Мониторинг токсичности многих ксенобиотиков показал, что различные виды растений обладают различной толерантностью к действию антропогенных поллю-

тантов. Поэтому мы исследовали воздействие адамантанов на широко применяемый в экологическом тестировании тест-объекте *Lepidium sativum* (табл. 2).

Таблица 2

Всхожесть семян *Lepidium sativum* под воздействием адамантанов на третьи сутки, %

Соединения	Концентрация, мг/мл					
	0	0,005	0,05	0,25	0,5	1
I	95±2,5	95±2,5	91,6±2,9	91,6±2,9	95±2,5	93,3±2,6
II	90±2,9	80±4,9	78,3±4,8	80±4,9	80±4,9	85±4,6
III	98±1,8	91,6±2,1	93,3±2,6	93,3±2,6	91,6±2,9	91,6±2,9
IV	98±1,8	95±2,5	85±4,6	88,3±4,2	91,6±2,9	93,3±2,6
V	96,66±2,1	95±2,5	90±2,9	91,7±2,5	88,33±4,2	85±4,3
VI	98,33±1,8	95±2,5	98,33±1,8	83,3±4,6	75±4,9	50±5,1
VII	98,33±1,8	98,33±1,8	95±2,5	96,7±2,5	73,33±	55±5,4
VIII	98,33±1,8	98±1,8	97,1±1,8	96,8±2,5	95,5±2,5	94,7±2,5

В ходе проведенных исследований мы обнаружили, что *Lepidium sativum* оказался более устойчив к токсическому действию исследуемых адамантанов. Вещества VIII и VI являлись наиболее токсичными и в концентрациях 0,5 и 1 мг/мл приводили к заметному снижению всхожести семян.

Проведенный двухфакторный дисперсионный анализ показал, что для *L. Sativum* все исследуемые адамантаны проявляли слабую токсичность, однако с ростом концентрации токсичность соединений достоверно возрастала ($p < 0,005$). Сами адамантаны по способности ингибировать всхожесть семян *L. Sativum* не имели статистически значимых различий. Таким образом, семена *L. Sativum* оказались менее чувствительны к воздействию адамантанов, чем семена лука.

Длительное воздействие соединений на растения ингибирует не только энергию прорастания семян, но и ростовые процессы корневой системы. Для оценки токсического влияния соединений адамантана на онтогенез растений нами было проанализировано их действие на ростовые процессы, для этого использовали такие параметры, как длина корня и относительный прирост корней после пятидневной экспозиции семян *Allium* сера и четырехдневной экспозиции семян *Lepidium sativum* с исследуемыми адамантанами.

Результаты исследований представлены на рис. 2 и 3.

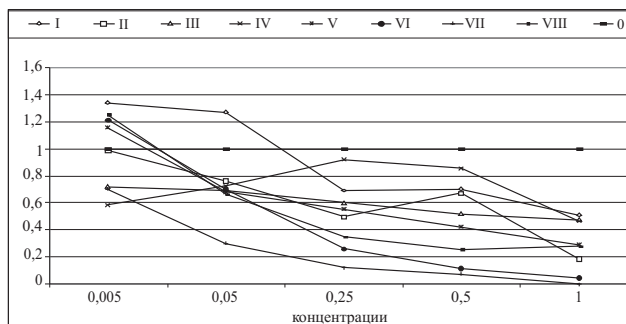


Рис. 2. Относительная длина корней *Allium сера*, подвергшихся воздействию адамантанов

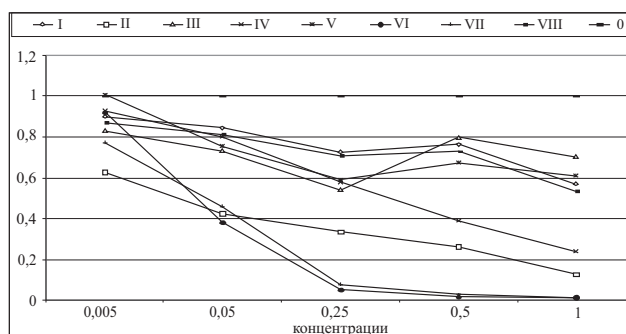


Рис. 3. Относительная длина корней *Lepidium sativum*, подвергшихся воздействию адамантанов

