



ЭКСТРАКТЫ ТРУТОВЫХ ГРИБОВ УМЕНЬШАЮТ ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ ИОНОВ КАДМИЯ В HORDEUM-ТЕСТЕ

Бызова М.А., Ермошин А.А., Киселёва И.С.

ФГАОУ ВО Уральский федеральный университет им. Б.Н. Ельцина,
Россия, 620002, Екатеринбург, пр. Мира, 19
E-mail: Alexander.Ermoshin@urfu.ru

Резюме

Поиск новых регуляторов роста растений, обладающих адаптогенным и протекторным действием, например, при загрязнении среды тяжелыми металлами, представляет большой интерес. Источниками таких соединений в условиях повышенных требований к экологичности производства биологически активных веществ могут быть природные продукты, например, плодовые тела ксилотрофных грибов, широко распространенных в лесах России. В настоящей работе изучено совместное и раздельное действие ионов кадмия и экстрактов четырех видов ксилотрофных базидиомицетов – *Inonotus obliquus*, *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis pinicola*, *Ganoderma applanatum* на митотический индекс и частоту aberrаций митоза у растений ячменя. В Hordeum-тесте показано, что рост концентрации ионов кадмия в среде проращивания растений в диапазоне от 100 до 2000 μM вызывал увеличение процента хромосомных aberrаций, при этом митотический индекс у опытных растений снижался не более, чем на 10% при добавлении 100 и 200 μM Cd^{2+} по сравнению с контрольными, а при больших концентрациях его падение составило 15-46%. Добавление в среду экстрактов трутовых грибов без внесения ионов кадмия не приводило к появлению хромосомных aberrаций в клетках, и митотические индексы сохранялись на уровне контроля, за исключением действия экстракта чаги, который вызывал ингибирующее действие на митотическую активность клеток корня ячменя. Совместное использование экстрактов ксилотрофных базидиомицетов и ионов кадмия снижало цитотоксичность последнего: применение экстрактов всех четырех видов грибов предупреждало появление хромосомных aberrаций. Наибольшее протекторное действие на способность клеток меристем делиться оказывали экстракты чаги и Ганодермы плоской. Таким образом, эти два вида можно рассматривать как перспективные источники сырья для получения биопрепаратов защитного действия, применяемых в сельском хозяйстве.

Ключевые слова: митотический индекс, хромосомные aberrации, ионы кадмия, ячмень, чага, экстракты грибов.

Цитирование: Бызова М.А., Ермошин А.А., Киселёва И.С. Экстракты трутовых грибов уменьшают цитотоксичность ионов кадмия в Hordeum-тесте // *Biomics*. 2022. Т.14(4). С. 310-314. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2022-30

© Авторы

POLYPORE FUNGUS EXTRACTS REDUCE CYTOTOXICITY OF CADMIUM IONS IN THE HORDEUM TEST

Byzova M.A., Ermoshin A.A., Kiseleva I.S.

Ural Federal University named after B.N. Yeltsin, Russia, 620002, Ekaterinburg, 19 Mira Ave.
E-mail: Alexander.Ermoshin@urfu.ru

Resume

The search for new plant growth regulators that have an adaptogenic and protective effect, for example, in polluted with heavy metals environment, is of great interest. Under the requirements for the environmental friendliness, natural products can be considered as prospective sources of such biologically active substances, for example, the fruiting bodies of xylotrophic fungi, which are widespread in the forests of Russia. In this work the joint and separate effects of cadmium ions and extracts from four species of xylotrophic basidiomycetes – *Inonotus obliquus*, *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis pinicola*, and *Ganoderma applanatum* – on the mitotic index and frequency of mitotic aberrations were studied in barley plants. The *Hordeum*-test showed that an increase in the concentration of cadmium ions in the growth medium in the range from 100 to 2000 μM caused an increase in the percentage of chromosome aberrations, while the mitotic index in experimental plants decreased by no more than 10% in the case of 100 and 200 μM Cd^{2+} compared with the control, and at high concentrations, its fall was 15-46%. The addition of tinder fungi extracts to the medium without addition of cadmium ions did not lead to the chromosomal aberrations in cells, and mitotic indices remained at the control level, except for the chaga extract, which caused an inhibitory effect on the mitotic activity in barley root cells. The combined use of extracts of xylotrophic basidiomycetes and cadmium ions reduced the cytotoxicity of the latter: the use of extracts of all four fungal species prevented chromosomal aberrations. The extracts of chaga and *G. applanatum* had the greatest protective effect on the ability of meristem cells to divide. Thus, these two species can be considered as promising natural sources for biopreparations with a protective effect perspective for agriculture usage.

