

УДК 674.048

Ю. А. ВАРФОЛОМЕЕВ, Е. Г. КОСТИНА

ЦНИИМОД

**ВОЗДЕЙСТВИЕ АНТИСЕПТИКОВ НА РОСТ РАСТЕНИЙ И ГЕНЕРАЦИЮ ИМИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА**

Установлено, что антисептики катан и ЭОК способствуют увеличению оводненности корней, снижают содержание воды в надземной части растений, стимулируют образование супероксидного радикала  $O_2^-$  в клетках корней. Обнаружена корреляция между генерацией  $O_2^-$  и токсичностью биоактивных препаратов, что позволит использовать ее для определения уровня токсичности антисептиков.

It has been stated that Catan and EOC facilitate some increase in roots watering, reduce water content in above-ground part of the plants and stimulate superoxide radical formation in the root cells. Correlation between  $O_2^-$  generation and bioactive preparations toxicity has been found that will make it possible to use for determining the toxicity level of preservatives.

Для увеличения долговечности широко используют обработку древесины антисептиками. При этом в некоторых ситуациях существует реальная угроза проникновения опасных компонентов антисептиков в почву и воду. Необходимо поэтому учитывать влияние антисептиков для древесины на окружающую среду и, в частности, на рост растений.

Причина остановки роста растений в условиях воздействия антисептиков заключается в нарушении согласованности отдельных физиологических функций живых клеток [3]. Учитывая, что многие патологические процессы в живых клетках растений, протекающие под действием химических ингредиентов, инфекций, неблагоприятных экологических факторов, сопровождаются образованием супероксидного радикала ( $O_2^-$ ) и других кислородных радикалов, необходимо оценить связь между действием антисептиков на растения и образованием ими активных форм кислорода [7].

Как установлено [1], в клетках растений радикалы кислорода образуются несколькими путями, например при автоокислении тиосоединений и восстановленных форм флавинов и хинонов [1]. Радикал  $O_2^-$  продуцируется ферментами ксантиноксидазой, альдегидоксидазой, пероксидазой, никотинадениндинуклеотидфосфатоксидазой (НАДФХ × Н-оксидаза). Кислородные радикалы образуются в митохондриях, микросомальной фракции, ядрах, хлоропластах, клеточной стенке.

Механизм действия биоактивных ингредиентов антисептиков для древесины может быть связан с активацией кислорода. О. Н. Николаев и А. А. Аверьянов [5] установили, что обработка растений через почву биоактивным препаратом пробеназолом обеспечивает защиту их от пирикулярноза, усиливая при этом в них генерацию супероксидных радикалов. При обработке растений картофеля дигитонином, а риса — пробеназолом и трициклазолом усиливается генерация кислорода лигистями, которая сопровождается подавлением развития заболевания [6].

Цель настоящей работы — исследовать влияние различных концентраций разработанных в ЦНИИМОДе бесхлорфенольных антисептиков катан, ЭОК и К-12 на рост надземной части и корней 6-суточных проростков семян растений и выявить генерацию активных форм кислорода корневыми клетками на фоне действия этих антисептиков.

Катан синтезирован на основе катамина АБ, который относится к четвертичным аммонийным основаниям. ЭОК представляет собой смесь синтетических жирных кислот. В состав К-12 входит кремнефтористый аммоний.

В качестве образцов семян при подобных испытаниях обычно используют пшеницу, что позволяет применять имеющиеся результаты для сравнительной оценки экологической опасности других антисептиков.

В наших опытах изучены 6-суточные проростки пшеницы сорта «Люба», выращенные на дистиллированной воде или растворах антисептиков, имеющих следующие концентрации, %: катан — 0,001; 0,010; 0,050; 0,100; 0,500; 1,000; ЭОК — 0,001; 0,010; 0,100; 0,250; 0,500; К-12 — 0,001; 0,005; 0,010; 0,025. На 6-е сутки определяли длину корней и надземной части, их сырую и сухую (после 3-суточного высушивания на воздухе) массу. Для получения достоверных результатов опыты повторяли четыре раза. Корни проростков, выращенных на дистиллированной воде, помещали в бюксы, содержащие 3 мл дистиллированной воды и инкубировали в течение 5 ч при температуре  $+29^{\circ}\text{C}$ . После инкубации добавляли по 50 мкл катана, К-12 (массовая доля 0,06 %) и ЭОК (0,60 %), через 1 ч — 500 мкл адреналина (концентрация  $10^{-3}$  М). Генерацию супероксидного радикала оценивали по превращению в течение 15 мин адреналина в адrenoхром, который учитывали спектрофотометрически при длине волны, равной 490 нм. В контрольных опытах адреналин вносили вместе с дистиллированной водой.

