

Хуго РЕММЕЛЬГ, Людмила АЛЕКСЕЕНКО

## О ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ АЛКАЛОИДОВ ЛЕПТОКЛАДИНА И ТАСПИНА

Из природных соединений растительного происхождения, обладающих токсическим действием, обширную группу образуют алкалоиды — азот-содержащие гетероциклические соединения, действующие как слабые основания.

Значение алкалоидов для содержащих их растений еще полностью не выяснено. Полагают, что они являются средством защиты для растений, конечными продуктами азотного обмена, по мнению С. Ю. Юнусова (1974), веществами, выполняющими разнообразные метаболические функции в разных органах растения в различные периоды вегетации. В ранние периоды роста алкалоидоносных растений много алкалоидов содержится в стеблях и листьях, в конце вегетации они переходят в зимующие части растения, в семена, подземную часть, а у древесных пород — в кору. В естественно отмерших частях растений алкалоидов практически нет (Юнусов, 1974).

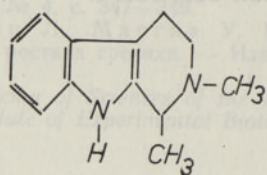
Многие алкалоиды обладают сильным физиологическим действием и широко применяются в медицине. Мутагенное действие алкалоидов менее изучено. Известно, что мутагенными свойствами обладают колхицин (Franzke, Ross, 1957) и такие пирролизидиновые алкалоиды, как монокроталин, лизокарпин, гелиотрин (Clark, 1960), фульвин и ретрозин (Cook, Holt, 1966), а также содержащийся в напитках кофе и чая оксипурин кофеин (Kuhlmann и др., 1968; Koerting-Keiffer, Mickey, 1969) и др.

Целью настоящей работы явилось изучение цитогенетического действия алкалоидов апорфиновых и гармановых групп.

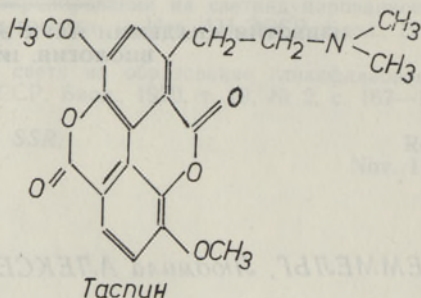
### Материал и методика

Изучали цитогенетическое действие лептокладина (гармановый алкалоид —  $C_{13}H_{16}N_2$ ) и таспина (апорфиновый алкалоид —  $C_{20}H_{19}NO_6$ ), используя метафазный метод учета аберраций на тест-объекте *Crepis capillaris* L. Названные алкалоиды получены из Всесоюзного института лекарственных растений, где лептокладин выделен из растений *Arthropytum leptocladum* M. Pop. семейства маревых, в однолетних зеленых веточках которого содержится около 3,7% алкалоида, и таспин — из *Leontice ewersmannii* Vge. семейства барбарисовых (в семенах в конце вегетации около 1,4%).

Сухие семена *C. capillaris* обрабатывали водными растворами вышеуказанных алкалоидов — лептокладином в виде хлоргидрата в концентрациях 1,0, 0,1, 0,01% и таспином в виде уксуснокислой соли в концентрациях 1,0, 0,5, 0,1 и 0,05%. Продолжительность обработки 19 ч



Лептокладин



Таспин

при 24°C. После обработки семена промывали в течение 2 ч 30 мин в проточной воде, высевали в чашки Петри и помещали в термостат, где они находились до фиксации. Корешки длиной около 5 мм помещали на 2 ч в 0,01%-ный раствор колхицина и фиксировали в смеси этанола и ледяной уксусной кислоты (3:1), окрашивали по Фельгену и готовили давленные препараты. В каждом варианте было просмотрено более 200 метафаз. Учитывали пробелы и фрагменты хромосомного и хроматидного типов и количество микроядер на корешок.

Предварительно физиологическую активность названных препаратов определяли с помощью биопробы на прорастание семян по методу А. М. Гродзинского (1965), для чего использовали семена местного сорта редиса 'Йыгева' и растворы препаратов в 1,0%-ной концентрации. Всхожесть семян определяли в момент достижения 50%-ной всхожести в контроле и переводили данные по шкале (Гродзинский, 1965) в условные единицы по кумарину (УЕК).