Key words: mitotic index, chromosomal aberrations, cadmium ions, barley, chaga, fungi extracts.

Citation: Byzova M.A., Ermoshin A.A., Kiseleva I.S. Polypore fungus extracts reduce cytotoxicity of cadmium ions in the *Hordeum* test. *Biomics*. 2022. V.14(4). P. 310-314. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2022-30 (In Russian)

© Authors

Введение

Антропогенная деятельность человека приводит к загрязнению окружающей среды, которое впоследствии негативно влияет на урожайность сельскохозяйственных культур, состояние здоровья населения и т. д. Тяжелые металлы занимают одно из первых мест среди поллютантов почвы, водных источников и атмосферы. На Среднем Урале в Свердловской области, территории которой характеризуются повышенным природным фоном этих элементов, а также значительными их выбросами в результате деятельности горно-перерабатывающих и металлургических предприятий, эта проблема стоит очень остро. В последние десятилетия для снижения негативного действия токсинов на живые организмы активно применяют препараты из природного сырья, обладающие антиоксидантной, хелатирующей, витаминной и адаптогенной активностью. В первую очередь это фитопрепараты, в меньшей степени – фунгопрепараты.

Практически вся территория Свердловской области покрыта лесами, поэтому она располагает значительными запасами базидиальных грибов, биологическая активность которых не в полной мере изучена к настоящему времени. Среди встречающихся на Среднем Урале трутовых грибов подробно охарактеризованы, изучены и используются как биопрепараты биологически активные вещества из Трутовика скошенного или чаги, тогда как другие виды, обладая разнообразными биологически

активными веществами, чаще рассматриваются только как вредители лесного хозяйства [Dasgupta et al., 2019]. Ранее нами было показано, что наиболее распространенные в Свердловской области дереворазрушающие грибы обладают высокой антиоксидантной активностью [Ermoshin et al., 2021a] и способны снижать токсичное действие ионов кадмия на рост растений ячменя [Ermoshin et al., 2021b].

Ячмень является одной из основных сельскохозяйственных культур на Среднем Урале. Кроме того, наряду с луком и бобами он используется в качестве стандартной тест-культуры для определения цитотоксичности и генотоксичности препаратов в санитарной и экологической экспертизе [Ларикова и др., (Larikova et al.), 2012; Дикарев и др. (Dikarev et al.), 2018].

Кадмий – один из наиболее токсичных тяжелых металлов. Несмотря на то, что он не обладает переменной валентностью, его ионы способны вызывать в клетках окислительный стресс. Кроме того, показана его мутагенная и митотоксическая активность [Shi et al., 2016; Hassan et al., 2021].

Цель нашей работы – изучить влияние экстрактов плодовых тел четырех видов трутовых грибов на процессы пролиферации клеток в *Hordeum*-тесте и проверить наличие антимутагенной активности у данных экстрактов. Для достижения цели были определены митотический индекс в зоне деления клеток первичного корня ячменя и частота aberrаций

в них у растений, выращенных в среде с разными дозами ионов кадмия или с экстрактами трутовых грибов, а также в условиях их совместного применения.

