

Изучение цитогенетического эффекта водного экстракта куколок китайского дубового шелкопряда у *Allium Cera L.*

И.И. Концевая*, Т.А. Толкачева**

*Учреждение образования «Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины»

**Учреждение образования «Витебский государственный
университет им. П.М. Машерова»

При исследовании различных концентраций водного экстракта куколок китайского дубового шелкопряда на развитие луковиц *Allium Cera* не установлено негативных воздействий на изучаемые цитогенетические параметры (митотическую активность, долю клеток на определенной стадии митоза, патологию митоза, уровень и спектр патологий митоза, долю микроядер). При обработке корешков лука водным экстрактом в количестве 1,0–0,01 и 0,0001 мл экстракта на 100 мл воды имеет место достоверная стимуляция митотической активности меристематических клеток корешка по отношению к контролю, содержащему дистиллированную воду, либо ингибирование при использовании водного экстракта в количестве 10,0 и 0,001 мл на 100 мл воды. При всех тестируемых в опыте концентрациях экстракта отмечено существенное снижение значения митотического индекса по сравнению с контролем, содержащим водопроводную воду. Полученные экспериментальные результаты свидетельствуют о большей чувствительности показателя митотического индекса к действию различных концентраций экстракта по сравнению с изменением величин патологических митозов. Экстракт в исследуемых концентрациях не оказывает существенного негативного влияния на значения патологических митозов, которые находятся в пределах 2,12 до 6,25%. Выявлено, что в результате действия экстракта при большинстве тестируемых концентраций сужается спектр различных типов патологий митоза по сравнению с контрольными вариантами в меристематических клетках корешков лука.

Ключевые слова: водный экстракт, куколки дубового шелкопряда, митотическое деление, цитогенетика, лук.

Study of cythogenetic effect of aqueous extract of Chinese oak silkworm pupae of *Allium Cera L.*

I.I. Kontsevaya*, T.A.Tolkacheva**

*Educational establishment «Gomel State Francisk Skorina University»

**Educational establishment «Vitebsk State University named after P.M. Masherov»

In the study of various concentrations of aqueous extract of the oak silkworm pupae on the development of *Allium cepa* bulbs adverse effects on the investigated cytogenetic parameters (mitotic activity – MI, the proportion of cells at certain stages of mitosis, the pathology of mitosis – PM, the level and spectrum of pathology of mitosis, the percentage of micronuclei) were not discovered. In processing onion roots with aqueous extract in the number of 1,0–0,01 and 0,0001 ml of extract per 100 ml of water we observed reliable stimulation of mitotic activity of meristematic cells of the spine in relation to the control which contained distilled water or inhibiting while using aqueous extract in the amount of 10,0 and 0,001 ml per 100 ml of water. At all tested concentrations of the extract we indicated a significant reduction in mitotic index values compared with the control containing tap water. The experimental results indicate a greater sensitivity to measure the MI effect of different concentrations of the extract, compared with a change in PM values. The extract in the test concentrations does not have any significant negative impact on PM value which range from 2,12 to 6,25%. It was revealed that as a result of the influence of the extract at the tested concentrations the range of different types of pathology of mitosis compared with the control options in the meristematic root cells of onion narrows.

Key words: aqueous extract, oak silkworm pupae, mitotic division, cytogenetics, onion.

В последние годы установлено, что использование химических препаратов для повышения урожайности растений может привести к возрастанию мутационных процессов. Поэтому особый интерес представляет поиск химических композиций природного происхождения, обладающих антиоксидантными и антимуtagenными свойствами [1–4]. Среди источников биологически активных веществ, используемых в растениеводстве, до настоящего времени не применяли препараты из гемолимфы куколок дубового шелкопряда, хотя по хи-

мическому составу гемолимфа может быть использована для получения высокоэффективных стимуляторов роста. Ранее было обнаружено ингибирующее действие водного экстракта куколок шелкопряда на образование *in vivo* активных форм кислорода и галогенов в нейтрофилах, что свидетельствует об его антиоксидантном действии [5]. Целью работы явилось изучение влияния различных концентраций водного экстракта куколок китайского дубового шелкопряда на цитогенетические параметры в клетках корневых меристем *Allium Cera L.*