В результате проведенных исследований мы выявили, что у семян *A. cepa*, выращенных на водных растворах адамантанов, длина корней была достоверно ниже ($p < 0,005$), чем в контроле. Для *A. cepa* максимальной токсичностью обладали вещества VI и VII. Однако вещества I, V, VI, VIII в концентрации 0,005 мг/мл оказывали стимулирующее действие на рост корней *A. cepa* в длину. Подобное стимулирующее действие эти вещества в концентрации 0,005 мг/мл оказывали и на всхожесть семян *A. cepa*. Анализ механизмов противовирусного действия адамантанов показал, что адамантаны, взаимодействуя с биологическими мембранами, приводят к сдвигу pH клетки в кислую сторону [6]. Мы предполагаем, что именно это изменение pH клеточной оболочки вызывало более сильное подкисление клеточной оболочки и быстрое ее разрушение, что выражалось в повышении всхожести семян и длины корня по сравнению с контролем. Анализ ростовых процессов корней *Lepidium sativum* показал, что длина корней во всех опытных образцах достоверно ($p < 0,005$) ниже, чем в контрольных образцах. Наименьший прирост корней мы наблюдали в образцах, обработанных растворами адамантанов II, IV, VI, VII. Проведенный двухфакторный анализ выявил статистически значимые различия ($p < 0,005$) как в действии концентраций, так и в действии адамантанов на исследуемые тест-объекты. Полученные результаты согласуются с данными анализа всхожести семян *L. Sativum* и сохраняют те же тенденции. Мы выявили, что длина корней *A. Cepa* положительно коррелирует со всхожестью семян ($r = 0,77$), для семян *L. Sativum* эта корреляция выражена слабее ($r = 0,63$).

Для оценки токсичности на основе полученных экспериментальных данных нами были рассчитаны дозы LD_{50} для *A. Cepa* и *L. Sativum* по методу пробит-анализов Прозоровского для всех исследованных адамантанов (табл. 3).

Полученные результаты позволили нам построить следующие убывающие ряды токсичности:

- VII>VI>V>II>VIII>II>IV>I для *Allium cepa*;
- VI>VII>II>IV>VIII>IV>I для *Lepidium sativum*.

На основе полученных нами результатов исследований мы предполагаем, что адамантаны обладают высокой способностью взаимодействовать с биомембранами. Адамантаны, будучи высоколипофильными соединениями, хорошо проникают в биомембраны и интегрируются в липидном слое. Производные адамантана вызывают изменения физических свойств мембран. Это приводит к снижению скорости

Таблица 3

Доза LD_{50} для *Allium cepa* и *Lepidium sativum*

Вещества	Доза LD_{50} , мг/мл	
	<i>Allium cepa</i>	<i>Lepidium sativum</i>
I	3,98	99,61
II	1,87	3,55
III	2,315	24,44
IV	3,36	4,86
V	0,66	6,23
VI	0,42	0,96
VII	0,27	1,02
VIII	2,015	5,78

поступления воды в семя и, как следствие, уменьшению энергии прорастания, что негативно сказывается на росте корней в длину.

Анализируя полученные нами результаты, можно сказать, что оба тест-объекта являются пригодными для целей мониторинга антропогенных ксенобиотиков. Однако *Lepidium sativum* оказался менее чувствителен как тест-объект к действию адамантанов, чем *Allium cepa*. Максимальную токсичность на семена обоих протестированных тест-объектов оказывали вещества VI и VII.

Оцениваемые нами параметры, такие как энергия прорастания, всхожесть семян и относительный прирост корня в длину, показали высокую информативность в оценке токсичности соединений. Однако использование параметра "энергия прорастания" для *L. Sativum* является нецелесообразным ввиду морфофизиологических особенностей данного тест-объекта.

Литература

- [1] Дурнев А.Д., Середенин С.Б. Мутагены. Скрининг и фармакологическая профилактика воздействий. М.: Медицина, 1998. 326 с.
- [2] Шигаева М.К., Акматулина Н.Б. Хромосомная индикация загрязнений окружающей среды с использованием древесных объектов // Успехи совр. генетики. 1982. Вып. 10. С. 115–131.
- [3] Довгалюк А.И., Калиняк Т.Б., Блюм Я.Б. Оценка фито- и цитотоксической активности соединений тяжелых металлов и алюминия с помощью корневой апикальной меристемы лука // Цитология и генетика. 2001. № 1. С. 3–10.
- [4] Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1998. 352 с.
- [5] Тихая Н.И., Федоровская М.Д. Биохимическая адаптация корневых клеток ячменя к токсическим веществам. Действие тяжелых металлов на фосфо-гидролазную активность // Известия РАН. Сер.: Биологическая. 2000. № 6. С. 688–694.
- [6] Козелецкая К.Н. Ремантадин как химиопрепарат для экстренной профилактики и лечения гриппа А // Consilium medicum. 2004. № 6. С. 35–39.

Поступила в редакцию 22/VIII/2010;
в окончательном варианте — 22/VIII/2010.

ASSESSMENT OF SENSITIVITY OF *ALLIUM CEPA* AND
LEPIDIUM SATIVUM WITH USE
OF XENOBIOTICS OF ADAMANTANS

© 2010 J.K. Shutova²

In this article comparative sensitivity of two vegetable test-objects: *Allium cepa* and *Lepidium Sativum* according to the toxic influence of xenobiotics of adamantans is analysed. It is revealed, that *A. cepa* is more preferential the test-object for an assessment of toxicity of anthropogenous xenobiotics.

Key words: *Allium cepa*, toxicity, adamantan.

Paper received 22/VIII/2010.

Paper accepted 22/VIII/2010.

²Shutova Julia Georgievna (shutova79@yandex.ru), the Dept. of Zoology, Genetics and General Ecology, Samara State University, Samara, 443011, Russian Federation.