Материалы и методы

В эксперименте использовали растения ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Памяти Чепелева, пророщенные в чашках Петри с добавлением сульфата кадмия в концентрациях 100, 200, 250, 500, 1000 и 2000 μM и водно-этанольных экстрактов ксилотрофных грибов (*Inonotus obliquus*, *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis pinicola*, *Ganoderma applanatum*) в концентрациях 1 и 2 мг сухой массы грибов/мл экстрагента, а также их смеси (200 μM + 1 мг/л). Концентрации подобраны в предыдущем исследовании [Ermoshin et al., 2021b]. На 7-е сутки корни растений фиксировали в смеси этанола и уксусной кислоты (3:1) и хранили в 70% этаноле. Для определения митотического индекса образцы мацерировали в 15% салициловом спирте и окрашивали ацетокармином, после чего готовили давленный препарат, в котором подсчитывали число делящихся клеток и встречаемость хромосомных

аббераций с использованием микроскопа МТ4300L (Meiji Techno, Япония) с объективом $\times 100$. Достоверность наблюдаемых отличий определяли по критерию Фишера [Ларикова и др. (Larikova et al.), 2012; Дикарев и др. (Dikarev et al.), 2018].

Результаты и обсуждение

В нашем эксперименте митотический индекс в корешках ячменя не превышал 2%, что является невысокой величиной для данного показателя. Это может быть связано как с индивидуальной особенностью сорта, так и с тем, что фиксацию материала для данного анализа проводили в вечернее время, когда митотический индекс у проростков ячменя минимален [Уткина и др. (Utkina et al.), 1976].

Добавление ионов кадмия в среду выращивания в концентрации 500 μM и более вызывало небольшое снижение митотического индекса (таблица), хотя ранее нами было обнаружено дозозависимое ингибирование роста корня ячменя во всем диапазоне использованных концентраций от 100 до 2000 μM [Ermoshin et al., 2021b]. С ростом концентрации ионов кадмия в среде значительно увеличивалось число хромосомных аббераций (таблица).

Таблица. Митотический индекс и доля аномалий митоза в корнях ячменя при действии экстрактов грибов и ионов кадмия
Table. Mitotic index and proportion of mitotic abnormalities in barley roots, under the impact of fungi extracts and cadmium ions

Вариант Variant of the experiment	Митотический индекс, % Mitotic index, %	Доля хромосомных аббераций в митозе, % Share of chromosome aberrations in mitosis, %
Контроль (Control)	1,93%	0,0%
Экстракт <i>Inonotus obliquus</i> , 2 мг/мл	0,86% *	0,0%
Экстракт <i>Fomes fomentarius</i> , 2 мг/мл	1,81%	0,0%
Экстракт <i>Fomitopsis pinicola</i> , 2 мг/мл	1,78%	0,0%
Экстракт <i>Ganoderma applanatum</i> , 2 мг/мл	1,87%	0,0%
Cd^{2+} 100 μM	1,73%	32,4% *
Cd^{2+} 200 μM	1,77%	37,8% *
Cd^{2+} 250 μM	1,69%	44,4% *
Cd^{2+} 500 μM	1,64%	62,9% *
Cd^{2+} 1000 μM	1,55%	66,7% *
Cd^{2+} 2000 μM	1,32% *	89,3% *
Cd^{2+} 250 μM + Экстракт <i>Inonotus obliquus</i> , 1 мг/мл	1,94%	0,0%
Cd^{2+} 250 μM + Экстракт <i>Fomes fomentarius</i> , 1 мг/мл	0,90% *	0,0%
Cd^{2+} 250 μM + Экстракт <i>Fomitopsis pinicola</i> , 1 мг/мл	1,32%	0,0%
Cd^{2+} 250 μM + Экстракт <i>Ganoderma applanatum</i> , 1 мг/мл	1,70%	0,0%

* – отличия от контроля достоверны при $p < 0,05$ / * – differences from control are significant at $p < 0.05$

Полученные результаты свидетельствуют о митотоксическом и генотоксическом действии ионов кадмия, однако, мы полагаем, что результаты могут быть несколько завышенными из-за небольшой выборки делящихся клеток.

