

УДК 577.181.5:581.432:635.25/26
AGRIS F40

<https://doi.org/10.33619/2414-2948/52/06>

ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ АМИНОГЛИКОЗИДНЫХ АНТИБИОТИКОВ НА ОБРАЗОВАТЕЛЬНУЮ ТКАНЬ КОРНЕЙ ЛУКА

©Концевая И. И., канд. биол. наук, Гомельский государственный университет им.

Ф. Скорины, г. Гомель, Беларусь, ikantsavaya@mail.ru

©Алексеенко О. Г., Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины,

г. Гомель, Беларусь, alekseenkoogagennadevna@gmail.com

EVALUATION OF THE TOXIC EFFECT OF AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTICS ON THE MERISTEMATIC TISSUE OF THE ROOTS OF ONION

©Kantsavaya I., Ph.D., F. Skorina Gomel State University, Gomel, Belarus, ikantsavaya@mail.ru

©Alekseenko O., F. Skorina Gomel State University,

Gomel, Belarus, alekseenkoogagennadevna@gmail.com

Аннотация. В работе исследуется влияние аминогликозидных антибиотиков (амикацина, гентамицина, канамицина, стрептомицина) и цитокинина 6-БАП на митотическую активность клеток образовательной ткани корней лука обыкновенного.

Методы исследования: Allium-тест, цитогенетический анализ, статистический анализ. В вариантах опыта с применением 6-БАП в концентрации 5,0 мг/л, тестируемыми аминогликозидными антибиотиками (гентамицином в концентрации 50,0 и 100,0 мг/л, и стрептомицином в концентрации 150,0 и 1000,0 мг/л) при микроскопировании препаратов наблюдали в апикальной меристеме у 68,8–88,0% придаточных корней лука отсутствие деления. У них митотический индекс был близок к нулю и большинство клеток находились в профатическом состоянии. Установлено, что тестируемые концентрации аминогликозидных антибиотиков подавляли митотическую активность в образовательной ткани придаточных корней лука. Существенно, в 1,6–2,5 раза снижается МИ в вариантах применения 6-БАП, гентамицина, стрептомицина в концентрации 1000,0 мг/л, амикацина и канамицина. Повышение концентрации гентамицина с 50 мг/л до 100,0 мг/л, стрептомицина со 150,0 до 1000,0 мг/л, канамицина со 100,0 мг/л до 1000 мг/л не оказывает существенного негативного влияния на митотическую активность клеток меристем.

Abstract. In the work examines the impact of aminoglycoside antibiotics (amicin, gentamicin, canamicin, streptomycin) and cytokinin 6-BAP on the mitotic activity of cells meristematic tissue of the roots of the onion. **Research methods:** Allium-test, cytogenetic analysis, statistical analysis. In variants of the experiment using 6-BAP at concentrations of 5.0 mg/l, tested with aminoglycoside antibiotics (gentamicin in concentrations of 50.0 and 100.0 mg/l, and streptomycin in concentrations of 150.0 and 1000.0 mg/l) when microscopic drugs observed in apical meristem in 68.8–88.0% of the appendage roots of onions lack division. Their mitotic index was close to zero and most of the cells were in a profestate condition. It was established that the tested concentrations of aminoglycoside antibiotics suppressed mitotic activity in the meristematic tissue of the appendages of the onion roots. Considerably, in 1.6–2.5 times MI reduced in variants of application of 6-BAP, gentamicin, streptomycin in concentrations of 1000.0



mg/l, amicacin and canamicin. Increased concentration of gentamicin from 50 mg/l to 100.0 mg/l, streptomycin from 150.0 mg/l to 1000.0 mg/l, canamicin from 100.0 mg/l to 100.0 mg/l doesn't have a significant negative effect on mitotic activity of meristem cells.

Ключевые слова: Allium-тест, аминогликозидные антибиотики, митотический индекс.

Keywords: Allium-test, aminoglycoside antibiotics, mitotic index.

