

УДК 577.181.5:576.353
AGRIS F40

<https://doi.org/10.33619/2414-2948/52/07>

ВЛИЯНИЕ АМИНОГЛИКОЗИДНЫХ АНТИБИОТИКОВ НА ПАТОЛОГИЮ МИТОЗА В *ALLIUM*-ТЕСТЕ

©**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, alekseenkoolgagennadevna@gmail.com

EFFECT OF AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTICS ON MITOSIS PATHOLOGY IN *ALLIUM*-TEST

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

©**Alekseenko O.**, F. Skorina Gomel State University,
Gomel, Belarus, alekseenkoolgagennadevna@gmail.com

Аннотация. В работе исследуется влияние аминогликозидных антибиотиков (гентамицина, стрептомицина, канамицина, амикацина) и цитокинина 6-БАП на патологию митоза в *Allium*-тесте. **Методы исследования:** *Allium*-тест, цитогенетический анализ, статистический анализ. Результаты тестирования аминогликозидных антибиотиков показали возрастание в 1,3–3,0 раза патологических митозов в клетках образовательной ткани корней лука по сравнению с контролем в вариантах применения гентамицина в концентрации 50,0 и 100,0 мг/л и стрептомицина — 150,0 и 1000,0 мг/л. В то же время использование канамицина в концентрации 100,0 и 1000,0 мг/л и амикацина в концентрации 500,0 мг/л подавляет патологические процессы в клетках. При рассмотрении фазных индексов отмечено индуцирование аминогликозидными антибиотиками такой патологии митоза как задержка митоза в метафазе, что связано с повреждением митотического аппарата. Наиболее существенные изменения при прохождении всех основных фаз митоза регистрировали в варианте «стрептомицин, 1000 мг/л». При одновременном применении гентамицина и 6-БАП (в концентрации 5,0 мг/л) выявлено увеличение клеток с патологией митоза по сравнению с соответствующими вариантами, когда упомянутые вещества применялись по отдельности. Противоположный результат отмечали в случае совместного использования цитокинина и стрептомицина, когда число клеток с патологией митоза снижалось. Полученные данные свидетельствуют, что тестируемые аминогликозидные антибиотики, и в первую очередь стрептомицин в концентрации 1000,0 мг/л, способны изменять скорость вступления клеток лука обыкновенного в митоз и нормальное протекание процессов деления.

Abstract. The research work examines the effects of aminoglycoside antibiotics (gentamicin, streptomycin, canamycin, amycatin) and cytokinin 6-BAP on the pathology of mitosis in *Allium*-Test. **Research methods:** *Allium*-test, cytogenetic analysis, statistical analysis. Test results of aminoglycoside antibiotics showed an increase of 1.3–3.0 times pathological mitosis in the cells of meristematic tissue of onion roots compared to control in variants of gentamicin in concentrations of 50.0 and 100.0 mg/l and streptomycin — 150.0 and 1000.0 mg/l. At the same time, the use of kanamycin in concentration of 100.0 and 1000.0 mg/l and amikacin of 500.0 mg/l inhibits pathological processes in cells. When considering phase indices, the induction of aminoglycoside antibiotics of mitosis pathology such as mitosis delay in metaphase is noted, which is related to damage to the mitotic apparatus. In the examination of phase indices, induction of aminoglycoside



antibiotics of mitosis pathology such as delay of mitosis in metaphase, which is associated with damage to the mitotic apparatus. The most significant changes in the passage of all major phases of mitosis were recorded in the variant 'streptomycin, 1000 mg/l'. With the simultaneous use of gentamicin and 6-BAP (at a concentration of 5.0 mg/l) an increase in cells has been revealed with mitosis pathology compared to the corresponding variants, when these substances were used separately. The opposite result was noted in the case of the joint use of cytokinin and streptomycin, when the number of cells with mitosis pathology decreased. The data obtained indicate that the tested aminoglycoside antibiotics, primarily streptomycin at a concentration of 1000.0 mg/l, are able to change the rate of entry of the onion cells common into mitosis and the normal flow of fission processes.

Ключевые слова: Allium-тест, аминогликозидные антибиотики, патология митоза.

Keywords: Allium-test, aminoglycoside antibiotics, mitosis pathology.

