

УДК 575.224.46; 575.826

СПОСОБНОСТЬ *DROSOPHILA MELANOGASTER* АДАПТИРОВАТЬСЯ К ГЕНОТОКСИЧЕСКОМУ ДЕЙСТВИЮ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ БЕНЗОТРИАЗОЛА¹

© 2006 Е.С. Селезнева, В.В. Склюев²

Проанализирована способность *Drosophila melanogaster* адаптироваться к мутагенности N-гидроксibenзилбензотриазола и N-бензотриазолилбензолсульфокислоты в дозе LD₅₀, предварительно воздействуя этими же соединениями на имаго в дозе LD₀. Надено, что имаго дрозофилы частично адаптируются к способности N-гидроксibenзилбензотриазола индуцировать доминантные летальные мутации и не способны адаптироваться к мутагенности N- бензотриазолилбензолсульфокислоты.

Введение

Комплекс проблем, связанных с загрязнением окружающей среды, включает в себя интенсивно и давно разрабатываемую проблему адаптаций организмов к негативному воздействию ксенобиотиков. Особый интерес в этом отношении представляют собой соединения, которые уже давно используются в хозяйственной деятельности. К таким веществам относится бензотриазол, на основе которого были синтезированы весьма эффективные пестициды [1]. Многолетнее использование одних и тех же групп пестицидов привело к появлению организмов, устойчивых к негативному действию используемых токсикантов.

В основе выживания организмов в условиях постоянного и усиливающегося действия одних и тех же ксенобиотиков лежат самые различные стратегии адаптаций. Так, в частности, могут быть активированы генетические системы, направленные на поддержание гомеостаза, – это может быть и увеличение количества ферментов, участвующих в детоксикации ксенобиотика, или образование иных макромолекул, которые замещают макромолекулы, ставшие непригодными в изменившихся условиях [2]. Таким образом, отбираются организмы, у которых уже существовали мутации, повышающие устойчивость к действию токсикантов. Адаптации могут возникать и вследствие мутационного процесса, индуцированного ксенобиотиками, тогда организмы, несущие возникшие мутации

¹ Представлена доктором биологических наук профессором В.Г. Подковкиным.

² Селезнева Екатерина Сергеевна, Склюев Валерий Витальевич (skluval@yandex.ru), кафедра зоологии, генетики и общей экологии Самарского государственного университета, 443011, Россия, г. Самара, ул. Акад. Павлова, 1.

устойчивости, могут стать основой для появления рас, устойчивых к многократно используемому пестициду.

Большинство используемых пестицидов ранее не были исследованы в тестах, выявляющих их мутагенный потенциал, поэтому все работы, посвященные анализу возможных мутагенных свойств ксенобиотиков и возможности адаптироваться к ним, сегодня представляют собой большой интерес. Мы провели анализ способности *Drosophila melanogaster* адаптироваться к двум производным бензотриазола.

Материалы и методы

Объектом исследования служили имаго *Drosophila melanogaster* дикой линии Canton S. Исследовали генотоксичность двух производных бензотриазола: N-гидроксисбензилбензотриазола (BzCH_2Bz) и N-бензотриазолилбензолсульфокислоты (BzSO_2Bz) в двух дозах: LD_0 – нетоксичная доза – 0,001 мг/мл и LD_{50} , которые составили для самок 2,5 мг/мл (BzCH_2Bz) и 24,7 мг/мл (BzSO_2Bz), для самцов 2 мг/мл (BzCH_2Bz) и 19,8 мг/мл (BzSO_2Bz).

Мутагенность соединений оценивали по их способности индуцировать доминантные летальные мутации у имаго дрозофилы по методу Белоконь [3].

Анализ способности *Drosophila melanogaster* адаптироваться к генотоксическому действию веществ в дозе LD_{50} проводили следующим образом: отдельно по 900 самок и самцов помещали в стаканы объемом 50 мл, куда вносили исследуемое соединение в нетоксичной дозе, нанесенное на маленькие чашки Петри (диаметр 4 см), со стандартным кормом для *Drosophila melanogaster*. Через сутки этот корм убрали и после часового промежутка в популяционные ящики помещали чашки Петри (диаметр 4 см) на которых на желатиновой подложке помещалось исследуемое соединение в дозе LD_{50} с капелькой свежееотжатого апельсинового сока. Через сутки имаго скрещивали с интактными особями противоположного пола и затем в течение 12 часов производили сбор отложенных яиц с целью выявления доминантных летальных мутаций по методу Белоконь [3].

Достоверность отличий в чувствительности разных полов к генотоксическому действию соединений оценивали с помощью критерия Стьюдента [4].

Результаты исследования и их обсуждение

Первым этапом нашего исследования было сравнение мутагенности соединений в дозах LD_0 и LD_{50} . Результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1

**Способность гетероциклических азолов индуцировать
доминантные летальные мутации у имаго дрозофилы**

Исследуемые гетероциклические азолы	Доминантные летальные мутации, %			
	В дозе LD ₀		В дозе LD ₅₀	
	самки	самцы	самки	самцы
Контроль	0,48	0,54	0,48	0,54
BzTrCH ₂ Bz	0,5	0,6	11	14
BzTrSO ₂ Bz	2,11	2,11	6,1	5,6

Как видно из представленных результатов, соединения различаются по своей мутагенности для дрозофилы. Так, BzTrCH₂Bz в нетоксичной дозе индуцирует мутации, которые по частоте достоверно не отличаются от числа доминантных леталей, возникающих в контроле спонтанно. BzTrSO₂Bz индуцирует равное число доминантных леталей как у самок, так и самцов, частота которых достоверно отличается от частоты доминантных летальных мутаций в контроле для $p < 0,01$.

