

Российская академия наук
Уральское отделение
Коми научный центр
Институт биологии

XXI Всероссийская молодежная
научная конференция

**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ
БИОЛОГИИ И ЭКОЛОГИИ**

(посвященная 70-летию А.И. Таскаева)

Материалы докладов

7-11 апреля 2014 г.
Сыктывкар, Республика Коми, Россия

Сыктывкар 2014

УДК 574/577 (063)

055(02)7

XXI Всероссийская молодежная научная конференция «Актуальные проблемы биологии и экологии» (посвященная 70-летию А.И. Такаева). Материалы докладов. Сыктывкар, 2014. 372 с. (Коми научный центр УрО РАН).

Представлены материалы докладов XXI Всероссийской молодежной научной конференции, проводимой Институтом биологии Коми НЦ УрО РАН. Рассмотрены актуальные вопросы изучения и восстановления биоразнообразия животного и растительного мира, структурно-функциональной организации и экологии биологических систем, охраны и рационального использования биологических ресурсов. Обсуждены лесобиологические проблемы, проблемы почвоведения, физиологии, биохимии и биотехнологии растений, радиобиологии и генетики.

Редколлегия
директор Института биологии С.В. Дегтева (отв. редактор),
к.б.н. А.Ф. Осипов (зам. отв. редактора),
к.б.н. М.А. Кузнецов (отв. секретарь)

При поддержке Президиума Уральского отделения РАН

ISBN 978-5-89606-530-2

© Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, 2014
© Коми научный центр УрО РАН, 2014

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БОРЩЕВИКА СОСНОВСКОГО

А.В. Романовский¹, Д.С. Песня²¹Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова²Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАНE-mail: bolo-kant@rambler.ru

Борщевик Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden., сем. *Ariaceae*) является активным инвазивным видом в Европе, как и некоторые его сородичи (борщевик Мантегации (*H. mantegazzianum* Manden.) и персидский (*H. persicum* Manden.). Среди последствий отмечаются: негативное воздействие на биоразнообразие, разрушение естественных экосистем, экономический ущерб, опасность для здоровья. Имеющиеся методы борьбы затратные по времени и ресурсам (каждое растение обрабатывается отдельно или необходима техника для вспашки в определенные временные периоды в течение нескольких лет), в то время как более дешевые способы, например выжигание, не милосердны к естественным ценозам на обрабатываемом участке (Nielsen, 2005).

Основную опасность представляет сок растения. Это водянистая жидкость, которая содержит фотосенсибилизирующие соединения фуранокумарины, способные вызывать ожоги на коже и не только (Nielsen, 2005). Кроме того, экстракты других борщевиков проявляют токсический эффект без фотоактивации (Mosham, 2009) и мутагенного эффекта (Вогуска-Коска, 2004), а исследования их потенциальной опасности единичны.

Цель работы – изучение токсического и цитогенетического (митоз модифицирующего и мутагенного) действия борщевика Сосновского.

Для изучения действия *H. sosnowskyi* был выбран *Allium* [сера] test, который рекомендован экспертами ВОЗ как стандарт в цитогенетическом мониторинге окружающей среды. Объектом является меристема проростков корешков лука посевного – *Allium cepa* сорта Штутгартен-Ризен. Преимущества теста: экономичность, регистрация всех типов генетических повреждений, выявление мутагенов и промутагенов (Fiskesjo, 1985; Прохорова, 2008).

Материалом для исследования стали черешки и листья *H. sosnowskyi*. Растения собраны с заброшенных полей Ярославской области Некрасовского района, в окрестностях пос. Бурмакино. Сок извлекали прессованием, разбавляли дистиллированной водой (1:2) для получения водного экстракта. Исходный экстракт имел рН 7.0. Экстракт разбавляли дистиллированной водой (рН 6.7) для получения различных концентраций 30, 10, 5, 1, 0.5 и 0.1%.

Луковицы *A. sera* высаживали в стаканчики на 25 мл. Было поставлено семь вариантов опытов в зависимости от концентрации экстракта, все в пяти повторностях (Barberrio, 2011). Луковицы проращивали четыре дня при искусственном освещении, которое не содержало УФ. Затем у каждой луковицы срезали корни под основание донца.

Для оценки токсического действия определяли длину корней как краткосрочный скрининг-тест (Fiskesjo, 1985). Измерено 509 корешков. Определялось среднее арифметическое (\bar{X}) и ошибка среднего (m) для варианта опыта. Для цитогенетического анализа готовили препараты давленных корневых меристем согласно методике (Прохорова, 2008; Barberrio, 2011). В опытных образцах отмечались корни с таким изгибом, что их апикальная часть начинала выходить из воды и в итоге засыхала, что объясняется токсичностью некоторых соединений.