Материал и методы. Биотестирование различных концентраций водного экстракта куколок дубового шелкопряда (далее – экстракта) выполняли с помощью модифицированного Allium-теста [6]. Перед началом эксперимента луковицы *Allium cepa* выдерживали при 4°C для активизации и синхронизации процесса прорастания на протяжении двух недель [7]. В эксперименте на каждый вариант использовали по 12 репчатых луковиц сорта «Штуттгартен» диаметром 2,0–2,5 см. Предварительно у луковиц удалили внешние чешуи и коричневую нижнюю пластинку, а затем поместили в 20-миллилитровые пробирки, наполненные дистиллированной водой. Проращивание луковиц проводили при комнатной температуре 20–25°C при естественном освещении. Через 48 часов отобрали на вариант по 10 наиболее развитых луковиц, и поместили их на 24 часа в тестируемые растворы. Водный экстракт куколок дубового шелкопряда получали в соответствии с авторским свидетельством СССР № 1787439А1 (В.А. Трокоз, Т.Д. Лотош, А.Б. Абрамова и др.). Нормирование водного экстракта проводили по сумме свободных аминокислот путем разведения до концентрации 550 мг/л. Такой экстракт использовали для приготовления 6 разведений экстракта (мл экстракта на 100 мл воды) с указанием концентрации свободных аминокислот в разведении: о1 – 10 мл (5,5 мг); о2 – 1 мл (0,55 мг); о3 – 0,1 мл (55 мкг); о4 – 0,01 мл (5,5 мкг); о5 – 0,001 мл (0,55 мкг); о6 – 0,0001 мл (0,055 мкг). В качестве основного контроля использовали дистиллированную воду (к1), и дополнительного контроля – водопроводную воду (к2). Выбор дистиллированной воды обоснован в работе [8]. Воду и растворы для обеспечения аэрации меняли каждые 24 часа. Через 72 часа культивирования (от начала проращивания) выполняли фиксацию корешков в растворе Карнуа, в течение 24 часов, в холодильнике. Фиксацию корешков проводили с 8 до 9 часов утра. Для фиксации отрезали от каждой из 10 луковиц кончики корешков длиной не более 1,0 см (исключали самые длинные и самые короткие корешки). Корешки подсушивали на фильтровальной бумаге и помещали в фиксатор. Затем проводили промывку корешков абсолютным спиртом и переносили их в 70% спирт. Хранили материал в холодильнике до приготовления препаратов. При приготовлении давленных препаратов корешки 2 раза промывали дистиллированной водой, потом подсушивали на фильтровальной бумаге. Мацерацию материала проводили при

55–60°C в 1н растворе соляной кислоты в течение 3–7 мин. После мацерации корешки быстро промывали дистиллированной водой, затем промокали на фильтровальной бумаге и переносили в ацетогематоксилин на 25 мин. После красителя корешки отмывали несколько раз дистиллированной водой, в которой затем и хранили до использования. Под микроскопическим контролем от окрашенного корешка отрезали кончик длиной 1–2 мм, который переносили в 45% уксусную кислоту и давили. Анализировали по 10–30 проростков в варианте. В каждом препарате учитывали все клетки на стадии профазы, метафазы, анафазы и телофазы. Влияние экстракта на клеточном уровне оценивали по митотическому индексу (МИ), который определяли с учетом профазных клеток и без учета профазных клеток, митотический индекс – только по профазным, метафазным, анафазным, телофазным клеткам. Для выявления стадии митоза, на которой происходит митотический блок, подсчитывали относительную продолжительность фаз митоза. Для определения возможной задержки митоза на стадии метафазы использовали метафазно-профазный индекс (МПИ). Возможность ингибирующего либо стимулирующего эффектов экстракта оценивали с использованием ана-телофазного метода учета перестроек хромосом в клетках корневых меристем лука. Патологию митоза (ПМ) подсчитывали как отношение числа клеток с нарушениями митоза к общему числу делящихся клеток [9–10]. Наряду с абберациями (мостами и фрагментами), учитывали прочие цитогенетические нарушения, не связанные с повреждениями хромосом: отставание хромосом в метафазе или при расхождении к полюсам делящихся клеток, их слипание, асимметричное расположение веретена деления. Для получения более точной оценки по критерию «патология митоза» вычисляли их частоту без учета профаз. Также подсчитывали число клеток с микроядрами, отмечая их количество в клетке и размеры. Просмотр препаратов осуществляли на микроскопе Leica Gallen III при увеличении 40×10. По каждому варианту было просмотрено более 20 000 клеток.

