

7 Паушева, З. П. Практикум по цитологии растений: учебники и учеб. пособия для студентов высших учеб. заведений – 4-е изд. перераб. и доп. / З. П. Паушева – М. : Агропромиздат, 1988. – 271 с.

8 Shimizu, N. Molecular mechanisms of the origin of micronuclei from extrachromosomal elements / N. Shimizu // *Mutagenesis*. – 2011. – Vol. 26, N1. – P. 119–123.

9 Hoffelder, D. R. Resolution of anaphase bridges in cancer cells / D. R. Hoffelder, L. Luo, N. A. Burke // *Chromosoma*. – 2004. – Vol. 112. – P. 389–397.

10 Fernandes, T. C. C. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide, Pest. / T. C. C. Fernandes, E. C. Mazzeo, M.A. Marin-Morales // *Biochem Physiol*. – 2007. – Vol. 88. – P. 252–259.

11 Roberts, P. Piecemeal microautophagy of nucleus in *Saccharomyces cerevisiae* / P. Roberts [et al.] // *Mol. Biol. Cell*. – 2003. – Vol. 14, N 1. – P. 129–141.

12 Park, Y. Autophagic degradation of nuclear components in mammalian cells / Y. Park [et al.] // *Autophagy*. – 2009. – Vol. 5, N 6. – P. 795–804.

13 Концевая И. И. Эффект антибиотиков разных химических групп на генотоксичность в *Allium* тесте. / И. И. Концевая // *Известия ГГУ им. Ф. Скорины*. – 2021. – № 3 (126). – С. 33 – 38.

УДК 57.083.36:577.182.62

А. И. Ольшевский

Науч. рук.: И. И. Концевая, канд. биол. наук, доцент

ВЛИЯНИЕ АЗИТРОМИЦИНА НА ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ В ALLIUM ТЕСТЕ

В Allium тесте показано, что критерию цитотоксичности соответствуют варианты: азитромицин в концентрации 500,0 мг/л, азитромицин в концентрации 1000,0 мг/л; восстановительный период после использования азитромицина в концентрации 300,0 мг/л.

Митотический индекс (МИ) показывает интенсивность деления по наличию клеток в фазе роста. Чем выше значение, тем интенсивнее происходит процесс деления клеток и наоборот. Индекс может свидетельствовать о нормальном протекании митоза, об угнете-

нии процесса деления клеток или, напротив, усилении митотической активности тканей. МИ является очень важной конечной точкой для оценки токсичности, поэтому наиболее часто исследователи используют его в качестве индикатора цитотоксичности [1, 2].

Цель работы: оценить влияние азитромицина на цитотоксичность в клетках образовательной ткани корешков лука обыкновенного.

Для данного опыта в специализированном магазине были приобретены луковицы лука обыкновенного сорта «Штуттгартен».

На первом этапе луковицы выдерживали при 4 °С на протяжении двух недель для активизации и синхронизации процесса прорастания. В эксперименте на каждый вариант использовали в трех повторностях по 12 репчатых луковиц, диаметром 2,0–2,5 см. Исследование ответных реакций растений лука обыкновенного в условиях действия водных растворов азитромицина выполняли с помощью модифицированного Allium теста [3, 4] (рисунок 1). В качестве контроля использовали дистиллированную воду. Растворы антибиотика также готовили на дистиллированной воде, что допущено автором стандартной методики. Воду и растворы для обеспечения аэрации меняли каждые 24 часа.

Для данного опыта в качестве тестируемого антибиотика был выбран азитромицин (в виде азитромицина дигидрата) (РУП «Белмед-препараты», Беларусь). Концентрации в мг/л указаны на рисунке 2.

Через 72 часа культивирования от начала проращивания (с учетом экспозиции азитромицина в течение 24 часов) выполняли с 6 до 7 часов фиксацию корешков в растворе Карнуа. Для высоких концентраций азитромицина (300,0–1000,0 мг/л) применяли дополнительный восстановительный период [5] длительностью в 48 часов. Давленные препараты для цитогенетического анализа, окрашенные ацетогематоксилином, изготавливали по общепринятой методике.