Экстракты исследуемых грибов в целом не оказывали воздействия на митотический индекс и не индуцировали хромосомные aberrации, что говорит о безопасности их применения. Исключение составляет экстракт чаги – в этом варианте наблюдали достоверное снижение митотического индекса без возникновения аномалий митоза. Наблюдаемый эффект согласуется с известными данными об использовании чаги в комплементарной терапии онкологических заболеваний, поскольку ее препараты замедляют рост опухолей, т.е. биологически активные вещества чаги ингибируют деление клеток.

При совместном действии ионов кадмия в концентрации 250 мкМ и грибных экстрактов в дозе 1 мг/мл хромосомные aberrации не возникали, а митотический индекс возвращался к значениям контроля во всех образцах, кроме варианта с экстрактом *Fomes fomentarius*. Вероятно, экстракт этого гриба не обладал протекторным действием, а при взаимодействии с ионами кадмия даже усиливал их негативный эффект. Понимание причины этого эффекта требует дополнительных исследований.

Заключение

Широкое распространение тяжелых металлов во всех средах жизни, в том числе, на территориях, используемых в растениеводстве, требует поиска препаратов, препятствующих токсическому действию поллютантов. В нашем исследовании проведено изучение протекторной активности экстрактов четырех видов трутовых грибов как возможных биопрепаратов, повышающих устойчивость растений ячменя к ионам кадмия. Показано, что экстракты *Inonotus obliquus*, *Fomitopsis pinicola* и *Ganoderma applanatum* в концентрации 1 мг/мл снижают цитотоксическое действие ионов кадмия (250 мкМ), при этом сами экстракты, за исключением чаги (*Inonotus obliquus*), не влияют на процесс деления клеток в корнях ячменя. Снижение митотической активности в тесте с экстрактом чаги может служить подтверждением её действия как цитостатика, что используется в лечении и профилактике онкологических заболеваний. Все изученные экстракты обнаружили протекторное действие в отношении возникновения хромосомных aberrаций при токсическом действии ионов кадмия. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о возможности применения экстрактов трутовых грибов как биопротекторных препаратов для сельского хозяйства, а также перспективности их исследования с

целью создания биологически активных добавок для нутрицевтики и медицины.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования, проект FEUZ-2021–0014.

Литература

1. Дикарев В.Г., Гераськин С.А., Дикарев А.В., Дикарева Н.С. Сравнительный анализ эффективности использования интеркалярных и апикальных меристем ячменя для биоиндикации генотоксического действия свинца // Экологическая генетика. 2018. Т. 16. № 3. С. 37–46. DOI: 10.17816/ecogen16337-46
2. Ларикова, Н.В., Бабошкина, С.В., Лиходумова, И.Н., Белецкая, Н.П., Пузанов, А.В., Кириллов, В.В., Горбачев, И.В. Генотоксикологическая оценка питьевой воды и некоторые показатели заболеваемости населения Северо-Казахстанской области // Экологическая генетика. 2012. Т. 10 № 4. С.40-49.
3. Уткина И. А. Синягина И.М. Суточная динамика митозов в корневой меристеме ячменя / Материалы по экологии и физиологии растений уральской флоры. Свердловск: УрГУ, 1976. С. 42–50.
4. Dasgupta A., Acharya K. Mushrooms: an emerging resource for therapeutic terpenoids// Biotech. 2019. V. 9(10). 369. DOI:10.1007/s13205-019-1906-2
5. Ermoshin A., Sinenko O., Nikkonen I., Novikov V., Kiseleva I. Extracts of xylotrophic fungi reduce toxic effects of cadmium ions in barley // AIP Conference Proceedings. 2021a. V. 2388.030006. DOI:10.1063/5.0068513
6. Ermoshin A.A., Kiseleva I.S., Nikkonen I.V., Nsengiumva D.S., Duan S., Ma C., Kurchenko V.P. Antioxidant activity and Chemical Composition of Extracts from Fruiting Bodies of Xylotrophic Fungi Growing on Birch. // Journal of Siberian Federal University. 2021b. V. 14(3). P. 339–353. DOI:10.17516/1997-1389-0354
7. Hassan M., Israr M., Mansoor S., Hussain S.A., Basheer F. Acclimation of cadmium-induced genotoxicity and oxidative stress in mung bean seedlings by priming effect of phytohormones and proline // PLOS ONE. 2021. V. 16.(9): e0257924. DOI:10.1371/journal.pone.0257924
8. Shi Q., Wang J., Zou J., Jiang Z., Wu H., Wang J., Jiang W., Liu D. Cadmium localization and its toxic effects on root tips of barley // Zemdirbyste-Agriculture. 2016. V. 103. No. 2. p. 151–158. DOI: 10.13080/z.a.2016.103.020