Статистическую обработку результатов выполняли с использованием программ Excel. Для сравнения выборок по митотической активности, доли клеток на стадиях митоза и по патологиям митоза использовали t-критерий Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Анализ данных микроскопического исследования выявил,

что при всех тестируемых концентрациях экстракта (варианты опыта о1–о6) встречаются видимые изменения в размерах и морфологии меристематических клеток лука. При воздействии на корешки экстракта определяли единичные клетки большого размера и до 1% интерфазных фрагментированных клеток. Последние были представлены в виде клеток, не содержащих генетический материал, т.е. это какая-то часть цитоплазмы в межклеточном пространстве либо это отдельные компоненты цитоплазмы с обособленной частью материала ДНК. По нашему мнению, химические соединения фрагментов клеток могут включаться в различные метаболические пути и тем самым выполнять позитивную роль, но фрагменты могут также механически мешать дальнейшему делению близлежащих клеток.

На рис. 1 суммированы данные о способности экстракта влиять на пролифераторную активность клеток корневой меристемы лука, используя показатели «митотический индекс» и «метафазно-профазный индекс».

Из представленных данных видно, что средние значения МИ варьировали в опытных вариантах от $1,2 \pm 0,11\%$ до $10,2 \pm 1,3\%$ против $5,2 \pm 0,54\%$ в контроле 1 и $13,3 \pm 1,4\%$ в контроле 2. Не установлено прямой зависимости между изменением величины МИ от уменьшения концентрации экстракта. Выявлено существенное влияние экстракта на показатель митотической активности по сравнению с контролем 1 и контролем 2. В зависимости от используемой при обработке концентрации экстракта имеет место

достоверная стимуляция ($P < 0,05$) митотической активности клеток по отношению к контролю 1, когда применяли дистиллированную воду, в вариантах опыта о2, о3, о4, о6, либо ингибирование в вариантах опыта о1, о5. Во всех исследуемых опытных вариантах отмечали существенное снижение значения митотического индекса по сравнению с контролем 2, когда использовали водопроводную воду. На основе полученных данных также определяли изменчивость цитологических параметров (МИ, МПИ) для каждой исследуемой выборки. Во всех вариантах, как в контрольных, так и опытных, отмечена повышенная изменчивость ($v = 26–82\%$) для МИ и ($v = 31–98\%$) для МПИ.

Коэффициент корреляции между МИ с учетом профаз и МИ без учета профаз имеет высокое положительное значение, равное 0,92. В то время как корреляционная зависимость между МИ и МПИ отсутствует. Из рис. 1 заметно преобладание метафаз над профазами, соответственно, МПИ в вариантах опыта о1 о3, о4 составил $7,59 \pm 0,9–16,8 \pm 1,52$ против $2,41 \pm 0,21$ в контроле 1 ($P < 0,05$). Другие тестируемые концентрации экстракта не оказывали существенного влияния на величину МПИ.

Изучение распределения клеток по стадиям митоза показало, что наибольшее их число как в контрольных вариантах, так и в опытных, приходится на метафазу ($27,2 \pm 2,9–51,0 \pm 6,8\%$), доля клеток на стадиях ана- и телофазы суммарно составила $34,3 \pm 3,6–41,2 \pm 4,8\%$, на стадии профазы – $11,1 \pm 2,1–35,4 \pm 4,0\%$ (рис. 2).