Аминогликозиды относятся к группе антибиотиков, блокирующих синтез белков [1, 2] прокариот. Механизм действия этих препаратов обусловлен их необратимым связыванием со специфическими рецепторами бактериальных рибосом (30S-субъединицей рибосом), что прекращает биосинтез белка, и нарушением синтеза цитоплазматических мембран, что приводит к гибели бактериальных клеток. Аминогликозиды повышают сродство аминоацил-тРНК к А-сайту, что ведет к связыванию ошибочных, не соответствующих кодону матрицы аминоацил-тРНК и обуславливает ошибки при считывании генетической информации. В результате в пептидную цепь включаются необычные аминокислоты и синтезируются неактивные молекулы белка [1, 3].

Аминогликозиды широко используются при работе с культурой клеток и тканей растительного происхождения, прежде всего в опытах по генетической трансформации [4].

Избирательность действия аминогликозидов на бактериальную клетку обеспечивается существенным различием рибосом у бактерий и эукариот. Однако 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) [5].

Цель работы: изучить влияние аминогликозидных антибиотиков (гентамицина, стрептомицина, канамицина, амикацина) и цитокинина 6-БАП на патологию митоза в *Allium*-тесте.

Методика исследований

Исследование ответных реакций растений лука обыкновенного в условиях действия водных растворов антибиотиков выполняли с помощью *Allium*-теста [6] 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-бензиламинопури (6-БАП) (Sigma-Aldrich, USA) — 5,0 мг/л.

Давленные препараты для цитогенетического анализа, окрашенные ацетогематоксилином, изготавливали по общепринятой методике [7]. Просмотр препаратов

осуществляли на компьютеризированной кариологической станции, оснащенной микроскопом Leica DMR при увеличении 40x10x1,5. Цитогенетический анализ выполняли по [7, 8].

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 $p < 0,05$ [9].

Результаты исследований

Результаты тестирования аминокликозидных антибиотиков показали возрастание в 1,3–3,0 раза значений патологии митоза (ПМ) в клетках образовательной ткани по сравнению с контролем в вариантах применения гентамицина и стрептомицина (Рисунок). В то же время действие канамицина подавляет патологические процессы в клетках, патология митоза снижается до 1,5 раз по сравнению с контролем. При использовании амикацина наблюдали нормальное значение уровня спонтанного мутирования: около 5% [10]. Причем, определение корреляционных отношений между ПМ с учетом профазы и ПМ без учета профазы выявило высокое положительное значение, равное 0,92.

При повышении концентрации гентамицина и канамицина наблюдали снижение уровня патологических процессов в клетках, о чем свидетельствует уменьшение значения ПМ с 21,7% до 16,7% у гентамицина и с 11,3% до 8,1% у канамицина. При возрастании концентрации стрептомицина установлено увеличение числа клеток с патологией митоза в 2,2 раза, и это было самое высокое значение ПМ, равное 35,3% (Рисунок 1).