References

1. Dasgupta A., Acharya K. Mushrooms: an emerging resource for therapeutic terpenoids. *Biotech.* 2019. V. 9(10). 369. DOI:10.1007/s13205-019-1906-2

2. Dikarev V.G., Geras'kin S.A., Dikarev A.V., Dikareva N.S. Sravnitel'nyy analiz effektivnosti ispol'zovaniya interkalyarnykh I apikal'nykh meristem yachmenya dlya bioindikatsii genotoksicheskogo deystviya svintsa. *Ekologicheskaya genetika*. 2018. T. 16(3). S. 37–46. DOI: 10.17816/ecogen16337-46 2 [Comparative analysis of the effectiveness of the use of barley intercalary and apical meristems for bioindication of the genotoxic effect of lead] (in Russian)
3. Ermoshin A., Sinenko O., Nikkonen I., Novikov V., Kiseleva I. Extracts of xylotrophic fungi reduce toxic effects of cadmium ions in barley. *AIP Conference Proceedings*. 2021a. V. 2388. 030006. DOI: 10.1063/5.0068513
4. Ermoshin A.A., Kiseleva I.S., Nikkonen I.V., Nsengiumva D.S., Duan S., Ma C., Kurchenko V.P. Antioxidant activity and Chemical Composition of Extracts from Fruiting Bodies of Xylotrophic Fungi Growing on Birch. *Journal of Siberian Federal University*. 2021b. V. 14(3). P. 339–353. DOI:10.17516/1997- 1389-0354
5. Hassan M., Israr M., Mansoor S., Hussain S.A., Basheer F., et al. Acclimation of cadmium-induced genotoxicity and oxidative stress in mung bean seedlings by priming effect of phytohormones and proline. *PLOS ONE*. 2021. V. 16.№9: e0257924. DOI: 10.1371/journal.pone.0257924
6. Larikova N.V., Baboshkina S.V., Likhodumova I.N., Beletskaya N.P. Puzanov A.V., Kirillov V.V., Gorbachev I.V. Genotoksikologicheskaya otsenka pit'yevoy vody I nekotoryye pokazateli zabolevayemosti naseleniya Severo-Kazakhstanskoy oblasti. *Ekologicheskaya genetika*. 2012. T. 10(4). S.40-49. [Genotoxicological assessment of drinking water and some indicators of the incidence of the population of the North Kazakhstan region] (in Russian)
7. Utkina I. A. Sinyagina I.M. Sutochnaya dinamika mitozov v kornevoy meristeme yachmenya / *Materialy po ekologii i fiziologii rasteniy ural'skoy flory*. Sverdlovsk: UrGU, 1976. S. 42-50 [Daily dynamics of mitoses in the root meristem of barley] (in Russian)
8. Shi Q., Wang J., Zou J., Jiang Z., Wu H., Wang J., Jiang W., Liu D. Cadmium localization and its toxic effects on root tips of barley. *Zemdirbyste-Agriculture*. 2016. V. 103. No. 2. p. 151–158. DOI: 10.13080/z-a.2016.103.020