Аминогликозиды относятся к группе антибиотиков, ингибирующих белковый синтез у бактерий [1, 2]. Эти антибиотики проникают внутрь клеток бактерий и связываются с рибосомами, синтезирующими бактериальные белки, тем самым блокируя биохимические процессы, происходящие в клетках. Парализованная бактерия теряет возможность размножаться и расти, чего бывает достаточно, чтобы избавиться от некоторых инфекций. Нарушение синтеза белка происходит на стадии взаимодействия с рибосомами путем блокирования связывания транспортной т-RНК с 30S-субъединицами рибосом [2, 3]. Избирательность действия аминогликозидов на бактериальную клетку обеспечивается существенным различием рибосом у бактерий и эукариот. Частицы бактериальных рибосом, обозначаемые по коэффициенту седиментации как 50S- и 30S-частицы, отличаются по способности связываться с антибиотиками от частиц рибосом эукариотов, соответственно, 60S- и 40S-частиц. По этой причине цитоплазматические рибосомы животной клетки реагируют с ними гораздо слабее или вообще не связывают указанные антибиотики. Однако в группе аминогликозидов существуют антибиотики, блокирующие синтез белка, реагирующие с рибосомами и микроорганизмов, и животной клетки. В медицинской практике они не используются, но производятся как реагенты для биохимических и молекулярно-биологических исследований (например, антибиотик циклогексимид) [4].

Цель работы: изучить влияние аминогликозидных антибиотиков (амикацина, гентамицина, канамицина, стрептомицина) и цитокинина 6-БАП на митотическую активность клеток образовательной ткани корней лука обыкновенного.

Методика исследований

Исследование ответных реакций растений лука обыкновенного в условиях действия водных растворов антибиотиков выполняли с помощью *Allium*-теста [5] на сорте «Стурон». В качестве контроля использовали очищенную водопроводную воду.

Тестировали следующие антибиотики: амикацин (Синтез АКОМП, Россия) в концентрации 500,0 мг/л, гентамицин (гентамицина сульфат, РУП «Белмедпрепараты», Беларусь) — 50,0 и 100,0 мг/л; стрептомицин (стрептомицина сульфат; ЗАО «Брынцалов-А», Россия) — 150,0 и 1000,0 мг/л; канамицин (ЗАО «Брынцалов-А», Россия) — 100,0 и 1000,0 мг/л; и цитокинин 6-бензиламинопурин (6-БАП) (Sigma-Aldrich, USA) — 5,0 мг/л.

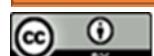
Давленые препараты для цитогенетического анализа, окрашенные ацетогематоксилином, изготавливали по общепринятой методике [6].

Просмотр препаратов осуществляли на компьютеризированной кариологической станции, оснащенной микроскопом Leica DMR при увеличении 40x10x1,5.

Цитогенетический анализ выполняли по общепринятой методике [6].

По каждому варианту опыта определяли:

- 1) митотический индекс (МИ) по совокупности корней с митозом;
- 2) МИ* для всех просмотренных корней.



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 [7].

Результаты исследований

При микроскопировании препаратов в вариантах опыта наблюдали в апикальной меристеме некоторых придаточных корней лука отсутствие деления (Таблица). Митотический индекс был близок к 0 и большинство клеток находились в профатическом состоянии. Применение гентамицина и стрептомицина во всех вариантах опыта подавляла митотическую активность у 70,0-88,9% корешков на момент фиксации материала. Полагаем, что это своеобразный адаптационный механизм на клеточном уровне при действии стрессовых факторов.

Таблица

ВЛИЯНИЕ АМИНОГЛИКОЗИДНЫХ АНТИБИОТИКОВ И 6-БАП
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	6-БАП, 5,0	68,8
3	гентамицин, 50,0	86,4
4	гентамицин, 100,0	70,0
5	гентамицин, 100,0 + 6-БАП, 5,0	84,4
6	стрептомицин, 150,0	81,0
7	стрептомицин, 1000,0	82,4
8	стрептомицин, 1000,0 + 6-БАП, 5,0	88,9
9	амикацин, 500,0	100,0
10	канамицин, 100,0	100,0
11	канамицин, 1000,0	100,0

Амикацин и канамицин не влияли на митотическую активность в меристематических клетках корешков лука. Следует отметить, что 6-БАП в комбинации с гентамицином и стрептомицином приводит к тенденции увеличения доли корней с митозом.

Результаты других исследований также свидетельствуют о подавлении корнеобразования у семян кукурузы [8] и однопочечных сегментов побегов в культуре тканей разных видов березы [9] при проращивании в растворах либо средах с добавлением гентамицина, соответственно, в концентрации 20-40 мг/л и 50-300 мг/л.