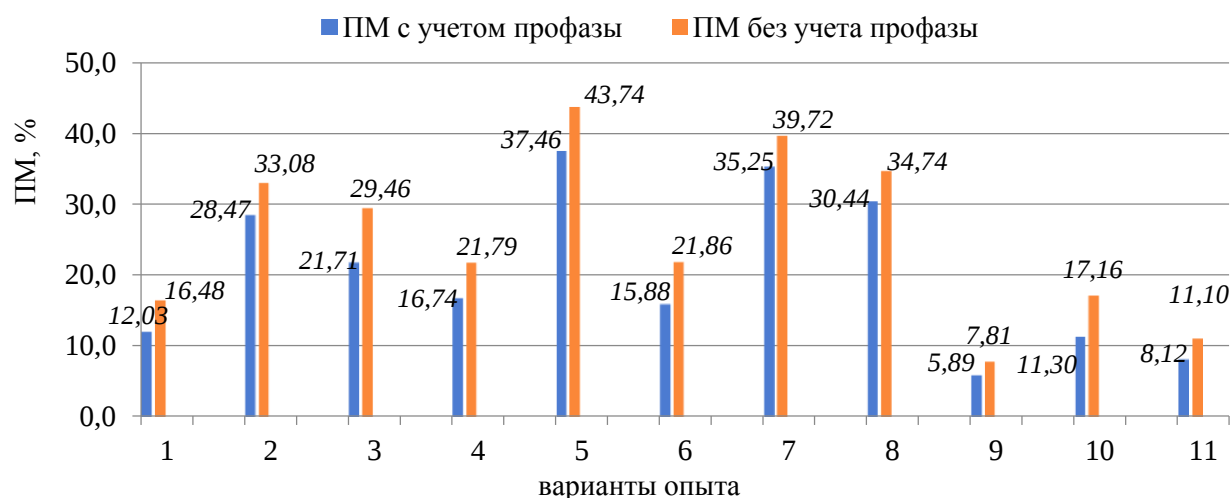


Рисунок 1. Влияние тестируемых веществ на патологию митоза. Варианты опыта: 1 – контроль; 2 – 6-БАП, 5,0 мг/л; 3 – гентамицин, 50,0 мг/л; 4 – гентамицин, 100,0 мг/л; 5 – гентамицин, 100,0 мг/л + 6-БАП, 5,0 мг/л; 6 – стрептомицин, 150,0 мг/л; 7 – стрептомицин, 1000,0 мг/л; 8 – стрептомицин, 1000,0 мг/л + 6-БАП, 5,0 мг/л; 9 – амикацин, 500,0 мг/л; 10 – канамицин, 100,0 мг/л; 11 – канамицин, 1000,0 мг/л

При одновременном применении гентамицина и 6-БАП (Рисунок 1) выявлен рост числа клеток с патологией митоза по сравнению с соответствующими вариантами, когда упомянутые вещества применялись по отдельности. Противоположный результат отмечали в случае совместного использования цитокинина и стрептомицина, когда число клеток с патологией митоза снижалось.

Изучение доли клеток на стадии профазы показало, что в варианте применения канамицина (в концентрации 100 мг/л) она возрастает с 28,4% до 34,4% (Рисунок 2), в остальных вариантах отмечены либо сопоставимые значения либо снижение показателя по сравнению с контролем.

