

А. В. Минина

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

ВЛИЯНИЕ АМИНОГЛИКОЗИДНЫХ АНТИБИОТИКОВ НА ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ В *ALLIUM* ТЕСТЕ

*Установлено негативное влияние аминогликозидных антибиотиков (стрептомицина и гентамицина в концентрациях 1000,0 и 100,0 мг/л, соответственно) на показатели цитотоксичности клеток образовательной ткани в *Allium* тесте.*

В литературе представлены немногочисленные работы по цитогенетическому исследованию эффекта антибиотиков на клетки высших организмов в тест-системах, предложенных Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) [1].

Поэтому актуальным вопросом является изучение влияния побочных свойств антибиотиков, оказываемых при их применении на клетки эукариот.

Цель работы: протестировать влияние аминогликозидных антибиотиков на цитотоксичность в *Allium* тесте.

Исследование ответных реакций растений лука обыкновенного в условиях действия водных растворов аминогликозидных антибиотиков выполняли с помощью *Allium* теста [2]. Тестировали следующие антибиотики: гентамицин (гентамицина сульфат, РУП «Белмедпрепараты», Беларусь) – 100,0 мг/л; стрептомицин (стрептомицина сульфат, ЗАО «Брынцалов-А», Россия) – 1000,0 мг/л. Согласно рекомендации ВОЗ [1], в эксперименте дополнительно выдерживали период восстановления длительностью 24 часа, в течение которого тестируемое вещество не воздействует (вариант последствия), и только затем выполняли фиксацию корешков. Во всех вариантах опыта фиксация производилась с 6.30 до 7.00 утра.

Давленные препараты для цитогенетического анализа, окрашенные ацетогематоксилином, изготавливали по общепринятой методике [3]. Просмотр препаратов осуществляли на компьютеризированной кариологической станции, оснащенной микроскопом Leica DMR при увеличении 40x10x1,5. В работе учитывали основные общепринятые критерии цитотоксичности (МИ и ФИ) [3, 4].

Статистическую обработку результатов исследований проводили с помощью пакета прикладного программного обеспечения Microsoft Excel и «Statsoft (USA) Statistica v.7.0. Для данных, подчиняющихся нормальному закону распределения, использовали t-критерий Стьюдента. Нулевую гипотезу отклоняли при уровне статистической значимости $p < 0,05$ [5].

Протестировано действие на протяжении двух-трех клеточных циклов аминогликозидных антибиотиков и их пролонгированный эффект. Модельный объект – сорт лука обыкновенного «Штуттгартен». Варианты опыта указаны в таблице 1.

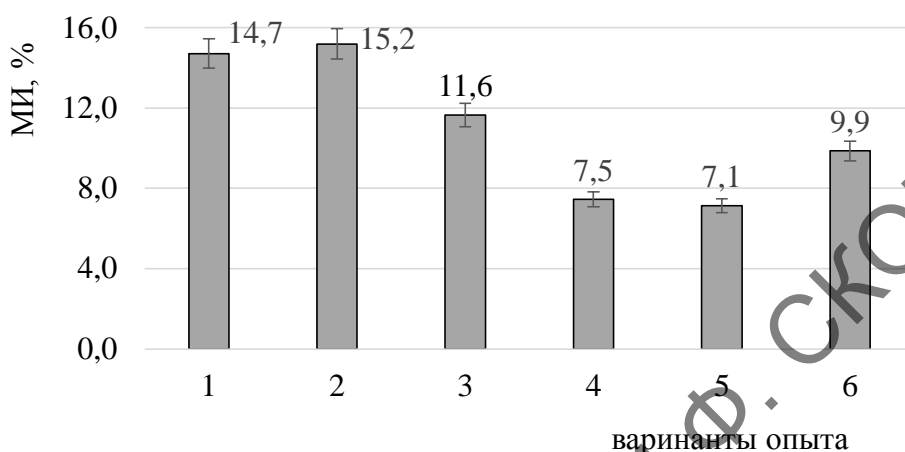
Таблица 1 – Влияние аминогликозидных антибиотиков на клеточный цикл меристемных клеток корешков лука обыкновенного

