

\*\*\*

Төменгі температуралар әсері барысында бидайларды өсіруде изоэлектрикалық нүктелер бойынша ажырататын изопероксидаз активтілігінің өзгермелігі орнатылды. Жалпы, қатынасты және пероксидаздардың көптеген молекулалық формаларының бөліну активтілігі, изоэлектрофокустан бөлінгендер бойынша бидайлар генотиптерінің арасындағы ұқсастық пен өзгешелік шаралары кластерлі сараптама көмегімен бағаланды

\*\*\*

Wheat seedlings responded to low temperatures with specific activity changes in peroxidase isoenzymes differing in isoelectric points. With the use of cluster analysis, similarities and differences between the wheat genotypes were evaluated by total, relative and specific activity in multiple peroxidase forms separated by isoelectric focusing.

**О.М. Цивилева<sup>1</sup>, И.М. Учаева<sup>2</sup>, А.Н. Панкратов<sup>3</sup>, Ю.Д. Маркович<sup>4</sup>, В.Е. Никитина<sup>1</sup>**  
**АКРИДОН-N-УКСУСНАЯ КИСЛОТА В ИСКУССТВЕННОЙ КУЛЬТУРЕ БАЗИДИОМИЦЕТА:**  
**ПЕРВОНАЧАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НА ПРИМЕРЕ *Lentinula edodes***

(Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, Россия<sup>1</sup>,  
Саратовский государственный технический университет им. Ю.А. Гагарина, Саратов, Россия<sup>2</sup>,  
Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия<sup>3</sup>,  
Юго-Западный государственный университет, Курск, Россия<sup>4</sup>)

Никаких сведений о влиянии соединений ряда акридона на какой-либо аспект жизнедеятельности высших грибов класса Basidiomycetes в литературе нами не обнаружено. Между тем исследование характера воздействия соединений названного ряда на разнообразные живые системы необходимо для выявления возможных неблагоприятных последствий их биологического проявления и определения экологической безопасности.

В последние годы XX века опубликован целый ряд инновационных исследований, результаты которых защищены патентами Российской Федерации, по выявлению высокой биологической активности соединений акридонового ряда [1-5]. Акридоны (или акридин-9(10H)-оны) - карбонилсодержащие гетероциклические соединения, молекулы которых обладают трициклической структурой, атомом азота в позиции 10, СО-группой у 9-го атома углерода. На основе этих веществ синтезированы эффективные противовирусные, антибактериальные, антигрибковые, иммуномодулирующие препараты [6, 7].

В пределах обширного класса природных алкалоидов с доказанной противоопухолевой активностью [8] достаточно разнообразна группа соединений ряда акридона, включающая и несколько соединений грибного происхождения (из низших грибов) [9]. Успешны попытки получения синтетических аналогов акридоновых алкалоидов, их химического синтеза [10].

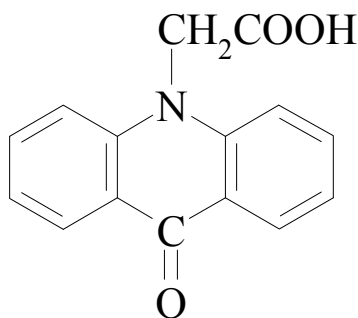
Доступности природных источников сырья для получения вышеуказанных препаратов способствует широкая распространенность акридоновых алкалоидов в природе, в основном в составе растений - представителей ряда родов семейства Rutaceae [11]. Примерами соединений с высокой биологической активностью, выявленной относительно недавно, служат арборинин (1-гидрокси-2,3-диметокси-N-метилакридон), нормеликопицин (1-гидрокси-2,3,4-триметокси-N-метилакридон) [12]. Оба соединения проявляют *in vitro* антиплазмодальную активность против двух штаммов *Plasmodium falciparum* (IC<sub>50</sub> 4-15 мкм), а нормеликопицин также подавляет в значительной степени *in vivo* развитие *Plasmodium berghei* [12]. У арборинина, а также у растительного алкалоида с более простой структурой молекулы, 1-гидрокси-N-метилакридона, обнаружена достаточно высокая цитотоксичность по отношению к клеточной линии KB (раковая опухоль ротовой полости человека) [13]. Другие природные соединения, также являющиеся производными 1-гидроксиакридона, 1,8-дигидрокси-3-метоксиакридон и 1,7-дигидроксиакридон, выделенные из растений рода *Boronia*, проявляют умеренную ингибирующую активность в отношении роста патогенных бактерий *Staphylococcus aureus* и *Salmonella typhi* [14].