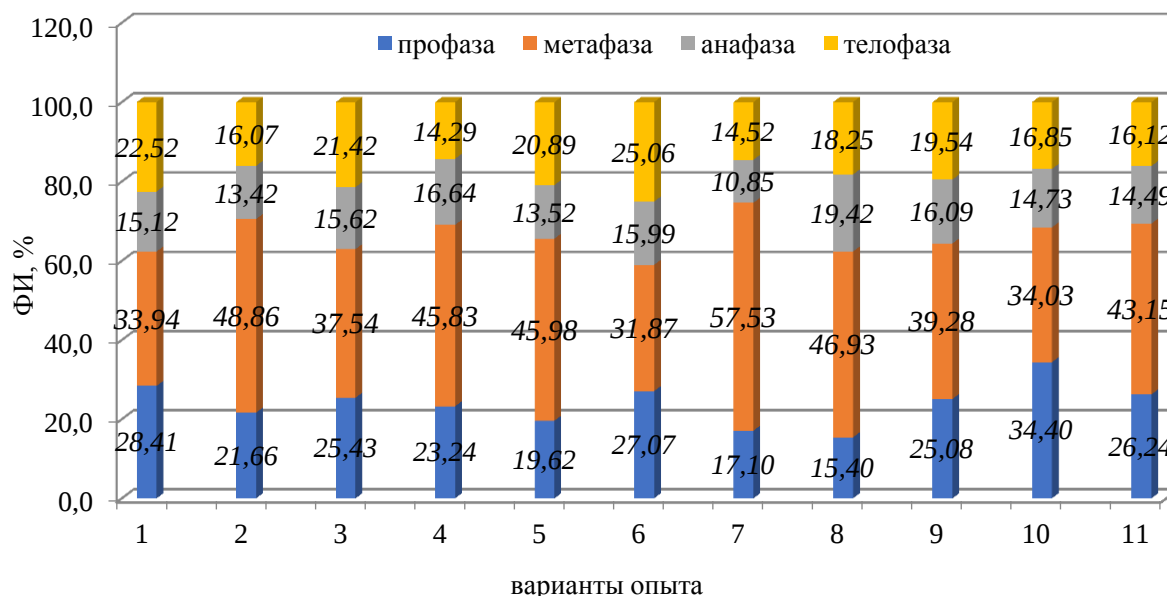


Рисунок 2. Влияние тестируемых веществ на фазный индекс. Варианты опыта: 1 – контроль; 2 – 6-БАП, 5,0 мг/л; 3 – гентамицин, 50,0 мг/л; 4 – гентамицин, 100,0 мг/л; 5 – гентамицин, 100,0 мг/л + 6-БАП, 5,0 мг/л; 6 – стрептомицин, 150,0 мг/л; 7 – стрептомицин, 1000,0 мг/л; 8 – стрептомицин, 1000,0 мг/л +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

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.

В то же время увеличилась доля клеток на стадии метафазы во всех опытных вариантах. Наиболее существенно по сравнению с контролем метафазный индекс возрос в 1,7 раза в варианте «стрептомицин, 1000 мг/л» (Рисунок 2). Полученные значения метафазного индекса в эксперименте свидетельствуют о том, что аминогликозидные антибиотики вызывают патологии митоза, связанные с повреждением митотического аппарата в большей или меньшей степени.

Доля клеток на стадии анафазы колебалась незначительно по отношению к контрольной цифре во всех вариантах опыта, кроме варианта «стрептомицин, 1000 мг/л», где данный показатель снизился в 1,4 раза (Рисунок 2).

Значение телофазного индекса в большинстве опытных вариантов сопоставимо с контрольной цифрой. Исключение составляют варианты «гентамицин, 100 мг/л» и «стрептомицин, 1000,0 мг/л», когда доля клеток на стадии телофазы увеличилась по сравнению с контролем в 1,6 раза (Рисунок 2).

Необходимо отметить, что наиболее существенные изменения при прохождении всех основных фаз митоза регистрировали только в варианте «стрептомицин, 1000 мг/л».

Применение гентамицина в концентрации 50,0 мг/л не оказывало влияние на фазные индексы, в то время как увеличение концентрации до 100,0 мг/л существенно повлияла на прохождение большинства регистрируемых фаз митоза. Аналогичная картина наблюдалась и

при повышении концентрации стрептомицина. В то же время канамицин в концентрации 100,0 мг/л способствует повышению доли клеток на стадии профазы, а при концентрации 1000,0 мг/л содействует повышению доли клеток на стадии метафазы.

Если анализировать совместное действие 6-БАП и гентамицина, то следует отметить, что данная комбинация незначительно повлияла на прохождение отдельных фаз митоза по сравнению со значением в контроле. В то время как по отношению к вариантам применения этих веществ в отдельности отмечено повышение доли клеток в телофазе. При совместном применении 6-БАП и стрептомицина установлено снижение доли клеток в профазе, метафазе и увеличение доли клеток в анафазе и телофазе при сравнении с соответствующими вариантами опыта, когда тестируемые вещества применялись в монорастворе. В исследуемых вариантах совместного применения цитокинина и тестируемых аминогликозидных антибиотиков отмечено влияние 6-БАП на прохождение митоза. Необходимо упомянуть, что цитокинины стимулируют экспрессию специфического циклина и тем самым ускоряют переход от фазы G2 к делению [11–13]. Такое увеличение темпа прохождения клеточного цикла на начальной стадии митоза, по-видимому, оказывает влияние на распределение фазных индексов при использовании 6-БАП (рисунок 2).

Заключение

Таким образом, результаты тестирования аминогликозидных антибиотиков показали возрастание в 1,3–3,0 раза патологических митозов в клетках по сравнению с контролем в вариантах применения гентамицина и стрептомицина. В то же время действие канамицина и амикацина подавляют патологические процессы в клетках. При рассмотрении фазных индексов отмечено индуцирование тестируемыми аминогликозидными антибиотиками такой патологии митоза как задержка митоза в метафазе, что связано с повреждением митотического аппарата. Наиболее существенные изменения при прохождении всех основных фаз митоза регистрировали в варианте «стрептомицин, 1000 мг/л».