Установлено, что 0,001 %-й раствор катана подавляет рост надземной части проростков пшеницы, но не влияет на рост корней. Увеличение концентрации антисептика приводит к снижению роста, при-

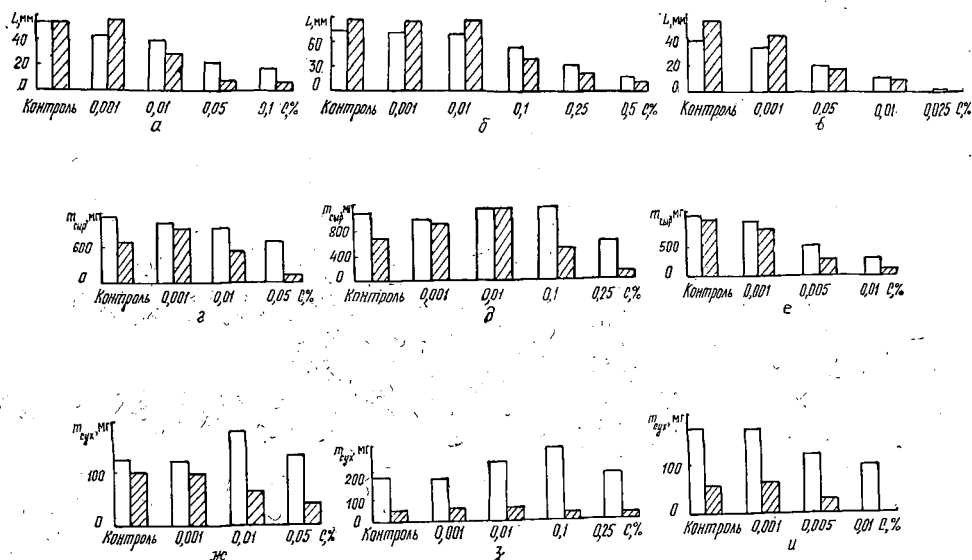


Рис. 1. Влияние катана (а, г, ж), ЭОК (б, д, з) и К-12 (в, е, и) на длину  $L$  (а, б, в), сырую  $m_{\text{сыр}}$  (г, д, е) и сухую  $m_{\text{сух}}$  (ж, з, и) массу корней (заштрихованная часть диаграммы) и надземной части (незаштрихованная часть) проростков семян растений

чем это в большей степени сказывается на корнях. Значительно угнетает рост 0,5 %-й раствор катана.

Интересными являются данные об увеличении сырой массы  $m_{\text{сыр}}$  корней при действии 0,001 %-го раствора катана (рис. 1, а, з, ж). При этом их длина  $L$  и сухая масса  $m_{\text{сух}}$  остаются неизменными. Это позволяет сделать вывод о том, что при действии катана (0,001 %) происходит увеличение оводненности корневых клеток (см. таблицу). Как установлено ранее [9], обработка катамином АБ, который является основным биоактивным ингредиентом катана, приводит к утолщению и разрыхлению клеточной стенки, что, вероятно, способствует возрастанию связывания воды и большей обводненности корней в целом.

При увеличении концентрации катана общее содержание воды в надземной части снижается более резко, чем в корнях проростков. Сравнение содержания воды в различных частях проростков свидетельствует о том, что под действием катана корни не только связывают большее количество воды, но и, вероятно, обладают меньшей способностью подавать ее в надземную часть. Последнее можно объяснить угнетением энергетического обмена (например, снижением интенсивности дыхания) и торможением основного транспорта воды из корней в надземную часть.