№ варианта опыта	Тестируемые вещества, концентрация в мг/л	Число корешков с митозом, %
1	вода водопроводная	100,0
2	стрептомицин, 1000,0 – 24 ч	100,0
3	последствие (стрептомицин, 1000,0 – 24 ч)	91,9
4	стрептомицин, 1000,0 – 48 ч	95,0
5	последствие (стрептомицин, 1000,0 – 48 ч)	100,0
6	гентамицин, 100,0 – 48 ч	96,4
7	последствие (гентамицин, 100,0 – 48 ч)	0

При микроскопировании препаратов в вариантах опыта наблюдали в апикальной меристеме некоторых придаточных корней лука отсутствие деления (таблица 1). У них митотический индекс был близок к нулю и большинство клеток находились в профатическом состоянии. Однако если применение гентамицина и стрептомицина в ряде вариантов опыта подавляло митотическую активность у 5,0–8,1 % корешков на момент фиксации материала, то в варианте «последствие (гентамицин)» число выживших корешков составило два, с МИ равным 1,0–2,0 %. В данном варианте на препаратах наблюдали как нормальные ядра, так и аномальные.

Изучали пролиферирующую активность клеток образовательной ткани лука (рисунок 1). Установлено снижение значения МИ в вариантах использования стрептомицина (концентрация 1000,0 мг/л, 48 ч) и гентамицина (концентрация 100,0 мг/л, 48 ч) в 2 и 1,5 раза, соответственно, по сравнению с контролем. В то же время не отмечали уменьшение МИ в варианте 2 при действии стрептомицина на протяжении одного клеточного цикла (24 ч).

Митотический индекс может колебаться в разных корнях одного и того же растения, но усреднённые данные являются достаточно устойчивыми. Продолжительность митоза в разных тканях корня *A. сера* одинакова и не меняется по длине корня. Соотношение различных фаз митоза не зависит от времени фиксации.



Варианты опыта: 1 – вода дистиллированная;
 2 – стрептомицин, 1000,0 мг/л – 24 ч; 3 – пролонгированный эффект варианта 2;
 4 – стрептомицин, 1000,0 мг/л – 48 ч; 5 – пролонгированный эффект варианта 4;
 6 – гентамицин, 100,0 мг/л – 48 ч.

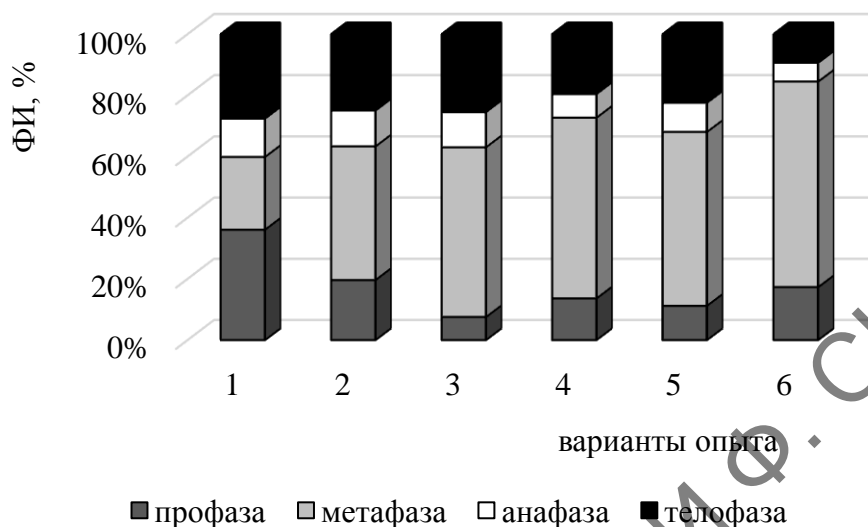
Рисунок 1 – Влияние аминогликозидных антибиотиков на митотический индекс

Для выявления возможной задержки клеток на какой-либо стадии митоза вследствие повреждения цитогенетических структур клетки под действием стрессовых факторов необходим расчёт различных типов митотического индекса и определение долей делящихся клеток (фазных индексов (ФИ)) [3, 6]. И здесь следует напомнить, что цикл деления клетки можно разделить на основные фазы G_1 , S , G_2 и фазу M . У растений митоз обычно длится 2–3 часа [4], занимая около 10 % клеточного цикла. Наиболее быстротечны фазы, когда происходит движение хромосом: метафаза и анафаза.

