



муниципальное бюджетное учреждение  
дополнительного образования

*«Эколого-биологический центр*

**«СМОЛЕНСКИЙ зоопарк»**

Учебно-экспериментальная работа на тему:

***«Генотоксическое и тератогенное влияние  
ирунина на плодовую мушку  
*Drosophila melanogaster*»***

**Симурова Виктория Сергеевна**  
Объединение «Начинающий эколог»  
естественнонаучной направленности  
11 класс

Руководитель:  
педагог дополнительного образования  
МБУ ДО «ЭБЦ «Смоленский зоопарк»  
Куреленкова Маргарита Анатольевна

**Смоленск  
2021**

## Содержание

<b>Введение</b> .....	стр. 4
<b>I. Основная часть</b> .....	стр. 4
<b>1. Постановка эксперимента</b> .....	стр. 8
<i>а). Получение кладки яиц плодовой мушки <i>Drosophila melanogaster</i></i> .....	стр. 9
<i>б). Заложение опытных и контрольных вариантов эксперимента</i> .....	стр.10
<b>2. Учет и статистическая обработка экспериментальных данных</b> .....	стр. 10
<i>а). Генотоксическое воздействие ирунина на плодовую мушку <i>Drosophila melanogaster</i></i> .....	стр. 10
<i>б). Тератогенное воздействие ирунина на плодовую мушку <i>Drosophila melanogaster</i></i> .....	стр. 13
<b>3. Обобщение и выводы по результатам экспериментальной работы</b> .....	стр. 16
<b>II. Литература</b> .....	стр. 17
<b>III. Приложения</b> .....	стр. 18

## Введение

Человеку приходится соприкасаться с огромным количеством разных химических веществ, в том числе лекарственных препаратов. Рост производства и потребления лекарств – одна из примечательных черт современного общества. Сегодня в мире насчитывается свыше 50 тысяч названий лекарств, многие из них далеко не безобидны и могут оказывать мутагенное, канцерогенное, токсическое, аллергическое, тератогенное и другие воздействия на организм.

Одним из таких препаратов является [ирунин \(Irunin\)](#). Это сильно действующее вещество лекарственных препаратов для борьбы с грибковыми заболеваниями. Назначают данный лекарственный препарат для приема внутрь как взрослым, так и детям. Ирунин в терапевтических дозах переносится хорошо, однако у части больных могут возникнуть побочные явления: головные боли, крапивница, диспепсические явления, эозинофилия и лейкопения [6]. Поэтому разработчикам важно оценить влияние различных концентраций лекарства на живой организм.

Для таких тестовых исследований широко используют плодую мушку (лат. *Drosophila melanogaster*), которая является, также как и другие представители отряда Двукрылых (*Diptera*), синантропным видом.

(См. приложение 1)

**\*\*\*Примечание.** 1. Небольшие размеры, короткий жизненный цикл и простота культивирования позволили использовать ряд видов дрозофил как модельные объекты. Это *Drosophila melanogaster*, *Drosophila simulans*, *Drosophila mercatorum* и другие. В настоящее время полностью расшифрованы геномы 12 видов дрозофил. *Drosophila melanogaster* является наиболее важным видом для научных исследований. Этот вид широко используется в научных целях, начиная с работ Томаса Ханта Моргана по генетике пола и хромосомной теории наследственности. Кроме этого, *Drosophila melanogaster* широко используется для оценки негативных эффектов медицинских препаратов и поллютантов.

2. По утверждению специалистов около 61% известных человеческих заболеваний имеют узнаваемое соответствие в генетическом коде плодовой мушки. Дрозофил используют в генетическом моделировании некоторых человеческих заболеваний, включая болезни Паркинсона, Хантингтона и Альцгеймера. Плодовая мушка также часто используется для изучения механизмов, лежащих в основе иммунитета, диабета, рака и наркотической зависимости [3].

Как показали исследования лаборатории генетики РГПУ им. А.И. Герцена, такой противогрибковый антибиотик как гризеофульвин (*Griseofulvin*) оказывает неблагоприятное воздействие на мух *Drosophila melanogaster*. Препарат обладает тератогенным, мутагенным и токсическим эффектами, которые выражаются в возникновении специфических морфозов крыльев и глаз и увеличении гибели дрозофил на всех стадиях развития.