Влияние антисептиков для древесины на общее количество воды в проростках семян растений

Массовая доля антисептика С, %	Катан						ЭОК					
	Корень			Наземная часть			Корень			Наземная часть		
	$\bar{x}$	$\sigma$		$\bar{x}$	$\sigma$		$\bar{x}$	$\sigma$		$\bar{x}$	$\sigma$	
Контроль	87,1	+0,6	86,8	+0,3	87,9	+0,9	85,3	+2,0	92,1	+0,6	81,5	+2,1
0,001	89,6	+1,6	86,6	+0,8	91,4	+0,8	84,6	+1,4	90,8	+1,1	80,7	+0,4
0,005	—	—	—	—	—	—	—	—	88,7	+0,2	73,1	+1,1
0,010	87,0	+0,4	80,4	+0,8	92,9	+0,2	80,8	+0,1	—	—	72,3	+6,5
0,050	78,5	+2,2	77,8	+2,3	—	—	—	—	—	—	—	—
0,100	—	—	—	—	92,2	+0,1	76,1	+1,5	—	—	—	—
0,250	—	—	—	—	86,1	+2,1	71,0	+2,3	—	—	—	—

Примечание.  $\bar{x}$  — среднее арифметическое значение содержания воды в проростках семян растений;  $\sigma$  — среднеквадратичное отклонение.

При действии 0,001 %-го и 0,010 %-го растворов ЭОК длина корней и сухая масса не изменились, тогда как сырая масса увеличилась на 30...60%. Результаты опытов представлены на рис. 1, б, д, з.

Из приведенных данных (рис. 1, см. таблицу) видно, что обработка антисептиком ЭОК способствует увеличению оводненности корневых клеток. Как и в случае с антисептиком катан, содержание воды может увеличиваться из-за большего ее поступления в клетки корня и связывания в отдельных частях клетки. По-видимому, происходит усиление связывания воды клеточной стенкой, что является одной из причин большей оводненности корней проростков в целом. Увеличение концентрации антисептика ЭОК приводит к резкому снижению роста корней, их сырой и сухой массы, а также общего количества воды.

ЭОК с концентрацией 0,001 % не оказывает влияния на рост надземной части проростков, их сырую и сухую массу. Увеличение концентрации (0,01% и 0,10 %) несколько способствует снижению роста надземной части; тогда как сырая масса не изменяется, а сухая — значительно возрастает. Дальнейшее повышение концентрации ЭОК снижает рост надземной части проростков, а также ее сырую и сухую массу, что свидетельствует об уменьшении оводненности клеток, т. е. общего количества воды (см. таблицу).

При действии 0,001 %-го раствора К-12 длина корней уменьшается на 30% при той же длине надземной части (рис. 1, в, е, и). При этом сырая и сухая масса корней и надземной части не изменяется. Повышение концентрации К-12 снижает рост корней проростков в большей степени, чем надземной части. Как установлено, 0,025 %-й раствор К-12 практически полностью ингибирует рост корней и надземной части. Дальнейшее увеличение концентрации К-12 сопровождается значительным снижением сухой и сырой массы как корней, так и надземной части, а также общего количества воды (см. таблицу). Подавление роста проростков опытных растений, возможно, является следствием действия К-12 на энергетический обмен.

На основании полученных данных установлено, что наименее токсичным для растений является ЭОК, подавляющий рост проростков пшеницы на 50% при концентрации 0,1...0,2%. Катан и К-12 аналогичное действие проявляют соответственно при концентрации 0,01...0,04% и 0,03...0,05%.

Антисептики для древесины стимулируют образование  $O_2^-$  в клетках корней растений. Данные опытов представлены на рис. 2.

Увеличение генерации  $O_2^-$  растениями, возможно, связано с влиянием антисептиков на мембранные структуры клетки. Вопросы образования активных форм кислорода в мембранных структурах имеют важное значение, так как с этим часто связаны различные нарушения функциональной активности и развитие повреждений мембран при действии физических, химических и абиотических факторов внешней среды, а также изменения физиологического состояния растительных клеток в онтогенезе [4].