Усредненное соотношение фаз в митозе можно представить следующим образом: профаза 50 %, прометафаза – 15 % + метафаза – 3 %, анафаза – 5 %, телофаза – 22 % [7].

Изучение доли клеток на стадии профазы показало, что во всех опытных вариантах применения стрептомицина и гентамицина этот показатель существенно снижается по сравнению с контролем с 28,4 до 3,0–16,0 % (рисунок 2). Задержка митоза в профазе относится

к группе митозов, связанных с повреждением хромосом. Часто наблюдается при нарушениях процессов редупликации хромосом, что обычно происходит при различных воздействиях, нарушающих синтез ДНК.



Варианты опыта: обозначения см. на рисунке 1.

Рисунок 2 – Влияние аминогликозидных антибиотиков на фазный индекс

В тоже время доля клеток в опытных вариантах на стадии метафазы существенно увеличилась (рисунок 2). Полученные значения метафазного индекса в эксперименте свидетельствуют о том, что аминогликозидные антибиотики вызывают патологии митоза, связанные с повреждением митотического аппарата.

Доля клеток на стадии анафазы существенно снизилась в вариантах использования гентамицина (рисунок 2). Значение телофазного индекса в вариантах применения стрептомицина было сопоставимо со значением в контроле, существенное снижение показателя отмечали в варианте применения гентамицина.

Таким образом, при микроскопировании препаратов в контрольном варианте и в вариантах опыта наблюдали в апикальной меристеме всех придаточных корней лука наличие деления в клетках. Отмечали существенное снижение значений МИ по сравнению с контролем в большинстве вариантах применения стрептомицина и гентамицина ($p \leq 0,01$).

При рассмотрении фазных индексов отмечено индуцирование аминогликозидными антибиотиками такой патологии митоза как задержка митоза в профазе, что связано с повреждением хромосом. В тоже время они индуцировали задержку митоза в метафазе, что, в свою очередь, связано с повреждением митотического аппарата.

Литература

1 Руководство по краткосрочным тестам для выявления мутагенных канцерогенных химических соединений. Гигиенические критерии окружающей среды. – Женева, ВОЗ. – 1982. – № 51. – 212 с.

2 Fiskesjö, G. The Allium test for screening chemicals: evaluation of cytological parameters / G. Fiskesjö // Plants for environmental studies. CRC Press LLC – New York, 1997. – P. 308–333.

3 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.

4 Алов, И. А. Цитофизиология и патология митоза / И. А. Алов. – М. : Медицина, 1972. – 264 с.

5 Лакин, Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М. : Высш. шк., 1990. – 352 с.

6 Прохорова, И. М. Пространственная и временная динамика мутагенной активности воды оз. Неро / И. М. Прохорова, М. И. Ковалева, А. Н. Фомичева. – М. : Наука, 2008. – 59 с.

7 Пухальский, В. А. Практикум по цитологии и цитогенетике растений / В. А. Пухальский [и др.]. – М. : КолосС, 2007. – 198 с.

УДК 502.12:745.9:378.095(476.2)

Б. Д. Нурьева

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

РЕАЛИЗАЦИЯ ПРИНЦИПОВ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО ФИТОДИЗАЙНА В ПОМЕЩЕНИЯХ ВРЕМЕННОГО ПРЕБЫВАНИЯ В КОРПУСАХ УНИВЕРСИТЕТА

Проанализированный ассортимент комнатных растений временных помещений УО «ГГУ им. Ф. Скорины» соответствует главным принципам экологического фитодизайна: они решают задачи эстетико-психологического воздействия, улучшают и оздоравливают воздушную среду, способствуют удалению вредных газов, пыли и обезвреживанию других физических, химических и биологических загрязнений.