### Результаты

**Биопроба на прорастание семян.** Чувствительность этой биопробы находится в пределах 0—1300 УЕК (Гродзинский, 1965). Подавление всхожести наступает начиная с 8,35 УЕК. Более низкие значения свидетельствуют о стимулирующем эффекте вещества. Нами получены следующие значения УЕК: для лептокладина 164,0 и для таспина 120,0 единиц. Это означает, что оба алкалоида физиологически активны. Большей активностью отличается лептокладин.

**Анализ метафаз и количества микроядер.** Как видно из табл. 1, действие лептокладина на метафазы меристематических клеток корешков *S. capillaris* обнаруживается уже при 0,01%-ной концентрации. Пробелы большей частью хроматидного типа, но фрагменты исключительно хромосомные. Количество микроядер на корешок возрастает вместе с концентрацией раствора.

Таблица 1

Влияние лептокладина на метафазы меристематических клеток корешков *S. capillaris*

Концентрация, %	Анализировано метафаз	Пробелы		Фрагменты		Количество микроядер на корешок
		хромосомные	хроматидные	хромосомные	хроматидные	
Контроль	252	0	0	1	0	0,5
0,01	288	1	4	2	0	1,0
0,1	233	6	5	8	0	2,8
1,0	364	1	0	2	0	4,3

Таблица 2

Влияние таспина на метафазы меристематических клеток корешков  
*C. capillaris*

Концентрация, %	Анализи- ровано метафаз	Пробелы		Фрагменты		Количество микроядер на корешок
		хромо- сомные	хрома- тидные	хромо- сомные	хрома- тидные	
Контроль	298	0	0	0	0	0
0,05	201	1	0	0	0	0
0,1	311	3	1	0	0	1,4
0,5	277	0	0	0	0	3,6
1,0	368	1	2	6	0	14,0

Влияние таспина менее выражено (табл. 2). На фрагментацию хромосомом влиял только раствор 1,0%-ной концентрации. Количество микроядер начинает быстро расти с 0,1%-ной концентрации раствора.

## Обсуждение

Клетки зародышей сухих семян *C. capillaris* и некоторых других видов растений находятся в предсинтетическом  $G_1$  периоде интерфазы (Протопопова и др., 1967), где хромосомы представлены одной эффективной нитью. Длительность предсинтетического периода у *C. capillaris* различна для рано- и позднопрорастающих семян (от 8—10 до 16—18 и более часов) и коррелирует со временем начала их прорастания (Протопопова и др., 1967). То обстоятельство, что в данном исследовании обнаруживались aberrации исключительно хромосомного типа, означает, что клетки перешли в фазу синтеза только после обработки алкалоидами и что обработка велась в  $G_1$  периоде.

В данном исследовании учитывались и пробелы, ахроматические повреждения хромосом. Известно, что по крайней мере у *Vicia faba* после рентгеновского облучения наиболее частые микроскопически видимые генетические изменения, большинство из которых восстанавливается к следующему митозу (Scheid, Traut, 1971). Через 4 ч после облучения в проростках *C. capillaris* начинают появляться пробелы, дающие начало образованию анафазных фрагментов (Елисеенко, 1970). Поскольку в данном случае изучались только метафазы первых митозов, невозможно судить о дальнейшей судьбе пробелов. Как видно из табл. 1 и 2, лептокладин более активен по индуцированию пробелов. При 1,0%-ной концентрации количество пробелов (см. табл. 1) сильно падает из-за некоторого слипания хромосом.

Некоторые исследователи (Heddle, 1973; Ledebur, Schmidt, 1973) предлагают использовать при изучении цитогенетического действия веществ метод подсчета микроядер, поскольку этот тест охватывает основную массу находящихся в интерфазе клеток, которые при обычных ана- и метафазных методах не изучаются. Метод приобретает особую ценность при изучении веществ со слабым мутагенным действием. Как мы видели выше, изученные нами алкалоиды цитологически малоактивны. Приведенные в таблицах данные показывают, что метод подсчета микроядер оказался даже несколько более чувствительным, чем метафазный метод подсчета aberrаций.

Из настоящей работы вытекает, что большей цитогенетической

активностью из изученных алкалоидов обладает лептокладин, который оказался и физиологически более активным.