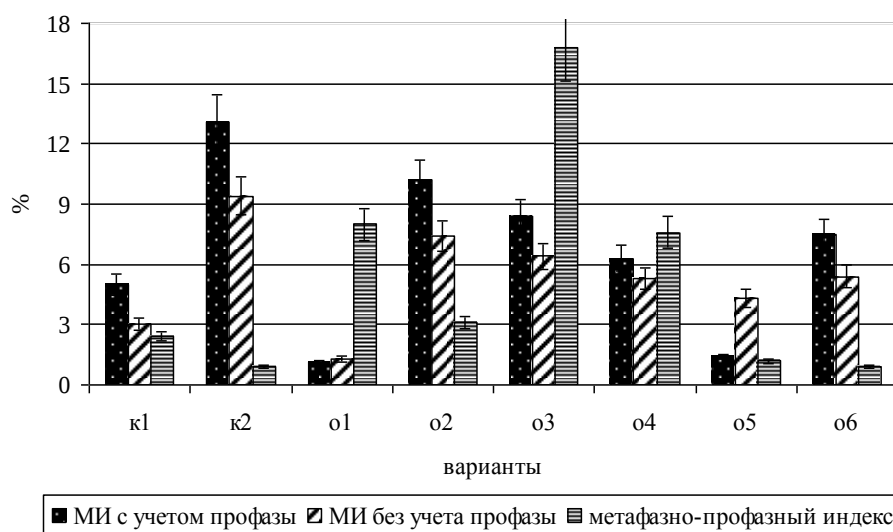


Рис. 1. Митотический индекс и метафазно-профазный индекс в меристеме *Allium cepa* при воздействии разных концентраций экстракта.

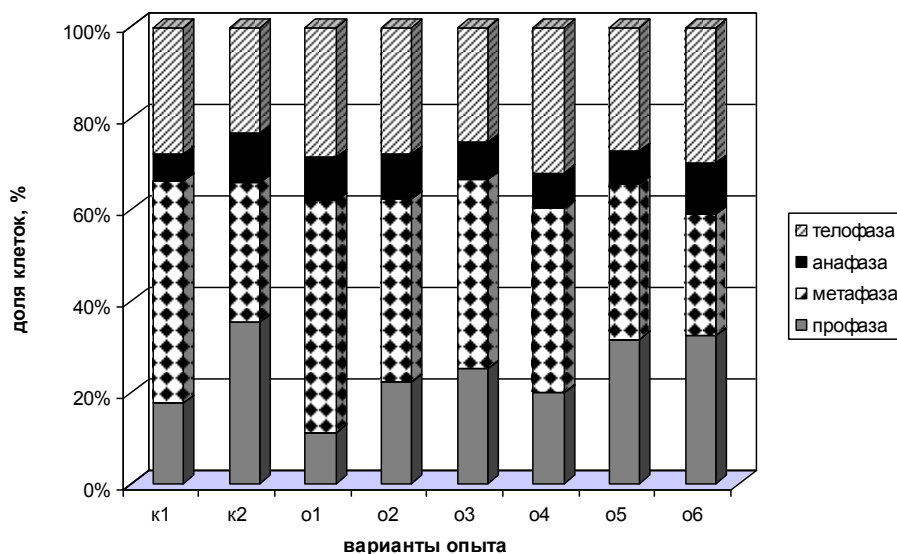


Рис. 2. Относительная продолжительность фаз митоза в корневой меристеме *Allium cepa* под действием экстракта.