Показателем митозмодифицирующего действия фактора является митотический индекс (МИ, %). В ходе анализа под микроскопом просматривали около 700-800 клеток. На тех же препаратах одновременно анализировали продолжительность каждой фазы митоза и определяли фазные индексы, %: ПИ – профазный индекс; МИ – метафазный; АИ – анафазный; ТИ – телофазный (Прохорова, 2008). Проводили сравнение долей различных фаз в контрольном и опытных вариантах.

Мутагенное действие определяли с использованием ана-телофазного анализа, который позволяет изучать частоту мутаций путем учета суммы хромосомных aberrаций (ХА) и отставаний хромосом (отс.) на стадиях анафазы и телофазы к общей сумме ана-телофаз на препарате ($\Sigma\text{отс.} + \text{ХА}$, %) (Прохорова, 2008).

Степень мутагенного эффекта оценивали по ВМЭ (выраженности мутагенного эффекта) – определяется как кратность превышения процента индуцированных мутаций над контрольным значением (спонтанным уровнем) и выражается в баллах, которые ранжировали по уровням.

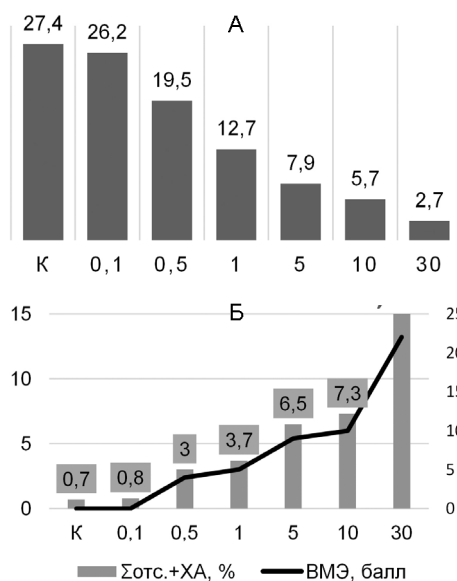
0.1% – частота хромосомных aberrаций и отставаний не отличалась от контрольного уровня. При концентрациях (0.1-0.5%) водного экстракта *H. sosnowskyi* доля профаз достаточно большая и не отличается от контрольного уровня, а другие фазные индексы не претерпевают значительных изменений. Следовательно, ингибирование корневого прироста у *A. sera* при низких концентрациях вызвано не угнетением митотической активности клеток, а другими причинами, например, апоптозом.

0.5% – в сравнении с контрольным уровнем достоверный токсический эффект регистрируется с 0.5%-ной концентрации. От-

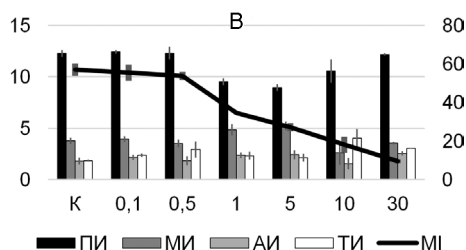
мечается достоверный мутагенный эффект (выше контрольного в четыре раза – слабый уровень мутагенного эффекта (МЭ). С этого момента прирост корешков начинает уменьшаться, что, вероятно, вызвано апоптозом.

1-5% – достоверный митотоксический эффект начинается с концентрации 1% и далее концентрации. При этом доля клеток, которые находятся в митозе, резко падает. При концентрациях (1-5%) мутагенный эффект превышает контрольный уровень в 5-9 раз (средний уровень МЭ); происходит резкое падение ПИ, что означает угнетение митотической активности. При средних концентрациях повышается МИ, что может быть вызвано действием фактора на веретено деления. Угнетение прироста корешков может объясняться апоптозом и угнетением деления клеток.

10-30% – при высоких концентрациях (10-30%) наблюдается повышение доли клеток, вступивших в профазу (ПИ растет), а также регистрируется максимальный митотоксический эффект. Видимо, деление вошедших в митоз клеток останавливается на стадии профазы, и поэтому число зарегистрированных профаз соответствует контрольному уровню, а клетки, прошедшие стадию профазы, останавливаются в телофазе, чему соответствует повышение доли телофаз. Достигну-



Графики ростовых и генетикотоксикологических показателей, выявленных в тест-системе Allium test экстрактом соков борщевика Соосновского. А – средняя длина корней, мм; Б – мутагенный эффект, % (по главной оси – сумма отставаний и ХА, по вспомогательной – ВМУ); В – митотический и фазный индексы, % (по главной оси – МИ, по вспомогательной – остальные индексы).