Авторы признательны руководству Всесоюзного института лекарственных растений и работникам лаборатории алкалоидов этого института, от которых были получены образцы алкалоидов.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Гродзинский А. М. Аллелопатия в жизни растений и их сообществ — основы химического взаимодействия растений. Киев, 1965.
- Елисеенко Н. Н. Особенности появления пробелов в хромосомах при облучении проростков молодых и старых семян *Crepis capillaris* и при модификации эффекта облучения. — Генетика, 1970, т. 6, № 5, с. 40—47.
- Протопопова Е. М., Шевченко В. В., Генералова М. В. Начало синтеза ДНК при прорастании семян *Crepis capillaris*. — Генетика, 1967, т. 3, № 6, с. 19—23.
- Станев Д. Индуцирование мутации при *Mentha piperita* L. с помощью колхицина. — Генет. и селекция, 1970, т. 3, № 2, с. 131—138.
- Юнусов С. Ю. Алкалоиды. Ташкент, 1974.
- Clark, A. M. The mutagenic activity of some pyrrolizidine alkaloids in *Drosophila*. — Z. Vererbungslehre, 1960, Bd. 91, N 1, S. 74—80.
- Cook, L. M., Holt, A. C. E. Mutagenic activity in *Drosophila* of two pyrrolizidine alkaloids. — J. Genet., 1966, v. 59, N 3, p. 273—274.
- Franzke, C. J., Ross, J. G. A lineal series of mutants induced by colchicine treatment. — J. Heredity, 1957, v. 48, N 2, p. 47—50.
- Heddle, J. A. A rapid *in vivo* test for chromosomal damage. — Mutation Res., 1973, v. 18, N 2, p. 187—190.
- Koerting-Keiffer, L. E., Mickey, G. H. Einwirkung von Koffein auf Chromosomen. — Z. Pflanzenzüchtung, 1969, Bd. 61, N 3, S. 244—251.
- Kuhlmann, W., Fromme, H.-G., Heege, E.-M., Ostertag, W. The mutagenic action of caffeine in higher organisms. — Cancer Res., 1968, v. 28, N 11, p. 2375—2389.
- Ledebur, M. von, Schmidt, W. The micronucleus test. Methodological aspect. — Mutation Res., 1973, v. 19, N 1, p. 109—117.
- Scheid, W., Traut, H. Visualization of achromatic lesions (gaps) induced by X-rays in chromosomes of *Vicia faba* by staining of chromosomal proteins. — Mutation Res., 1971, v. 12, N 1, p. 97—99.

Институт экспериментальной биологии  
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию  
30/XII 1977

Hugo REMMELG, Ljudmila ALEKSEJENKO

#### ALKALOIDIDE LEPTOKLADIINI JA TAPIINI TSÜTOGENEETILISEST TOIMEST

##### Resüme

Artiklis on käsitletud leptokladiini ja tasiini toimet *Crepis capillaris*'e juuremeristeemi rakkudele. Seemneid töödeldi 19 tundi temperatuuril 24 °C 0,01—1% -lises lahuses. Juured fikseeriti etanooli ja jää-äädikhape segus (3:1) ning valmistati ajutised surupreparaadid. Loendati fragmente ja akromaatilisi vahesis metafasaikromosoomides ning mikrotoumi interfaasirakkudes. Ilmnes, et leptokladiin on mõnevõrra aktiivsem kui tasiin ning indutseerib vahesis ja fragmente ka madala kontsentratsiooni korral. Mikrotoumade hulk sõltub kasutatud doosidest. Mõlema alkaloidi tsütogeneetiline aktiivsus on küllaltki madal.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia  
Ekspérimentaalbioloogia Instituut

Toimetusse saabunud  
30. XII 1977

Hugo REMMELG, Ludmila ALEKSEYENKO

## ABOUT THE CYTOGENETIC ACTION OF THE ALKALOIDS — LEPTOCLADINE AND TASPINE

### Summary

The action of two alkaloids — leptocladine and taspine — on the primary roots of *Crepis capillaris* was studied. The seeds were treated for 19 hours at a temperature of 24°C in 0.01–1.0 per cent concentrations of the alkaloids. The roots were fixed in ethanol : acetic acid (3 : 1), stained according to Feulgen and observed on squash preparations. Gaps and metaphase fragments were scored. The interphase cells were examined for micronuclei as well.

The alkaloid leptocladine was more active, inducing gaps and fragments already at low concentrations, whereas the effect of taspine was revealed only at high concentrations. The number of micronuclei depended on the doses used. It may be concluded that the cytogenetic activity of these two alkaloids is small enough.

Academy of Sciences of the Estonian SSR,  
Institute of Experimental Biology

Received  
Dec. 30, 1977