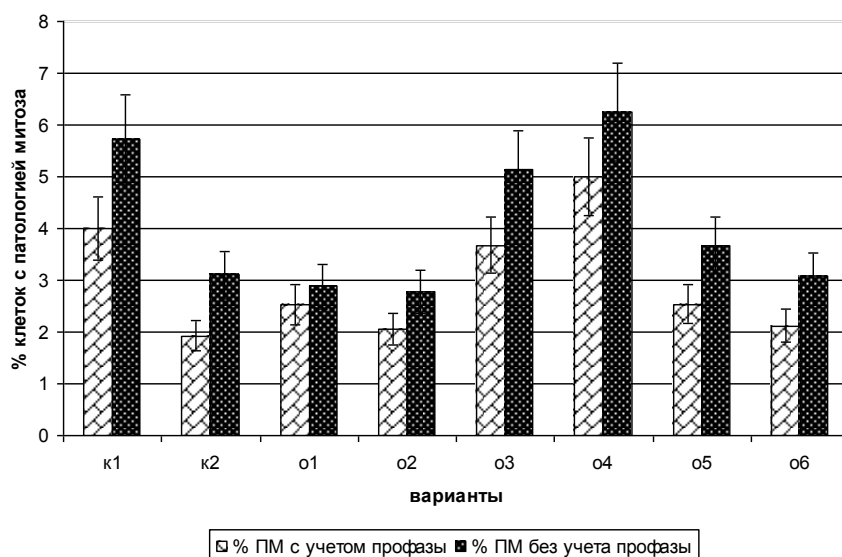


Рис. 3. Патология митоза в корневой меристеме *Allium cepa* под действием экстракта.

Расчет различных типов митотического индекса и определение долей делящихся клеток необходимы для регистрации времени прохождения клетками различных стадий митоза, выявления возможной задержки клеток на какой-либо стадии вследствие повреждения цитогенетических структур клетки под действием внешних или внутренних факторов любой природы.

В зависимости от того, на какие процессы влияет экстракт, происходит остановка клеточного деления на определенной стадии митоза (рис. 2). Было отмечено, что различные концентрации экстракта по-разному влияют на клеточный цикл. Так, концентрации экстракта

в вариантах опыта о2, о3, о5, о6 вызывали митотический блок на стадии профазы, о1 – на стадии метафазы, о1, о2, о6 – на стадии анафазы, о4 – на стадии телофазы.

Выявление способности веществ останавливать клеточное деление на различных стадиях митоза, по мнению И.А. Алова [10], позволяет высказать мнение о механизме действия этих соединений. Так, блокировка на стадии профазы говорит о вмешательстве в метаболизм нуклеиновых кислот либо наблюдается при нарушениях репликации ДНК, блок на стадии метафазы – о вмешательстве в метаболизм аппарата, осуществляющего расхождение хромосом к по-

люсам. Блок на стадии анафазы свидетельствует о величине повреждения хромосомного аппарата, выражающейся в большом количестве мостов [11]. В зависимости от тестируемых концентраций экстракта его действие, по-видимому, различно и можно предположить следующее: самая высокая из тестируемых концентрация экстракта в вариантах опыта о1 влияет на нити веретена деления и способна индуцировать хромосомные aberrации; снижение концентрации экстракта в вариантах опыта о2, о3, о5 и о6 способно влиять на метаболизм предшественников нуклеиновых кислот, в вариантах опыта о2, о6 дополнительно индуцировать хромосомные aberrации, а в варианте опыта о4 вызывать изменения подвижности хромосом, влиять на веретено деления и задержку цитокинеза. С другой стороны, существенное возрастание в варианте опыта о1 доли клеток до $50,7 \pm 5,4\%$ на стадии метафазы по сравнению с контролем 1 дает основание рассматривать изменение времени прохождения клетками данной стадии митоза как включение механизма адаптации к стрессовым факторам и поддержания гомеостаза клеточной популяции [12]. В то же время уменьшение доли клеток до $26,5 \pm 5,9$ – $33,9 \pm 4,0$ на стадии метафазы в вариантах опыта о5 и о6 может свидетельствовать о том, что адаптивные механизмы блокируются на разных стадиях метаболизма из-за снижения концентрации экстракта, содержащего биологически активные субстанции.