Выявляются все новые представители группы природных соединений - акридоновых алкалоидов, биологическую активность которых еще только предстоит внедрить в практику. Так, В.В. Tsassi с коллегами в 2011 г. представил работу [15] по исследованию (масс-спектрометрия высокого разрешения, ИК, УФ, ЯМР) и характеристике структуры молекулы нового акридонового алкалоида цитропридона. 3,8-Дигидрокси-1-метокси-10-метилакридин-9(10H)-он получил название цитропридон по латинскому названию растения-производителя *Citropsis gabunensis*, из которого этот вторичный метаболит был выделен.

Оценку опасности ксенобиотиков для экосистем обычно проводят с помощью стандартного набора биологических тест-объектов. Метод биотестирования стандартизирован далеко не для всех

веществ, актуальным является поиск культивируемых микроорганизмов, в том числе микологических культур, которые могли бы использоваться для всесторонней оценки токсичности ксенобиотиков.

В настоящей работе для проводимого впервые исследования воздействия акридон-N-уксусной кислоты (АУК) на грибы использовали культуру базидиомицета *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler [*Lentinus edodes* (Berk.) Singer] (шиитаке).



9-Оксоакридин-10(9H)-ил)уксусная кислота  
(синонимы: 9-оксо-10(9H)акридинуксусная кислота, или 2-(9-оксоакридин-10-ил)уксусная кислота),  
международное тривиальное название (INN) cridanimod, CAS 38609-97-1

Основным объектом исследования послужил штамм *L. edodes* F-249 из коллекции высших базидиальных грибов кафедры микологии и альгологии Московского государственного университета. Культуру гриба поддерживали на сусло-агаре (4° по Баллингу) при 4 °С.

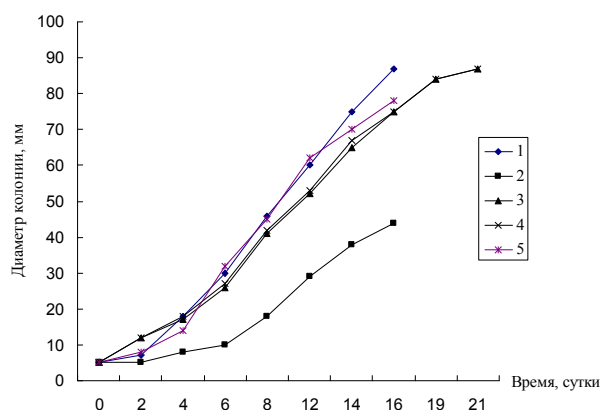
Для выращивания культуры *L. edodes* использовали глюкозо-аспарагиновую синтетическую среду состава (г/л): D-глюкоза - 9; L-аспарагин - 1.5. Для получения плотных сред в питательные растворы добавляли 2 % (m/v) агара. При исследованиях с участием соединения акридоновой природы в глюкозо-аспарагиновую среду непосредственно перед посевом в стерильных условиях вносили в виде растворов в смеси этанол: H<sub>2</sub>O (1:1, v/v) акридон-N-уксусную кислоту для достижения концентрации АУК в питательной среде 1.0·10<sup>-6</sup>, 1.0·10<sup>-5</sup>, 1.0·10<sup>-4</sup>, 5.0·10<sup>-4</sup> и 1.0·10<sup>-3</sup> моль/л. Выбор указанного метода обусловлен необходимостью избежать нагревания препаратов и их возможного химического разложения при температуре автоклавирования. Водно-спиртовые растворы АУК или водно-спиртовой растворитель того же объема (в контрольных опытах) добавляли в боксе в каждую из колб с жидкой средой либо расплавленной агаризованной средой, достигшей при остывании после автоклавирования температуры около 40 °С, перед заполнением чашек Петри.

Действие АУК на рост грибной культуры на жидких средах изучали в интервале значений концентрации АУК в среде 1.0·10<sup>-6</sup>-1.0·10<sup>-3</sup> моль/л, на агаризованных средах - в интервале значений концентрации АУК 1.0·10<sup>-6</sup>-5.0·10<sup>-4</sup> моль/л. Отличия по исследуемым величинам исходной концентрации соединения - акридоновой добавки связаны с разной выраженностью ингибирования ростовых процессов шиитаке при жидкофазном и твердофазном выращивании. Культивирование проводили при 26 °С в термостате в темноте в течение 21 суток.