Установлено, что тестируемые концентрации аминогликозидных антибиотиков подавляют митотическую активность в образовательной ткани придаточных корней лука. Существенно, в 1,6-2,5 раза, снижается МИ в вариантах применения 6-БАП, гентамицина, стрептомицина в концентрации 1000,0 мг/л, амикацина и канамицина (Рисунок).

Повышение концентрации гентамицина с 50 мг/л до 100,0 мг/л, стрептомицина со 150,0 мг/л до 1000,0 мг/л, канамицина со 100,0 мг/л до 1000 мг/л не оказывает существенного негативного влияния на митотическую активность клеток меристем (Рисунок).

Если анализировать совместное действие 6-БАП и гентамицина, то следует отметить, что данная комбинация повлияла на увеличение МИ. В то время как при совместном применении 6-БАП и стрептомицина установлено снижение митотической активности клеток.



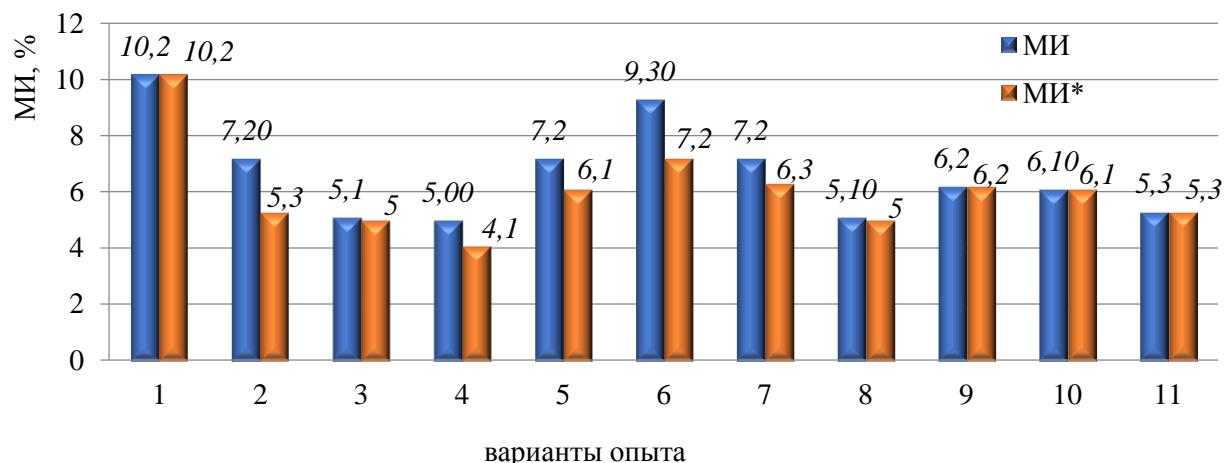


Рисунок. Влияние тестируемых веществ на митотический индекс. Варианты опыта: 1 – контроль; 2 – 6-БАП, 5,0 мг/л; 3 – гентамицин, 50,0 мг/л; 4 – гентамицин, 100,0 мг/л; 5 – гентамицин, 100,0 мг/л + 6-БАП, 5,0 мг/л; 6 – стрептомицин, 150,0 мг/л; 7 – стрептомицин, 1000,0 мг/л; 8 – стрептомицин, 1000,0 мг/л + 6-БАП, 5,0 мг/л; 9 – амикацин, 500,0 мг/л; 10 – канамицин, 100,0 мг/л; 11 – канамицин, 1000,0 мг/л; МИ – учитывали корешки с митозом; МИ* – учитывали все просмотренные корешки

В обоих вариантах совместного применения цитокинина и тестируемых аминогликозидных антибиотиков отмечено влияние 6-БАП на прохождение митоза. Необходимо напомнить, что цитокинины стимулируют экспрессию специфического циклина и ускоряют переход от фазы G2 к митозу [10].

Однако на разных стадиях клеточного цикла синтезируются разные циклины, которые к окончанию митоза быстро разрушаются протеиназами [6, 11, 12]. Вышесказанное частично объясняет полученные значения МИ при использовании 6-БАП (Рисунок).

Заключение

Таким образом, в вариантах опыта с 6-БАП, тестируемыми аминогликозидными антибиотиками (кроме амикацина и канамицина) при микроскопировании препаратов в апикальной меристеме у 68,8-88,0% придаточных корней лука наблюдали отсутствие деления. Митотический индекс был близок к нулю и большинство клеток находились в профатическом состоянии.