**\*\*\*Примечание.** Морфозы – ненаследуемые аномалии развития органов.

Тератогенный эффект (*teratos* – «чудовище», «урод») – воздействие препарата, приводящее к такого рода нарушениям развития.

В данной работе проведены исследования воздействия на живой организм другого противогрибкового средства – **ирунина**, широко применяемого в медицинской практике. (Инструкция по применению - см. приложение 2).

**Гипотеза.** Учитывая результаты исследований негативного воздействия *гризеофульвина*, можно предположить, что ирунин, являясь препаратом того же класса и спектра действия, также оказывает генотоксическое и тератогенное воздействие на живые организмы.

**Актуальность работы** заключается в том, что важно исследовать воздействие ирунина на организм, потому что он является распространенным лекарственным средством для комплексного лечения грибковых заболеваний. Ирунин в своем составе содержит итраконазол, который в период беременности вызывает нарушения развития плода. (Инструкция по применению - см. приложение 2).

**Цель.** Исследование и оценка генотоксического и тератогенного воздействия ирунина на *Drosophila melanogaster*.

В этой работе продолжают исследования негативного воздействия на живые организмы противогрибкового средства для внутреннего применения.

**Задачи.** 1. Постановка эксперимента по методике, предложенной Г.А. Нечаевой и Е.И. Федоросом.

2. Учет и статистическая обработка экспериментальных данных:

а). Влияние ирунина на гибель куколок плодовой мушки;

б). Частота морфозов у дрозофилы под влиянием ирунина.

3. Формулировка выводов о действии ирунина на живые организмы.

**Объект исследования** – плодовая мушка *Drosophila melanogaster* (линия *Canton-S*).

**Предмет исследования** – воздействие ирунина на живые организмы (в данном случае на *Drosophila melanogaster*).

Основное **противоречие**, которое наблюдалось в процессе работы, это то, что теоретически, в контрольных вариантах с чистой питательной средой не должно быть ни куколочной гибели, ни морфозов, но как показала практика исследований, некоторые нарушения в развитии дрозофилы все же наблюдались. (Причины этого неясны!)

Кроме этого, сам факт негативного воздействия на организм лекарственного препарата уже является противоречием, т.к. лекарство, по определению, не должно оказывать негативное воздействие. (Но это противоречие характерно не только для исследуемого ирунина, но и для большинства других лекарственных препаратов).

Исследования были сопряжены с **определенными трудностями**: во-первых, получение чистой культуры *Drosophila melanogaster* одной линии;

во-вторых, работа усложнялась тем, что весь исследуемый материал трудно рассмотреть невооруженным глазом; в-третьих, не было плоскодонных пробирок необходимого диаметра (3-4 см), поэтому пришлось пользоваться обыкновенными пробирками из школьной лаборатории.

С помощью методики, предложенной **Г.А. Нечаевой и Е.И. Федоросом** «Экология в экспериментах. 10-11 классы» М.,- **ИЦ Вентана-Граф, 2007г.**, можно оценить действие любых неопасных для здоровья исследователя химических веществ. Воздействуя на ранние стадии жизненного цикла мух, использовались лечебные дозы препарата (лечебные дозы, как правило, указаны в инструкции к медицинскому препарату).

Работа выполнялась в школьной лаборатории. Объект исследования относительно доступный (можно использовать любые линии дрозофилы – *Canton-S* или *Canton-Ts*). Из специального оборудования потребовались термостат, бинокляр (или обычный микроскоп). Методы сбора количественных данных достаточно простые – подсчет и статистическая обработка по методике Г.А. Нечаевой и Е.И. Федороса.

Данное пособие предлагает разнообразные и доступные методики изучения природных объектов, дополнено словарем терминов и содержит систему вопросов и заданий, что позволяет использовать книгу как самоучитель.

Большую помощь в постановке опытов оказали брошюры **Ващука И.А.** «Разработка эксперимента для школьников по экологической генетике с использованием *Drosophila melanogaster*», 2002г. и **Ватти К.Ф., Тихомирова М.М.** «Руководство к практическим занятиям по генетике», 1989г. В них подробно указаны рекомендации по подбору инвентаря, методов содержания и работы с дрозофилой. Все рекомендации о манипуляциях с дрозофилой даются в доступной форме. Кроме этого, обращается особое внимание на неудачи в постановке опытов. При этом рассматриваются возможные причины и методы их устранения.