Список литературы:

1. Навашин С. М., Фомина И. П. Рациональная антибиотикотерапия. М.: Медицина. 1982.
2. Машковский М. Д. Лекарственные средства. М.: Новая волна, 2012.
3. Альберт А. Избирательная токсичность: Физико-химические основы терапии. М.: Медицина, 1989. Т. 1.
4. Ieamkhang S., Chatchawankanphanich O. Augmentin® as an alternative antibiotic for growth suppression of *Agrobacterium* for tomato (*Lycopersicon esculentum*) transformation // Plant cell, tissue and organ culture. 2005. Vol. 82. №2. P. 213-220. <https://doi.org/10.1007/s11240-005-0416-6>
5. Сазыкин Ю. О., Орехов С. Н., Чакалева И. И. Биотехнология. М.: Академия. 2008.
6. Fiskesjo G. Allium test for screening chemicals; evaluation of cytological parameters // Plants for environmental studies. 1997. Vol. 11. P. 307-333.
7. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений. М.: Агропромиздат. 1988.
8. Алов И. А. Цитофизиология и патология митоза. М.: Медицина, 1972.
9. Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: Высш. шк. 1990.
10. Прохорова И. М., Ковалева М. И., Фомичева А. Н. Оценка митотоксического и мутагенного действия факторов окружающей среды. Ярославль. 2003.
11. Романов Г. А. Как цитокинины действуют на клетку // Физиология растений. 2009. Т. 56. №2. С. 295-319.

12. Ченцов Ю. С. Введение в клеточную биологию. М.: Академкнига. 2004.

13. Высоцкая Л. В. Митотический цикл и его регуляция // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2014. Т. 18. №1. С. 81-92.

References:

1. Navashin, S. M., & Fomina, I. P. (1982). Ratsional'naya antibiotikoterapiya. Moscow. (in Russian)

2. Mashkovskii, M. D. (2012). Lekarstvennye sredstva. Moscow. (in Russian)

3. Al'bert, A. (1989). Izbiratel'naya toksichnost': Fiziko-khimicheskie osnovy terapii. Moscow. (in Russian)

4. Ieamkhang, S., & Chatchawankanphanich, O. (2005). Augmentin® as an alternative antibiotic for growth suppression of *Agrobacterium* for tomato (*Lycopersicon esculentum*) transformation. *Plant cell, tissue and organ culture*, 82(2), 213-220. <https://doi.org/10.1007/s11240-005-0416-6> (in Russian).

5. Sazykin, Yu. O., Orekhov, S. N., & Chakaleva, I. I. (2008). Biotekhnologiya. Moscow. (in Russian)

6. Fiskesjo, G. (1997). Allium test for screening chemicals; evaluation of cytological parameters. *Plants for environmental studies*, 11, 307-333.

7. Pausheva, Z. P. (1988). Praktikum po tsitologii rastenii. Moscow. (in Russian).

8. Alov, I. A. (1972). Tsitofiziologiya i patologiya mitoza. Moscow. (in Russian).

9. Lakin, G. F. (1990). Biometriya. Moscow. (in Russian)

10. Prokhorova, I. M., Kovaleva, M. I., & Fomicheva, A. N. (2003). Otsenka mitotoksicheskogo i mutagenного deistviya faktorov okruzhayushchei sredy. Yaroslavl'.

11. Romanov, G. A. (2009). How do cytokinins affect the cell? *Russian Journal of Plant Physiology*, 56(2). 268-290. (in Russian).

12. Chentsov, Yu. S. (2004). Vvedenie v kletochnyu biologiyu. Moscow. (in Russian).

13. Vysotskaya, L. V. (2014). Mitoticheskii tsikl i ego regulyatsiya. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 18(1), 81-92. (in Russian).

*Работа поступила
в редакцию 10.02.2020 г.*

*Принята к публикации
17.02.2020 г.*

Ссылка для цитирования:

Концевая И. И., Алексеенко О. Г. Влияние аминогликозидных антибиотиков на патологию митоза в Allium-тесте // Бюллетень науки и практики. 2020. Т. 6. №3. С. 54-59. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/52/07>

Cite as (APA):

Kantsavaya, I., & Alekseenko, O. (2020). Effect of Aminoglycoside Antibiotics on Mitosis Pathology in Allium-test. *Bulletin of Science and Practice*, 6(3), 54-59. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/52/07> (in Russian).