Рисунок 1 – Этап проращивания луковиц в Allium тесте:
а – контроль; б – опыт

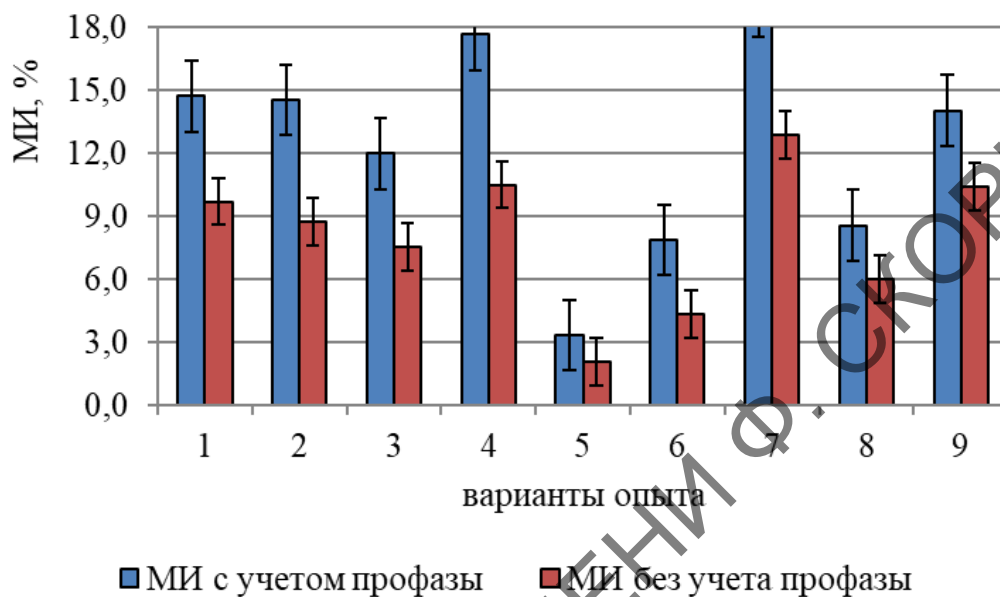
Анализировали по 10–30 проростков в варианте. В каждом препарате учитывали все клетки на стадии профазы, метафазы, анафазы и телофазы. Определяли митотический индекс (МИ) [6] и метафазно-профазный индекс (МПИ) [7]. Просмотр препаратов осуществляли на компьютеризированной кариологической станции, оснащенной световым микроскопом Olympus BX-40 при увеличении 40 x 10. По каждому варианту было просмотрено не менее 10 000 клеток.

Статистическую обработку полученных результатов исследований проводили с помощью пакета прикладного программного обеспечения Microsoft Excel и «Statsoft (USA) Statistica v.7.0». с расчетом выборочной средней. Для данных подчиняющихся нормальному закону распределения использовали дисперсионный анализ (ANOVA) и t-критерий Стьюдента для попарных сравнений. Нулевую гипотезу отклоняли при уровне статистической значимости $p < 0,05$ [8].

Изучали пролиферирующую активность клеток образовательной ткани лука (рисунок 2). Азитромицин в концентрациях 50,0–300,0 мг/л не оказывал влияние на изменение интенсивности процесса деления, значение МИ колебалось по сравнению с контролем несущественно от 11,9 до 17,7 %. Значимое уменьшение числа клеток в митозе в 1,7–1,9 раз в сравнении с контрольным значением отмечали в вариантах применения антибиотика в концентрациях, соответственно, 500,0 и 1000,0 мг/л. Однако в этом случае после восстановительного периода митотическая активность клеток образовательной ткани восстанавливалась до уровня контрольного значения. В тоже время после воздействия азитромицина в концентрации 300,0 мг/л использование восстановительного периода показало существенное снижение значения МИ с 17,7 % до 3,3 % (более чем в 5,4 раза).