Известно, что способность соединений вмешиваться в клеточный метаболизм коррелирует с их мутагенностью [10], поэтому следующим этапом работы был анализ мутагенности экстракта для *Allium cepa*. Поскольку многие соединения, стимулирующие или ингибирующие митотическую активность, часто индуцируют мутации в анализируемых тест-системах, мы исследовали способность экстракта в различных концентрациях индуцировать патологии митоза в клетках корневой меристемы лука. По данным В.Н. Калаева [12], подсчет патологий митоза с учетом профаз является экспресс-методом оценки состояния митотического аппарата, т.к. позволяет диагностировать изменение в его функционировании (возрастание патологий митоза и/или изменение времени прохождения клеткой стадий митоза). Для более точного определения причины нарушения митотического аппарата необходимо проводить подсчет патологий митоза без учета профазных клеток и распределение клеток по стадиям цикла.

Результаты анализа показали, что экстракт подавляет протекание патологических процессов в клетке, и это приводит почти при всех его тестируемых концентрациях к тенденции снижения показателя ПМ. Причем, определение корреляционных отношений между ПМ с учетом профазы и ПМ без учета профазы выявило высокое положительное значение, равное 0,97. Значение ПМ колеблется от $2,12 \pm 0,3$ до $6,25 \pm 0,8\%$, что фактически находится в пределах нормального значения уровня спонтанного мутирования: 2–5%. Превышение этого уровня по признаку «ПМ без учета профазы» в варианте опыта о4 не является достоверным по отношению к контролю 1 ($P < 0,05$). Полученные данные (рис. 2 и 3) свидетельствуют о большей чувствительности показателя МИ к действию различных концентраций экстракта по сравнению с изменением величин ПМ.

Данные, представленные на рис. 3, свидетельствуют о том, что экстракт в исследуемых концентрациях не оказывает существенного негативного влияния на значения ПМ. Низкое число ПМ у лука в опытных вариантах позволяет предположить у него проявления высокой адаптивности, возможно, в результате действия экстракта. Спектр ПМ включал такие типы патологий, как асимметричное расположение веретена деления, забегание и отставание хромосом в анафазе митоза, обособление единичных хромосом и группы хромосом в метафазе, мосты в анафазе и телофазе, то есть наиболее общие типы митотических нарушений. Выявлено, что в результате действия экстракта при большинстве тестируемых концентраций сужается спектр различных патологий митоза по сравнению с контрольными вариантами в меристематических клетках корешков лука.

В нашем эксперименте довольно высокую долю среди ПМ составляет асимметричное расположение митотического веретена как в контрольных, так и в опытных вариантах. В контрольных вариантах и в вариантах опыта о1, о2, о3 значения данного признака колеблются от $35,0 \pm 4,2$ до $40,0 \pm 4,2\%$, в вариантах о4, о5, о6 отмечено достоверное снижение значений до $22,3 \pm 2,1$ – $28,6 \pm 2,5\%$ ($P < 0,05$). Следует подчеркнуть, что деление клетки нуждается не только в событиях, которые происходят в точной временной последовательности, но и в точном их расположении в месте деления. Чтобы гарантировать, что дочерние клетки получают одинаковые наборы ДНК, место деления должно разделять пополам митотическое веретено с определенной ориентацией. Асимметричное располо-

жение веретена деления не влияет на распределение ядерного материала ДНК, однако может привести к неравномерному распределению цитоплазматических органелл и, соответственно, ДНК митохондрий и пластид.

Выявлено, что меристематические клетки корешков лука в контрольных вариантах (1 и 2) содержат мосты, которые составляют $5,9 \pm 0,4 - 6,8 \pm 0,7\%$ от всех патологий митоза. Действие экстракта существенно снижает величину встречаемости мостов в клетках до $2,6 \pm 0,4\%$ либо 0. Хромосомные и хроматидные мосты являются обычно следствием фрагментации хромосом. Образование мостов приводит к генотипической разнородности дочерних клеток, а также нарушает течение завершающих стадий деления и задерживает цитокинез. Тестируемые концентрации экстракта, по-видимому, нивелируют негативные процессы, имеющие место при клеточном делении.