При воздействии на имаго дрозофилы соединениями в дозе LD₅₀ оба соединения индуцируют число доминантных леталей достоверно больше чем в контроле. Причем BzTrSO₂Bz индуцирует и в этой дозе одинаковое число мутаций как у самок, так и самцов имаго для $p < 0,01$, а BzTrCH₂Bz индуцирует число доминантных леталей у самцов достоверно больше, чем у самок ($p < 0,01$).

Статистический анализ показал, что BzTrCH₂Bz более мутагенен для имаго дрозофилы, чем BzTrSO₂Bz ($p < 0,01$).

Известно, что кратковременное воздействие токсикантами в нетоксичных дозах на живые организмы снижает токсическое последующее воздействие этими же токсикантами в высоких дозах, однако для эукариот практически не исследовался вопрос о развитии состояния преадаптации к мутагенному действию соединений различной химической природы.

Мы предприняли кратковременное воздействие исследуемыми соединениями в нетоксичной дозе на самок и самцов имаго дрозофилы, а затем подвергли их воздействию этими же мутагенами в дозе LD₅₀. Результаты представлены в табл. 2.

Как показали проведенные исследования, BzTrCH₂Bz при воздействии нетоксичной дозой способен активировать репаративные системы, так что последующее воздействие этим же соединением в дозе LD₅₀ достоверно ($p < 0,01$) индуцировало меньше доминантных леталей, чем при прямом действии как у самок, так и самцов дрозофилы. Однако BzTrSO₂Bz не в состоянии индуцировать репаративные системы. У самцов число индуцированных доминантных леталей достоверно не отличалось от такового при прямом действии. У самок после кратковременного воздействия нетоксичной дозой и последующее воздействие

дозой LD₅₀ увеличивало (достоверно для $p < 0,01$) число индуцированных доминантных летальных мутаций.

Таблица 2

Способность гетероциклических азолов индуцировать доминантные летали у имаго дрозофилы после преадаптации последних

Исследуемые гетероциклические азолы	Доминантные летальные мутации, индуцируемые дозой LD ₅₀ после преадаптации веществами дозой LD ₀ , %	
	самки	самки
BzTrCH ₂ Bz	3,82	4,58
BzTrSO ₂ Bz	7,02	4,64

Оба соединения представляют собой структурные аналоги, и можно было ожидать сходного действия, однако этого не произошло, ..., по-видимому, связано с тем, что они по-разному трансформируются метаболическими системами у самок дрозофилы, что приводит к увеличению мутагенности при воздействии высокотоксичной дозой BzTrSO₂Bz и ослабление мутагенности при воздействии – BzTrCH₂Bz.

Полученные нами факты хорошо согласуются с тем, что у высших эукариот для некоторых классов соединений было обнаружено явление «адаптивного ответа» [3]. Однако этот ответ был обнаружен только для соединений, несущих метильную или этильную группы. Можно предположить, что у BzTrCH₂Bz происходит отщепление бензольного кольца и образуется метильный радикал, который и является индуктором для ферментов репарации. Ранее было показано [3], что при некоторых условиях действие малых доз сенсibilизирует мутагенез от последующей острой дозы, что наблюдается в наших экспериментах при анализе мутагенности BzTrSO₂Bz. Полученные результаты позволяют рассматривать сульфурильные производные бензотриазола как перспективные соединения, на основе которых можно получить высокоэффективные инсектициды.

Литература

- [1] Бадюгин, И.С. Токсикология синтетических ядов / И.С. Бадюгин. – Казань: Медицина, 1974. – 407с.
- [2] Хочачка, П. Стратегия биохимической адаптации / П. Хочачка, Дж. Соме-ро. – М.: Мир, 1977. – 151 с.
- [3] Белоконь, Е.М. Методические указания к определению мутагенной активности химических препаратов на дрозофиле / Е.М. Белоконь. – Львов: ЛГУ, 1984. – 26 с.
- [4] Лакин, Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.

- [5] Дубинин, Н.П. Новое в современной генетике / Н.П. Дубинин. – М.: Наука, 1986. – 222 с.

Поступила в редакцию 25/IX/2006;
в окончательном варианте – 4/X/2006.

***DROSOPHILA MELANOGASTER* ABILITY TO ADAPT TO THE GENOTOXIC EFFECT OF SOME BENZOTRIAZOL DERIVATIVES³**

© 2006 E.S. Selezneva, V.V. Sklyuev⁴

In the paper the ability of *Drosophila melanogaster* to adapt to mutagenicity of N-hydroxybenzilbensotriazol and N-benzotriazolilbenzolsuphfoacid in LD₅₀ concentration which have preliminary beent treated with the same compounds but in LD₀ concentration is analysed. It is found that *Drosophila* imagines partially adapt for an ability of N-hydroxybenzilbensotriazol to induce dominant lethal mutations and are not capable to adapt to the mutagenicity of N-benzotriazolilbenzol-sulphoacid.

Paper received 25/IX/2006.
Paper accepted 4/X/2006.

³ Communicated by Dr. Sci. (Biology) Prof. V.G. Podkovkin.

⁴ Selezneva Ekaterina Sergeevna, Sklyuev Valeriy Vitalievich (skluval@yandex.ru), Dept. of Zoology, Genetics and General Ecology, Samara State University, Samara, 443011, Russia.