Учитывая, что работа проводилась с использованием ирунина, поэтому были необходимы некоторые сведения о данном лекарственном препарате. Эти сведения были взяты из двухтомника **Машковского М.Д.** «Лекарственные средства» Т. 2., 2003г.

Для проведения исследований генотоксического и тератогенного эффекта ирунина предварительно была изучена монография **Маневича Э.Я.** «Тератогенное действие некоторых лекарственных препаратов//Фармакология. Токсикология», 1996г, материалы которой помогли правильно понять и оценить воздействие изучаемого лекарственного препарата на примере гризеофульвина, находящегося в одной фармакологической группе с ирунином.

Для правильного понимания и обсуждения результатов лабораторных исследований с последующими выводами был использован теоретический материал из учебных пособий **Андрианова Н.С.** «Экология насекомых:

курс лекций», 1970г. и Бей-Биенко Г.Я. «Общая энтомология», 1971г. Здесь представлены теоретические основы классической энтомологии, без элементарных знаний которой нельзя заниматься экспериментальной работой в этом направлении.

## I. Основная часть

### 1. Постановка эксперимента

Дрозофила – довольно изученный объект, на ней поставлено множество экспериментов. По ряду особенностей она является удобным объектом для исследования. Так, дрозофила имеет небольшой срок развития от яйца до взрослой мухи (10 дней при  $t^{025C}$ ), высокую плодовитость, большое количество наследственных рас и мутаций, обнаруженных в ее культурах в лабораторных условиях. Кроме того, малое число хромосом ( $2n = 8$ ) делают ее незаменимым объектом для учебных исследований в области экологической генетики [3].

**Оборудование:** культура *Drosophila melanogaster*, 16 емкостей, фильтровальная бумага, инвентарь для работы с живыми мухами (баночки и пробирки, вата, марля, эфир, морилка, пенопласт и воронка, молочно-белое стекло, препаровальные иглы), микроскоп или лупа высокого разрешения, посуда для приготовления питательной среды, этикетки, маркеры.

**Культура дрозофилы** была взята в лаборатории Смоленской Государственной медицинской академии. Там же были получены дополнительные практические рекомендации по обращению с дрозофилой и постановке опытов.

Для содержания мух использована питательная среда, смазанная дрожжевой суспензией. (*Методику приготовления питательной среды см. в приложении 3*).

В этой среде достаточно жизненно важных веществ для полноценного развития.

**\*\*\*Примечание.** Для временного содержания вылетевших имаго можно использовать агаро-сахарозную среду, в которой личинки не развиваются.

(*См. приложение 4*)

#### а). Получение яиц *Drosophila melanogaster*

1. На дно 2-х емкостей с 10 парами взрослых особей (по 5 пар в каждой) были помещены на 4 суток кусочки фильтровальной бумаги, на которую мухи отложили яйца.

**\*\*\*Примечание.** Кладка яиц лучше всего происходит на питательную среду с хорошо проросшими дрожжами, т.е. спустя 1-2 суток после ее приготовления [7].

2. Затем под микроскопом были отсчитаны четыре раза по 400 яиц (четыре варианта опыта в четырехкратной повторности).

#### б). Заложение контрольных и опытных вариантов эксперимента

1. Для закладки контрольного варианта в 4-х повторностях были взяты 4 кусочка фильтровальной бумаги (на каждом по 100 яиц) и размещены в 4-х пробирках с питательной средой без добавления ирунина.

2. Кроме этого, были заложены 3 опытных варианта (с добавлением ирунина в концентрациях 4г/л, 8г/л и 12г/л) в 4-х повторностях каждый. Для этого 4 кусочка бумаги (на каждом по 100 яиц) были размещены в 4-х пробирках с питательной средой, в которую был добавлен ирунин в концентрации 4г/л. Следующие 400 яиц были разложены в пробирки со средой, включающей ирунин в концентрации 8г/л. Также был заложен и последний вариант, но с концентрацией ирунина 12г/л.

Контрольные и опытные образцы содержались при  $t^{025C}$ .

**\*\*\*Примечание.** В эксперименте использовалась лекарственная форма ирунина (производство ОАО «Верофарм», г. Москва, Барабанный пер., дом 3. Регистрационный номер Р NOO 1638/01 от 30.05.2012 г). При оценке зависимости «доза – эффект» ирунин добавлялся в питательную среду на весь период личиночного развития в разных концентрациях. В качестве контроля использовались личинки, выращенные на среде без ирунина.