Для оценки роста культуры базидиомицета на агаризованных средах определяли скорость линейного роста колонии [16].

При глубинном культивировании шиитаке рост характеризовали по накоплению сухой биомассы [17]. Мицелий фильтровали через предварительно взвешенные на аналитических весах фильтры, высушивали до постоянной массы и вновь взвешивали. Сравнивали прирост биомассы (по сравнению с 3-часовыми образцами культуры на данной среде) в контрольном и опытных вариантах.

При всех величинах возраста культуры - продолжительности выращивания на агаризованных средах, с интервалом от 2 до 4 суток, осуществляли контроль роста шиитаке, измеряя диаметры колоний мицелия. Динамика прироста колоний в присутствии АУК представлена на рисунке.



**Рисунок -** Динамика прироста колоний *Lentinula edodes* F-249 под влиянием акридон-N-уксусной кислоты.

Концентрация акридон-N-уксусной кислоты в питательной среде (моль/л):

1 - 0 (контроль), 2 -  $5.0 \cdot 10^{-4}$ ; 3 -  $1.0 \cdot 10^{-4}$ ; 4 -  $1.0 \cdot 10^{-5}$ ; 5 -  $1.0 \cdot 10^{-6}$

Наиболее интенсивный радиальный рост мицелия наблюдался в период от 6 до 16 суток культивирования при всех экспериментальных условиях по параметру концентрации акридонового соединения. Стабилизация величины диаметра колонии достигалась при возрасте грибной культуры более 16 суток (рис.), этому благоприятствовал интервал величин концентраций АУК в среде  $1.0 \cdot 10^{-6}$  -  $1.0 \cdot 10^{-4}$  моль/л.

При наиболее высокой в нашем эксперименте концентрации акридонового соединения, а именно  $5.0 \cdot 10^{-4}$  моль/л, имело место резкое ингибирование роста мицелия на агаризованной среде, рост замедлялся, скорость роста снижалась почти в 2 раза по сравнению и с контролем, и с вариантами опыта при других концентрациях АУК. Рост мицелия при этом практически прекращался, не фиксировался при дальнейших длительных (90 суток) наблюдениях.

Показано, что прирост биомассы шиитаке в присутствии АУК наблюдался с увеличением срока жидкофазного культивирования, достигая максимумов через 7, 14 и 21 сутки выращивания. Рост биомассы мицелия подавлялся при концентрации акридоновой добавки в среде  $1.0 \cdot 10^{-6}$  моль/л, а также при уровне АУК выше  $5.0 \cdot 10^{-4}$  моль/л, примерно на 40 % по сравнению с контролем. Наибольший прирост массы мицелия достигался при концентрации акридонового соединения в питательной среде, равной  $1.0 \cdot 10^{-5}$  моль/л.

Таким образом, результаты впервые предпринятых исследований эффектов экзогенных соединений акридонового ряда на культуру высшего гриба, проведенных на примере базидиомицета *Lentinula edodes* и акридон-N-уксусной кислоты как добавке к питательной среде выращивания гриба, свидетельствуют об относительной экологической безопасности этого вещества для грибного организма, в том числе об индуцировании мицелиального роста под воздействием АУК в определенной концентрации, как при твердофазном, так и при жидкофазном культивировании. Фактически на основе ростовых характеристик мицелиальной культуры сделан первый шаг в направлении исследования систем “макромицет - соединение ряда акридона”, и выявлена актуальность, целесообразность дальнейшего углубленного изучения.

1. Пат. 2135474 Российская Федерация. МПК C 07 D 219/06, C 07 H 5/06, A 61 K 31/435. Соли 1-дезоксид-1-N-метиламиногексаспиртов с акридон-N-уксусной кислотой, обладающие иммуномодулирующей активностью, и лекарственное средство на их основе / О.В. Травкин. Заявл. 19.08.1998, № 98115355/04; Оpubл. 27.08.1999.

2. Пат. 2118532 Российская Федерация. МПК A 61 K 31/73, A 61 K 31/435. Противовирусное, противовоспалительное и противоопухолевое лекарственное средство / О.В. Травкин; Е.В. Яковлева. Заявл. 10.04.1996, № 96106515/14; Оpubл. 10.09.1998.