Отставание хромосом в метакинезе и при расхождении к полюсам возникает при повреждении хромосом в области кинетохора. Поврежденные хромосомы пассивно «дрейфуют» в цитоплазме в единственном числе либо образуя группу хромосом, и в итоге либо разрушаются и элиминируются из клетки, либо случайным образом попадают в одно из дочерних ядер, либо образуют отдельное микроядро. В эксперименте доля клеток с таким признаком очень высока. В контроле 1 значение равно $44,3 \pm 4,1\%$, в опытных вариантах имеет место увеличение доли клеток с такой патологией митоза: в вариантах о1, о2, о3 до $65,0 \pm 7,1\%$ ($P < 0,05$), в вариантах о4, о5, о6 до $77,7 \pm 8,6\%$ ($P < 0,01$).

Образование микроядер происходит вследствие фрагментации или отставания отдельных хромосом, вокруг которых в телофазе формируется ядерная оболочка, параллельно образованию оболочки вокруг основных дочерних ядер. Новообразованные микроядра либо сохраняются в клетке в течение всего дальнейшего клеточного цикла вплоть до очередного деления, либо подвергаются пикнозу, разрушаются и выводятся из клетки. В эксперименте обнаружено незначительное число микроядер как в контроле 1, так и в ряде вариантов опыта (от $0,01 \pm 0,001\%$ до $0,03 \pm 0,009\%$).

Наиболее грубые патологии митоза (мосты, фрагментация хромосом, микроядра) не были выявлены при использовании экстракта в максимальной и минимальной концентрациях, соответственно, 10 мл и 0,0001 мл экстракта на 100 мл воды. Установлено, что из-за низкой ми-

тотической активности меристематических клеток корешков лука в варианте опыта о1 (рис. 1) снижается суммарный процент клеток с патологией митоза и сужается спектр встречаемых типов патологий (рис. 3) по сравнению с контролем 1. Полученные результаты можно объяснить тем, что продолжительность метафазы при данной концентрации экстракта существенно не отличается от таковой в контроле 1, в то время как вышеуказанные показатели между вариантами существенно различаются. Поэтому следует предположить, что высокая концентрация экстракта в опыте 1 способствует включению механизма адаптации к стрессовому фактору (которым и является экстракт в высокой концентрации) и поддержанию гомеостаза клеточной популяции. В вариантах опыта о5 и о6 отмеченная задержка на стадии профазы (рис. 2), когда блокируется метаболизм предшественников нуклеиновых кислот, реализуется по-разному. В варианте опыта о5 в метафазе из-за количественного недостатка предшественников нуклеиновых кислот имеет место повышение уровня хромосомных аберраций, таких, как мосты, фрагментация хромосом. В варианте опыта о6 при существующей небольшой продолжительности метафазы по сравнению с контролем 1 (рис. 2) количество метаболитов достаточное, поэтому на этой стадии не происходит образование грубых хромосомных аберраций. Т.е. при воздействии экстракта стимулирование или ингибирование реакций различной природы регулируется с привлечением различных клеточных механизмов.

Заключение. Таким образом, при исследовании различных концентраций водного экстракта куколок дубового шелкопряда на развитие луковиц *Allium cepa* не установлено негативных воздействий на изучаемые цитогенетические параметры (митотическая активность, доля клеток на определенной стадии митоза, патология митоза, уровень и спектр патологий митоза, доля микроядер). При обработке корешков лука водным экстрактом в количестве 1,0–0,01 и 0,0001 мл экстракта на 100 мл воды имеет место достоверная стимуляция ($P < 0,05$) митотической активности меристематических клеток корешка по отношению к контролю 1, когда применяли дистиллированную воду, либо ингибирование при использовании водного экстракта в количестве 10,0 и 0,001 мл на 100 мл воды. При всех тестируемых в опыте концентрациях экстракта отмечено существенное снижение значения митотического индекса по сравнению с контролем 2, когда использовали

водопроводную воду. Полученные экспериментальные результаты свидетельствуют о большей чувствительности показателя МИ к действию различных концентраций экстракта по сравнению с изменением величин ПМ. Экстракт в исследуемых концентрациях не оказывает существенного негативного влияния на значения ПМ, которое колеблется от 2,12 до 6,25%, что фактически находится в пределах нормального значения уровня спонтанного мутирования: 2–5%. Выявлено, что в результате действия экстракта при большинстве тестируемых концентраций сужается спектр различных типов патологий митоза по сравнению с контрольными вариантами в меристематических клетках корешков лука; при остальных концентрациях экстракта этот показатель находится на уровне контроля.