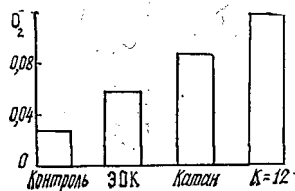


Рис. 2. Генерация супероксидного радикала  $O_2^-$  корневыми клетками за 1 ч после 5-часовой перинкубации их в воде

Катан, являющийся четвертичным аммонийным основанием, относится к классу катионных поверхностно-активных веществ (ПАВ). Литературные данные [10] свидетельствуют о том, что катионные ПАВ с низкой концентрацией, не проникая в клетку, вследствие перемещения липидов обладают литической активностью, сопровождающейся нарушением проницаемости мембран.

Антисептик ЭОК синтезирован на основе синтетических жирных кислот. Взаимосвязь между изменением физического состояния мембран и генерацией  $O_2^-$  установлена с помощью мембраномодифицирующих соединений линолевой кислоты, этанола и холестерина [11]. Линолевая кислота вызывает сильное снижение упорядоченности липидов и рост латеральной подвижности с одновременным увеличением образования  $O_2^-$ . Этанол обладает сходным эффектом, не активируя латеральную подвижность липидов. Холестерин приводит к повышению упорядоченности и снижению латеральной подвижности липидов, сопровождающейся падением генерации  $O_2^-$ .

Антисептик К-12 содержит кремнефтористый аммоний. Известно [2], что фтористый аммоний увеличивает проницаемость клеток дрожжей. Возможно, что мембраны являются первичной мишенью для фторидов [8].

В результате исследований обнаружена корреляция между влиянием антисептиков на рост проростков растений и генерацией  $O_2^-$  в клетках корней. Так, наиболее токсичный антисептик К-12 приводит к увеличению генерации  $O_2^-$  в 4 раза по сравнению с контролем, а наименее токсичный ЭОК — в 2 раза. Корреляционная зависимость между токсичностью антисептиков и генерацией активных форм кислорода растениями может быть применена в качестве тест-системы при оценке степени токсичности антисептиков для древесины.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1]. Аверьянов А. А. Активные формы кислорода и иммунитет растений // Успехи современной биологии.— 1991.— Т. III, вып. 5.— С. 722—737. [2]. Корреляция между проницаемостью клеток дрожжей и их устойчивостью к фтору / М. Г. Саубенова, У. С. Мухамедиева, Р. И. Баймуратова, Л. К. Хмелевская // Регуляция микробного метаболизма: Тез. докл. Всесоюз. конф., 12—14 июня 1989 г.— Пушкино, 1989.— С. 108—109. [3]. Максимов Н. А. Краткий курс физиологии растений.— М.: Сельхозгиз, 1958.— 559 с. [4]. Мерзляк М. Н. Активированный кислород и окислительные процессы в мембранах растительной клетки // Итоги науки и техники. Сер. Физиология растений.— 1989.— Т. 6.— С. 1—168. [5]. Николаев О. Н., Аверьянов А. А. Влияние трициклозола и дизитилдитиокарбамата натрия на антиокислительные свойства и патогенность гриба *Pyricularia oryzae* // Агрохимия.— 1991.— Вып. 2.— С. 110—117. [6]. Николаев О. Н., Аверьянов А. А. Участие супероксидного радикала в механизме фунгицидного действия фталида и пробензола // Физиология растений.— 1991.— Т. 38, вып. 3.— С. 512—520. [7]. Остроумов С. В. Поиск регуляторов // Биохимия и защита среды.— М.: Знание, 1984.— С. 11—69. [8]. Пронин С. В., Жуков В. Г., Торсунова Э. М. Влияние катионного поверхностно-активного вещества (катамин АБ) на физиолого-морфологические свойства *B. cereus* и *E. coli* // Изв. АН СССР.— 1991.— № 1.— С. 31—42. [9]. Сравнение антимикробных свойств катамина АБ и роккала и их действие на мембранные системы бактерий / Э. А. Рудзит, В. А. Ермаченко, Т. Н. Нецадим и др. // Антибиотики.— 1981.— Т. 26, № 11.— С. 847—852. [10]. Isomaa B. Interaction of surface active alcytrimetil ammonium salts with the erythrocyt membrane // Biochem. Pharmacol.— 1979.— Vol. 28.— P. 975. [11]. Protcase priming of neutrophil superoxid production: Effect on membrane lipid order and lateral mobility / D. J. Kusner, J. N. Aucott, S. P. Franceschi, C. H. King // J. Biol. Chem.— 1991.— 226, N 25.— P. 16465—16471.