## 2. Учет и статистическая обработка экспериментальных данных

### а). Генотоксическое воздействие ирунина на *Drosophila melanogaster*

На первом этапе статистической обработки экспериментальных данных был произведен учет плодовитости дрозофил. Для этого была подсчитана доля вылетевших имаго по отношению к числу яиц (в процентах).

**\*\*\*Примечание.** Плодовитость одной особи – до 200 яиц, но в первые 1,5 - 2 суток после появления самки обычно не откладывают яиц или откладывают их очень мало [4].

Результаты подсчета занесены в таблицу №1.

#### Количество вылетевших имаго *Drosophila melanogaster*

Вариант опыта	Количество имаго (шт.)				Σ	Кол-во яиц	Плодовитость в %
	I	II	III	IV			
Контроль	87	93	91	83	354	400	88,5
Опыт 1 4г/л ИР	59	52	57	64	232	400	58
Опыт 2 8г/л ИР	47	43	45	39	174	400	43,5
Опыт3 12г/л ИР	42	36	39	40	157	400	39

ИР – ирунин

I – IV - четыре повторности каждого варианта

Σ – суммарное количество

**\*\*\*Примечание.** Учет вылетевших имаго в каждой повторности производился каждый день по мере вылета, который начался на 11 день инкубации.

**Вывод.** 1. Как показали исследования, плодовитость дрозофил находится в прямой зависимости от концентрации лекарственного препарата ирунина в питательной среде.

2. 100-процентное появление личинок не произошло и в контрольных пробах, следовательно, по каким-то неизвестным причинам часть яиц была не жизнеспособной. Но, не смотря на это, наибольший процент вылетевших имаго по отношению к числу яиц наблюдается именно в контрольном варианте с чистой питательной средой.

(См. график №1 и диаграмму №1 в приложении 5)

Далее по количеству неразвившихся куколок был произведен учет куколочной гибели. Для этого были подсчитаны погибшие куколки (они темные) и вычислена их доля (в процентах) по отношению к общему числу куколок. Общее число равно сумме погибших куколок и пустых шкурок (пупариев), оставшихся после вылета имаго.

**\*\*\*Примечание.** Учет погибших куколок производился по окончании лёта.

Статистическая обработка данных по куколочной гибели произведена на основании критерия Стьюдента на уровне значимости  $q=0,05$ .

Результаты исследований влияния ирунина на куколочную гибель дрозофилы представлены в таблице №2.

**Влияние ирунина на куколочную гибель *Drosophila melanogaster***

Вариант опыта	Кол-во погибших куколок (шт.)				$\Sigma$	$\bar{X}$	Куколочная гибель $\bar{X} \pm S\bar{X}$	$t_c$	$t_T$
	I	II	III	IV					
Контроль	13	7	9	17	46	11,5	$11,5 \pm 7,2$	–	–
Опыт 1 4г/л ИР	41	48	43	36	168	42,0	$4,2 \pm 8,1$	2,93	2,8
Опыт 2 8г/л ИР	53	57	55	61	226	56,5	$56,5 \pm 5,6$	4,7	2,8
Опыт 3 12г/л ИР	58	64	61	60	243	60,7	$60,7 \pm 4,2$	5,2	2,8

ИР – ирунин

I – IV - четыре повторности каждого варианта

$\Sigma$  – суммарное количество

$\bar{X} \pm S\bar{X}$  - среднее арифметическое значение измеряемой величины и погрешность средней величины (граница доверительного интервала)

$t_c$  - найденный критерий Стьюдента

$t_T$  – теоретический критерий Стьюдента

**Выводы.** 1. В опытных вариантах наблюдается достоверное повышение частоты куколочной гибели у дрозофилы по сравнению с контролем.

2. Увеличение дозы лекарственного препарата во всех опытных вариантах достоверно повышает процент гибели дрозофил на стадии куколки.

(См. график №2 и диаграмму №2 в приложении б)

3. Полученные в результате исследования данные указывают на генотоксическое влияние ирунина на *Drosophila melanogaster*.