3. Пат. 2036198 Российская Федерация. МПК C 07 H 5/06, C 07 D 219/10. N-метил-N-( $\alpha$ ,D-глюкопиранозил) аммония-2-(акридон-9-он-10-ил)ацетат (циклоферон), обладающий интерферонотропной, противовирусной, в том числе ингибирующей, антипаразитарной, антипромоторной и радиопротективной активностью / Н.П. Чижов, Р.А. Купчинский, Л.Е. Алексеева; А.Л. Коваленко, М.А. Борисова. Заявл. 01.04.1993, № 93017260/04; Оpubл. 27.05.1995.

4. Пат. 2076710 Российская Федерация. МПК A 61 K 31/535. Лекарственное средство для лечения опухолевых заболеваний / Р.А. Купчинский, Н.П. Чижов, А.Л. Коваленко, Л.Е. Алексеева, М.А. Борисова. Заявл. 19.07.1993, № 93037428/14; Оpubл. 10.04.1997.

5. Пат. 2052264 Российская Федерация. МПК А 61 К 31/33. Лекарственное средство для лечения вирусных заболеваний у животных / А.Л. Коваленко, Л.Е. Алексеева, Н.П. Чижов, М.А. Борисова, Р.А. Купчинский. Заявл. 19.07.1993, № 93037429/15; Оpubл. 20.01.1996.
6. Маркович Ю.Д., Пелевин Н.А., Акимова Н.С. Получение акридон-2-сульфоукислоты и изучение ее антимикробной активности // Изв. Курск. гос. технич. ун-та. - 2007. - № 1. - С. 35-39.
7. Горшенина Н.С., Учаева И.М., Панкратов А.М., Маркович Ю.Д., Губина Т.И. Биологическая активность соединений ряда акридона: эксперимент и квантовохимическое рассмотрение // Техногенная и природная безопасность - ТПБ-2011: Сборник науч. трудов Первой Всероссийской научно-практич. конфер. Саратов, 1-3 февраля, 2011 / Редколлегия: С.М. Рогачева, А.М. Козлитин, И.М. Учаева. Саратов: ИЦ "Наука", 2011. С. 38-41.
8. Souto A.L., Tavares J.F., Da Silva M.S., De Diniz M.F.F.M., De Athayde-Filho P.F., Barbosa Filho J.M. Anti-Inflammatory Activity of Alkaloids: An Update from 2000 to 2010 // Molecules. - 2011. - Vol. 16, № 10. - P. 8515-8534.
9. Michael J.P. Quinoline, Quinazoline and Acridone Alkaloids // Nat. Prod. Rep. - 2004. - Vol. 21, № 5. - P. 650-668.
10. Chen J.J., Dedy L.W., Mackay M.F. Synthesis of Some Acridone Alkaloids and Related Compounds // Tetrahedron. - 1997. - Vol. 53, № 37. - P. 12717-12728.
11. Dos Santos D.A.P., Vieira P.C., Da Silva M.F.G.F., Fernandes J.B., Rattray L., Croft S.L. Antiparasitic Activities of Acridone Alkaloids from *Swinglea glutinosa* (Bl.) Merr. // J. Braz. Chem. Soc. - 2009. - Vol. 20, № 4. - P. 644-651.
12. Muriithi M.W., Abraham W.-R., Addae-Kyereme J., Scowen I., Croft S.L., Gitu P.M., Kendrick H., Njagi E.N.M., Wright C.W. Isolation and *in Vitro* Antiplasmodial Activities of Alkaloids from *Teclea trichocarpa*: In Vivo Antimalarial Activity and X-ray Crystal Structure of Normelicopicine // J. Nat. Prod. - 2002. - Vol. 65, № 7. - P. 956-959.
13. Wu T.-S., Shi L.-S., Wang J.-J., Iou S.-C., Chang H.-C., Chen Y.-P., Kuo Y.-K., Chang Y.-L., Teng C.-M. Cytotoxic and Antiplatelet Aggregation Principles of *Ruta graveolens* // J. Chin. Chem. Soc. - 2003. - Vol. 50, № 1. - P. 171-178.
14. Islam S.K.N., Gray A.I., Waterman P.G., Ahasan M. Screening of Eight Alkaloids and Ten Flavonoids Isolated from Four Species of the Genus *Boronia* (Rutaceae) for Antimicrobial Activities Against Seventeen Clinical Microbial Strains // Phytother. Res. - 2002. - Vol. 16, № 7. - P. 672-674.
15. Tsassi B.V., Hussain H., Geagni A., Dongo E., Ahmed I., Riaz M., Krohn K. Citropramide and Citropridone: A New Ceramide and a New Acridone Alkaloid from the Stem Bark of *Citropsis gabunensis* // Helv. Chim. Acta. - 2011. - Vol. 94, № 6. - P. 1035-1040.
16. Бухало А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. - Киев: Наукова думка. - 1988. - 144 с.
17. Методы экспериментальной микологии: Справочник / И.А. Дудка, С.П. Вассер, И.А. Элланская, Э.Э. Коваль, Л.Т. Горбик, Е.А. Никольская, В.И. Билай, Т.И. Билай, В.Н. Борисова, В.С. Сиверс, Е.Г. Мусич, Ю.В. Лизак, А.Я. Стрижевская, В.Л. Айзенберг, Л.М. Кириллова, С.И. Безбородова, А.М. Зайченко, Л.А. Загордонцев, Т.Я. Метейко, Д.Н. Черменский, С.М. Шербина, С.Н. Харченко, З.А. Курбачка, А.М. Безбородов, О.А. Берестецкий, Л.А. Богомолова, В.Ф. Патыка, М.М. Левитин, Л.А. Михайлова, И.Г. Одинцова, О.С. Афанасенко, Н.Н. Жданова, А.И. Василевская, П.Н. Кошкин, Т.С. Кириленко, А.С. Бухало, Т.И. Редчиц; Отв. ред. В.И. Билай. - Киев: Наукова думка. - 1982. - 551 с.