ЛІТЕРАТУРА

- Knoll, M.F. Effects of *Pterocaulon polystachyum* DG. (Asteraceae) on onion (*Allium cepa*) root-tip cells / M.F. Knoll [et al.] // Genetics and Molecular Biology. – 2006. – Vol. 29. – P. 539–542.
- Akinboro, A. Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa* Linn. / A. Akinboro, A.A. Bakare // J. Ethnopharmacol. – 2007. – Vol. 112. – № 3. – P. 470.
- Solanke, P. An Evaluation of the Genotoxic effects of seed decoction of *Cassia tora* L. (Leguminosae) in *Allium cepa* Model / P. Solanke [et al.] // Ethnobotanical Leaflets. – 2007. – Vol. 11. – P. 217–223.
- Kumar, L.P. G₂ studies of antimutagenic potential of chemopreventive agent curcumin in *Allium cepa* root meristem cells / L.P. Kumar, N. Paneerselvam // Facta Universitatis. – Series Medicine and Biology. – 2008. – Vol. 15. – № 1. – P. 20–23.
- Чиркин, А.А. Антиоксидантная активность куколок китайского дубового шелкопряда (*Antheraea pernyi* G.-M.) / А.А. Чиркин [и др.] // Ученые записки УО «ВГУ им. П.М. Машерова»: сб. науч. ст. – Витебск: Изд-во УО «ВГУ им. П.М. Машерова», 2007. – С. 248–265.
- Fiskesjo, G. The Allium test as a standard in environmental monitoring / G. Fiskesjo // Hereditas. – 1985. – Vol. 102. – P. 99–102.
- Гудков, И.Н. Роль асинхронности клеточных делений и гетерогенности меристемы в радиоустойчивости растений / И.Н. Гудков, Д.М. Гродзинский // Механизмы радиоустойчивости растений. – Киев: Наукова думка, 1976. – С. 110–137.
- Evseeva, T.I. Genotoxicity and cytotoxicity assay of water sampled from the underground nuclear explosion site in the north of the Perm region (Russia) / T.I. Evseeva [et al.] // J. Environ. Radioactivity. – 2005. – Vol. 80. – P. 59–74.
- Цитогенетический мониторинг: методы оценки загрязнения окружающей среды и состояния генетического аппарата организма / В.Н. Калаев, С.С. Карпова. – Воронеж: ВГУ, 2004. – 80 с.
- Алов, И.А. Цитофизиология и патология митоза / И.А. Алов. – М.: Медицина, 1972. – 264 с.
- Artyukhov, V.G. Cytogenetic indices of English oak (*Quercus robur* L.) seminal progeny subject to radioactive radiation in the Chernobyl nuclear disaster and growing on territories with different levels of anthropogenic contamination / V.G. Artyukhov, V.N. Kalaev // 20 Years after Chernobyl Accident: past, present and future: editors E.B. Burlakova, V.I. Naidich. – N. Y.: Nova Science Publishers, Inc., 2006. – P. 247–264.
- Калаев, В.Н. Цитогенетические реакции листовых древесных растений на стрессовые условия и перспективы их использования для оценки генотоксичности окружающей среды: автореф. дис. ... докт. биол. наук: 03.00.16; 03.00.15 / В.Н. Калаев; ГОУ ВПО. – Воронеж: ВГУ, 2009. – 47 с.

Поступила в редакцию 30.06.2011. Принята в печать 30.08.2011

Адрес для корреспонденции: 210038, г. Витебск, Московский пр-т, д. 33, УО «ВГУ им. П.М. Машерова», кафедра химии, e-mail: tanyatolkacheva@mail.ru – Толкачева Т.А.