Нормальное клеточное деление в опыте определяется, если значение МИ равно значению в контроле. Уменьшение значения МИ по сравнению с контролем указывает на аномалию в клеточном делении. Мы исходили из того, что любая доза тестируемого вещества определена как цитотоксическая, если МИ в опытном варианте был в два раза как минимум меньше по сравнению с МИ в контрольном варианте [9]. Согласно такому подходу, критерию цитотоксичности соответствуют варианты: азитромицин в концентрации 500,0 мг/л, и восстановительный период после использования азитромицина в концентрации 300,0 мг/л. Также близко к данному критерию значение МИ в варианте с применением азитромицина, 1000,0 мг/л. Но необходимо подчеркнуть, что после восстановительного периода в вариантах применения 500,0 и 1000,0 мг/л азитромицина МИ был

близок к значению в контроле. Свидетельство о жесткой цитотоксичности наблюдали в варианте «восстановительный период после азитромицина, 300,0 мг/л», в то время как в первом митозе сразу после действия антибиотика установлена интенсивность процесса деления клеток образовательной ткани, равная значению в контроле.



- 1 – контроль (вода дистиллированная); 2 – азитромицин, 50,0 мг/л;
 3 – азитромицин, 100,0 мг/л; 4 – азитромицин, 300,0 мг/л;
 5 – восстановительный период после варианта № 4;
 6 – азитромицин, 500,0 мг/л; 7 – восстановительный период после варианта № 6;
 8 – азитромицин, 1000,0 мг/л; 9 – восстановительный период после варианта № 8.

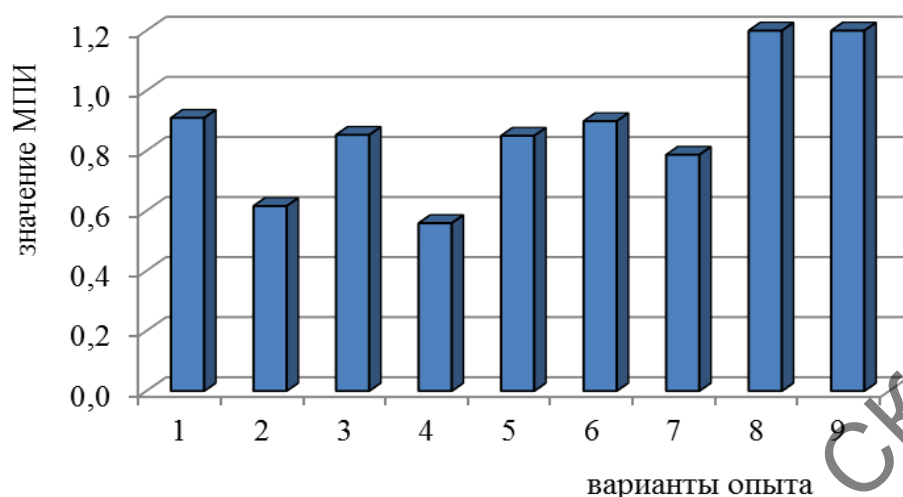
Рисунок 2 – Влияние азитромицина на МИ

Следует отметить, что снижение митотической активности может быть связано с ингибированием синтеза ДНК [10] или из-за блока в G₂-фазе клеточного цикла, что предотвращает вход клетки в митоз [11].

При анализе МПИ отмечено возрастание показателя более чем в 1,3 раза по сравнению с контролем, что указывает на снижение доли клеток в профазе и, соответственно, возрастание доли клеток в метафазе (рисунок 3).