**\*\*\*Примечание.** Впервые подобное генотоксическое влияние противогрибкового средства гризеофульвина было показано еще в 50-х годах прошлого столетия не только на мухах, но и на грибах, некоторых представителях высших растений, млекопитающих. По-видимому, ирунин, также как и гризеофульвин, нарушает у насекомых процессы митоза, дифференцировки, вызывает дефекты различных органов, что приводит к гибели куколок [5].

**б). Тератогенное воздействие ирунина на *Drosophila melanogaster***

Следующим этапом работы был учет тератогенного эффекта ирунина (в процентах). Для этого с помощью микроскопа были подсчитаны насекомые, имеющие морфозы глаз, и соотнесены с общим числом вылетевших имаго. Затем подсчитаны насекомые с морфозами крыльев и тоже соотнесены с общим числом взрослых особей.

Статистическая обработка данных по морфозам глаз и крыльев была, также как и куколочная гибель, проведена на основании критерия Стьюдента при уровне значимости  $q=0,05$ .

Результаты исследований морфозов глаз занесены в таблицу №3

**Влияние ирунина на морфозы глаз *Drosophila melanogaster***

Вариант опыта	Общее количество имаго	Количество особей с морфозами глаз (шт.)	Количество особей с морфозами глаз (в %)	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	$t_c$	$t_r$
Контроль	354	8	2,3	$2 \pm 3,1$	-	-
Опыт 1 4г/л ИР	232	98	42,2	$24,5 \pm 6,2$	3,3	2,8
Опыт 2 8г/л ИР	174	112	64,4	$28 \pm 5,6$	4,1	2,8
Опыт3 12г/л ИР	157	138	87,9	$34,5 \pm 6,4$	8,8	2,8

$\bar{X} \pm S\bar{X}$  - среднее арифметическое значение измеряемой величины и погрешность средней величины (граница доверительного интервала)

$t_c$  - найденный критерий Стьюдента

$t_r$  – теоретический критерий Стьюдента

**ИР** – ирунин

**Выводы.** 1. Исследования показали, что лекарственный препарат ирунин вызывает у плодовой мушки аномалии сетчатки глаза, связанные либо с исчезновением различного количества фасеток, либо с полной редукцией глаза.

(На основании фактических количественных данных морфозов глаз построены *график №3 и гистограмма №1, см. приложение 7*)

2. Небольшое количество случаев морфозов глаз наблюдалось и в контрольных пробах, что, по-видимому, связано с воздействием какого-то неучтенного фактора. Но увеличение морфозов от 2,3% (контроль) до 87,9% (опыт 3) указывает на несомненное тератогенное воздействие ирунина на *Drosophila melanogaster*. Кроме этого, можно предположить, что ирунин существенным образом усиливает негативное воздействие и неучтенного в эксперименте фактора, который вызывает незначительные морфозы в контрольных пробах даже в отсутствие лекарственного препарата.

Одновременно с подсчетом количества особей с морфозами глаз был проведен учет морфозов крыльев у *Drosophila melanogaster*. Методика учета и статистическая обработка результатов точно такая же, как и при исследовании морфозов глаз.

Результаты исследования и статистической обработки морфозов крыльев занесены в таблицу №4.

**Влияние ирунина на морфозы крыльев *Drosophila melanogaster***

Вариант опыта	Общее количество имаго	Количество особей с морфозами крыльев (шт.)	Количество особей с морфозами крыльев (в %)	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	$t_c$	$t_T$
Контроль	354	3	0,8	$0,8 \pm 1,29$	-	-
Опыт 1 4г/л ИР	232	64	27,6	$18 \pm 6,1$	2,9	2,8
Опыт 2 8г/л ИР	174	87	50	$21,8 \pm 4,2$	4,8	2,8
Опыт3 12г/л ИР	157	105	66,9	$26,3 \pm 9,2$	3,0	2,8

**ИР** – ирунин

$\bar{X} \pm S\bar{X}$  - среднее арифметическое значение измеряемой величины и погрешность средней величины (граница доверительного интервала)

$t_c$  - найденный критерий Стьюдента

$t_T$  – теоретический критерий Стьюдента

**Выводы.** 1. Под действием лекарственного препарата ирунина у *Drosophila melanogaster* произошли морфозы крыльев. При этом наблюдается усиление морфизма крыльев с увеличением концентрации лекарственного вещества. (То же самое происходило и с морфизмом глаз).