## ИННОВАЦИОННАЯ БИОЛОГИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ

УДК 631.527.02

*А.И. Абуғалиева, К.К. Кожахметов, Т.В. Савин*

### ОЦЕНКА И МАРКИРОВАНИЕ ДИКИХ СОРОДИЧЕЙ ПШЕНИЦЫ И ИХ ГИБРИДОВ С КОММЕРЧЕСКИМИ СОРТАМИ ПО СОДЕРЖАНИЮ Fe, Zn И СОСТАВУ ГЛЮТЕНИНА

(Казахский НИИ земледелия и растениеводства, п. Алмалыбак)

В настоящей работе классифицированы генетические ресурсы гексаплоидной пшеницы в пределах каждой изучаемой группы по содержанию Fe в зерне: более 50 мг/кг – 2,5% коммерческого и перспективного генофонда Казахстана; 43-50% в коллекциях российского происхождения и в образцах специальных генетических исследований по засухоустойчивости на уровне 49-41 мг/кг – 13,8% коммерческого генофонда. Генотипы мягкой пшеницы ранжированы по частоте встречаемости классов с содержанием Zn в зерне 45 мг/кг – 1,3% коммерческого и перспективного генофонда Казахстана; 11% для коллекции России; 51-89% - для генетического материала (в условиях богара – полив) на уровне 44-40 мг/кг – 51,2% коммерческого генофонда. Образцов с содержанием Fe > 60 мг/кг отмечено для 4% генотипов из коммерческого генофонда яровой твердой пшеницы и 21% из коллекционного питомника НИИПББ (Отар) и лишь ~1,0% из коллекции озимой твердой пшеницы. Около 14,0% всего изученного генофонда (1074 образца) характеризовались уровнем накопления Fe > 55 мг/кг. Наиболее результативным для повышения Fe в зерне оказалось включение *Tr.kiharae* [21], выделено потомство скрещиваний: Жетысу x *Tr.militinae* (2); Жетысу x *Tr.militinae* (5); (Безостая 1 x *Ae.cylindrica*) x Карлыгаш (7); Эритропермум 350 x *Tr.militinae* x Эритропермум 350 и (Прогресс x *Tr.timopheevi*) x Эритропермум 350 (61-63 мг/кг). По результатам топкроссных скрещиваний с тестерами – коммерческие и наиболее распространенные сорта Стекловидная 24, Алмалы, Жетысу выявлена для двух константных линий 1723 и 1675 передача данного признака потомству в F<sub>2</sub>-F<sub>3</sub> поколениях.

В настоящей работе классифицированы генетические ресурсы гексаплоидной пшеницы в пределах каждой изучаемой группы по содержанию Fe в зерне: более 50 мг/кг – 2,5% коммерческого и перспективного генофонда Казахстана; 43-50% в коллекциях российского происхождения и в образцах специальных генетических исследований по засухоустойчивости на уровне 49-41 мг/кг – 13,8% коммерческого генофонда. Генотипы мягкой пшеницы ранжированы по частоте встречаемости классов