По мнению [12], остановка клеточного деления на стадии метафазы свидетельствует о блокировании дальнейшего протекания митоза в точке контроля «метафаза-анафаза», тем самым происходит вмешательство в метаболизм аппарата, осуществляющего расхождение хромосом к полюсам. Это дает основание рассматривать изменение времени прохождения клетками данной стадии митоза как

включение механизма адаптации к стрессовым факторам и поддержания гомеостаза клеточной популяции.



Обозначения вариантов – те же, что для рисунка 2.

Рисунок 3 – Влияние азитромицина на МПИ

Таким образом, в *Allium* тесте показано, что критерию цитотоксичности соответствуют варианты: азитромицин в концентрации 500,0 мг/л и 1000,0 мг/л, и восстановительный период после использования азитромицина в концентрации 300,0 мг/л.

Литература

1 Leme, D. M. Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water – A case study. Mutation Research / D. M. Leme, M. A. Marin-Morales // Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. – 2008. – Vol. 650. – P. 80–86.

2 Porras Torres, M. Removal of organic matter and toxicity in an upflow immobilized biomass anaerobic reactor treating hospital wastewater / M. Porras Torres, J. C. Lopez, T. R. Chaparro // Preliminary evaluation. Dyna. – 2013. – Vol. 80. – P. 124–130.

3 Fiskesjö, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring / G. Fiskesjö // Hereditas. – 1985. – Vol. 102. – P. 99 – 112.

4 Концевая, И. И. Совершенствование методики биотестирования на основе *Allium*-теста / И. И. Концевая, Т. А. Толкачева // Веснік Віцебскага дзяржаўнага ўніверсітэта. – 2012. – № 6 (72). – С. 57–65.

5 Guide to short-term tests for detecting mutagenic and carcinogenic chemicals / Prepared for the IPCS by the International Commission for Protection Against Environmental Mutagens and Carcinogens Environmental Health. Criteria 51. WORLD HEALTH ORGANIZATION GENEVA, 1985. – 212 с.

6 Калаев, В. Н. Цитогенетический мониторинг: методы оценки загрязнения окружающей среды и состояния генетического аппарата организма / В. Н. Калаев, С. С. Карпова. – Воронеж : ВГУ, 2004. – 80 с.

7 Буторина, А. К. Анализ чувствительности различных критериев цитогенетического мониторинга / А. К. Буторина, В. Н. Калаев // Экология. – 2000. – № 3. – С. 206–210.

8 Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – М. : МедиаСфера, 2002. – 312 с.

9 Shaikh, S. Dichlorophen and Dichlorovos mediated genotoxic and cytotoxic assessment on root meristem cells of *Allium cepa* / S. Shaikh, N. Nazia, M. Iqbal Lone, A. Waseem // Science Diliman (January–June 2012). – Vol. 24, N 1. – P. 13–22.

10 Sudhakar, R. Gowda Mitotic abnormalities induced by silk dyeing industry effluents in the cells of *Allium cepa* / R. Sudhakar, K. N. Ninge, G. V. Ninge // Cytologia. – 2001. – Vol. 66. – P. 235–239.

11 12 Van't Hof, J. The action of IAA and kinetin on the mitotic cycle of proliferative and stationary phase excised root meristem / J. Van't Hof // Exp. Cell Res. – 1968. – Vol. 51. – P. 167–176.

12 Ченцов, Ю. С. Введение в клеточную биологию: учебник для вузов. / Ю. С. Ченцов. – 4-е изд., переработанное и дополненное. – М. : ИКЦ «Академкнига», 2004. – 495 с.

УДК 581.6:745.9

М. С. Оразгелдиева

Науч. рук.: А. Г. Цуриков, д-р биол. наук, доцент

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАСТИТЕЛЬНОГО МАТЕРИАЛА ПРИ СОЗДАНИИ ФИТОКОМПОЗИЦИЙ

Изучены литературные данные по созданию композиций в технике ошибана. Был подготовлен природный растительный материал, пригодный для создания фитокомпозиций. Созданные композиции могут использоваться для обустройства интерьеров.