Установлено, что тестируемые концентрации аминогликозидных антибиотиков подавляли митотическую активность в образовательной ткани придаточных корней лука. Существенно, в 1,6-2,5 раза, снижается МИ в вариантах применения 6-БАП, гентамицина, стрептомицина в концентрации 1000,0 мг/л, амикацина и канамицина.

Список литературы:

1. Машковский М. Д. Лекарственные средства. М.: Новая волна, 2012.
2. Навашин С. М., Фомина И. П. Рациональная антибиотикотерапия. М.: Медицина. 1982.
3. Алексин Е. К., Алексин Е. К. Как действуют антибиотики //Антибиотики. 2000. №4.
4. Сазыкин Ю. О., Орехов С. Н., Чакалева И. И. Биотехнология. М.: Академия. 2008.
5. Fiske G. Allium test for screening chemicals; evaluation of cytological parameters // Plants for environmental studies. 1997. Vol. 11. P. 307-333.
6. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений. М.: Агропромиздат. 1988.
7. Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: Высш. шк. 1990.

8. Пархоменко А. С. Оценка токсического и мутагенного действия антибиотических препаратов на проростки кукурузы. <https://pandia.ru/text/80/027/2256.php>.
9. Концевая И. И. Использование антибиотиков в культуре тканей березы // Лесоведение. 2011. №1. С. 45-51.
10. Романов Г. А. Как цитокинины действуют на клетку // Физиология растений. 2009. Т. 56. №2. С. 295-319.
11. Ченцов Ю. С. Введение в клеточную биологию. М.: Академкнига. 2004.
- 12 Kieber J. J., Schaller G. E. Cytokinins // The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists. 2014. Vol. 12. <https://doi.org/10.1199/tab.0168>

References:

1. Mashkovskii, M. D. (2012). Lekarstvennye sredstva. Moscow. (in Russian)
2. Navashin, S. M., & Fomina, I. P. (1982). Ratsional'naya antibiotikoterapiya. Moscow. (in Russian)
3. Alekhin, E. K., & Alekhin, E. K. (2000). Kak deistvuyut antibiotiki. *Antibiotiki*, (4). (in Russian)
4. Sazykin, Yu. O., Orekhov, S. N., & Chakaleva, I. I. (2008). Biotekhnologiya. Moscow. (in Russian)
5. Fiske, G. (1997). Allium test for screening chemicals; evaluation of cytological parameters. *Plants for environmental studies*, 11, 307-333.
6. Pausheva, Z. P. (1988). Praktikum po tsitologii rastenii. Moscow. (in Russian).
7. Lakin, G. F. (1990). Biometriya. Moscow. (in Russian)
8. Parkhomenko, A. S. Otsenka toksicheskogo i mutagennogo deistviya antibioticheskikh preparatov na prorostki kukuruzy <https://pandia.ru/text/80/027/2256.php>. (in Russian).
9. Kontsevaya, I. I. (2011). The Use of Antibiotics in Birch Tissue Culture. *Lesovedenie*, (1), 45-51. (in Russian).
10. Romanov, G. A. (2009). How do cytokinins affect the cell? *Russian Journal of Plant Physiology*, 56(2). 268-290. (in Russian).
11. Chentsov, Yu. S. (2004). Vvedenie v kletochnuyu biologiyu. Moscow. (in Russian).
12. Kieber, J. J., & Schaller, G. E. (2014). Cytokinins. *The arabidopsis book*, 12, e0168. <https://doi.org/10.1199/tab.0168>

Работа поступила
в редакцию 14.02.2020 г.

Принята к публикации
19.02.2020 г.

Ссылка для цитирования:

Концевая И. И., Алексеенко О. Г. Оценка токсического действия аминогликозидных антибиотиков на образовательную ткань корней лука // Бюллетень науки и практики. 2020. Т. 6. №3. С. 49-53. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/52/06>

Cite as (APA):

Kantsavaya, I., & Alekseenko, O. (2020). Evaluation of the Toxic Effect of Aminoglycoside Antibiotics on the Meristematic Tissue of the Roots of Onion. *Bulletin of Science and Practice*, 6(3), 49-53. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/52/06> (in Russian).