Сводная таблица ростовых и генетико-токсикологических показателей

Концентрация, %	Средняя длина, мм	Σотс.+ХА, %	ВМЭ, балл	Уровень МЭ	М1, %	П1, %	МИ, %	АИ, %	ТИ, %
К	27.4±1.4	0.7±0.6	0	Нет	10.7±0.6	65.5±1.8	20.2±1.6	9.6±1.8	9.9±0.5
0.1	26.2±1.2	0.8±0.4	0		10.4±0.8	66.3±1.0	21.1±1.5	11.5±1.4	12.7±0.9*
0.5	19.5±1.0*	3.0±0.6*	4	Слабый	10.1±0.4	65.6±3.2	18.8±1.9	9.8±2.3	15.6±4.2
1	12.7±0.5*	3.7±0.4*	5	Средний	6.5±0.1*	50.9±1.7*	25.8±2.9	12.7±1.5	12.4±2.0
5	7.9±0.2*	6.5±1.4*	9		5.1±0.4*	47.7±1.7*	27.9±2.3*	12.9±2.4	11.4±2.0
10	5.7±0.2*	7.3±3.0*	10	Сильный	3.4±0.8*	56.3±6.1	13.9±6.2	8.2±2.9	21.6±4.6*
30	2.7±0.2*	15.2±1.3*	22		1.8±0.2*	64.9±0.6	18.9±0.7	13.6±1.0	16.2±0.1*

Примечание: обработку проводили в программном пакете «Statistica» (t-test и ANOVA). За уровень значимых принимали значения при $p < 0.05$ (*).

ты максимальный мутагенный эффект (превышение в 10-22 раза) и минимальный прирост корешков, они темнеют и гибнут.

Фазные индексы свидетельствуют о том, что фактор нарушает процессы, которые происходят в интерфазу, при подготовке клетки к делению (синтез белка, репликация ДНК и т.д.). Степень нарушений такова, что клетка не вступает в митоз. Изменения в клетках, вступивших в митоз, определяются уже иной активностью фактора.

Среди хромосомных нарушений подавляющее большинство составляют отставания хромосом, что свидетельствует о повреждениях веретена деления или в прицентромерной области хромосом.

А.П. Дубровин также регистрировал угнетение роста корней у других растений: огурцов, кукурузы и кабачков, семена которых проращивал на водной вытяжке из семян *H. sosnowskyi* (Дубровин, 2009). Это позволяет предполагать, что различные органы *H. sosnowskyi* выделяют в среду физиологически активные вещества – колины, оказывающие регулирующее действие (в данном случае угнетающее) на рост и развитие других растений.

Итак, водный экстракт борщевика Сосновского угнетает прирост корешков у *A. cerea*. Степень угнетения прямо пропорциональна дозе, достигая 90% для 30%-ного разбавленного раствора водного экстракта борщевика Сосновского, т.е. обладает токсической активностью.

Водный экстракт борщевика Сосновского угнетает митотическую активность корневых меристем *A. cerea*. Степень угнетения зависит от дозы и

достигает 83% для 30%-ного раствора. Следовательно, водный экстракт борщевика Сосновского обладает митотоксичностью.

Митотоксический эффект связан как с индукцией апоптоза и гибелью клеток, так и с угнетением деления клеток, которое происходит из-за нарушений в интерфазу, при подготовке клетки к делению.

Водный экстракт борщевика Сосновского, разбавленный до 30%, вызывает хромосомные мутации и увеличивает частоту хромосомных aberrаций и отставаний, которая превышает контрольный уровень до 22 раз. Уровень мутагенного эффекта классифицируется как сильный. Следовательно, водный экстракт борщевика Сосновского обладает мутагенной активностью. Степень мутагенного эффекта прямо пропорциональна дозе.

Allium test остается актуальным для оценки токсического, митозмодифицирующего и мутагенного потенциалов растительных организмов.

ЛИТЕРАТУРА

Дубровин А.П. Биотестирование активности водорастворимых веществ, содержащихся в плодах *Heracleum Sosnowskyi Manden* // Вестник Московского областного университета. 2009. № 1. С. 56-59.

Прохорова И.М., Ковалева М.И., Фомичева А.Н., Бабаназарова О.В. Пространственная и временная динамика мутагенной активности воды озера Неро // Биология внутренних вод. М.: Наука, 2008. 59 с.

Barberrio A., Voltolini J.C., Mello M.L.S. Standardization of bulb and root sample sizes for the Allium test // Ecotoxicology. 2011. Vol. 20. P. 927-935.

Bogucka-Kocka A., Rulka Ja., Kocki Ja., Kubis P., Buzala E. Bergapten of *Heracleum sibiricum* apoptosis induction in blood lymphocytes of cattle // Bull. Vet. Inst. Pulawy. 2004. Vol. 48. P. 99-103.

Fiskesjo G. The Allium test as a standard in environmental monitoring // Hereditas. 1985. Vol. 102. P. 99-112.

Mosham M. H., Sharififar F., Dehghana G.-R., Ameri A. Bioassay screening of the various extracts of fruits of *Heracleum Persicum* desf. using brine shrimp cytotoxicity assay // Iranian J. of Pharmac. Res. 2009. Vol. 8. № 1. P. 59-63.

Nielsen C., Ravn H.P., Nentwig W., Wade M. The Giant Hogweed Best Practice Manual. Guidelines for the management and control of an invasive weed in Europe // Forest & Landscape. Denmark: Hoersholm, 2005. 44 p.