2. Морфозы крыльев наблюдались несколько реже, чем морфозы глаз.

3. По неизвестным причинам у трех особей в контрольных пробах также возникли аномалии крыльев, наблюдаемые как утрата некоторых секторов.

(График №4 и гистограмма №2 в приложении 8)

\*\*\*Примечание. В результате исследования морфизма глаз и крыльев у *Drosophila melanogaster* была замечена некоторая особенность: с увеличением концентрации лекарственного препарата ирунина с 4г/л до 12г/л произошло увеличение количества аномалий как глаз, так и крыльев в опытных пробах примерно на одинаковое количество особей (40 особей с аномалиями глаз против 41 особи с аномалиями крыльев).

**Морфозы глаз** Опыт 1 (4г/л) – 98 особей

Опыт 2 (12г/л) – 138 особей

(разница 40 особей)

**Морфозы крыльев** Опыт 1 (4г/л) – 64 особи

Опыт 2 (12г/л) – 105 особей

(разница 41 особь)

Как можно объяснить подобный результат? Или это «чистое совпадение», или, может быть, определенная закономерность... Чтобы на это ответить, конечно, необходимо было бы повторить опыты, причем неоднократно. Этого не было проведено, поэтому говорить о закономерности, по-видимому, не совсем корректно.

### 3. Обобщение и выводы по результатам экспериментальной работы

Как показали исследования, ирунин оказывает негативное воздействие на мух *Drosophila melanogaster*. Результаты исследования влияния ирунина на развитие дрозофил представлены в таблицах (см. текст работы), на графиках, диаграммах и гистограммах (см. приложения). Проведя статистическую обработку полученных данных по частоте морфозов и куколочной гибели на основании критерия Стьюдента, были сделаны следующие выводы:

1. Данные куколочной гибели подтверждают генотоксическое влияние ирунина на живой организм. Следовательно, ирунин, также как и гризеофульвин (см. примечание на стр.9), может нарушать процессы митоза и дифференцировки, вызывать дефекты различных органов, что и приводит к гибели куколок [5].

\*\*\*Примечание. Ирунин и гризеофульвин – препараты одной фармакотерапевтической группы, оказывающие сходное фармакологическое воздействие на организм [6].

2. Во всех опытных вариантах наблюдается достоверное увеличение куколочной гибели и различных морфозов по сравнению с контролем (тератогенное воздействие ирунина).

3. Частота аномалий достоверно возрастает с увеличением дозы лекарственного препарата. При этом нужно отметить, что морфозы крыльев развиваются несколько реже, чем морфозы глаз. Кроме этого, в морфозах

глаз более четко выражена разница средних значений количества пораженных особей в зависимости «доза – эффект».

4. Анализируя проявление тератогенного эффекта ирунина у *Drosophila melanogaster* и принимая во внимание показанный в фармакологическом справочнике [6] мутагенный эффект этого препарата, можно с полным основанием утверждать о необходимости исключения ирунина из медицинской практики. Особенно данное заключение относится к группе повышенного риска: детям, беременным женщинам и больным, страдающим наследственными синдромами, повышающими чувствительность клеток к генотоксическому и тератогенному действию лекарственных препаратов [5]. Возможно использование ирунина только под строжайшим контролем концентрации в плазме крови и только в тех случаях, когда ожидаемый эффект терапии превышает возможный риск поражения.

5. Таким образом, **выдвинутая гипотеза о генотоксическом и тератогенном воздействии ирунина на живые организмы полностью подтвердилась.**

## Литература

1. Андрианова Н.С. **Экология насекомых: курс лекций.** – М. Изд-во МГУ, 1970.
2. Бей-Биенко Г.Я. **Общая энтомология.** – М. Высшая школа, 1971.
3. Ватти К.Ф., Тихомиров М.М. **Руководство к практическим занятиям по генетике.** – М.: Просвещение, 1979.
4. Ващук И.А. **Разработка эксперимента для школьников по экологической генетике с использованием *Drosophila melanogaster*.** – СПб. РГПУ им. А.И. Герцена, 2002.
5. Маневич Э.Я. **Тератогенное действие некоторых лекарственных препаратов//Фармакология. Токсикология.** – М.,1966.
6. Машковский М.Д. **Лекарственные средства: в 2 томах. Т. 2.** – М. : Медицина, 1997.
7. Федорос Е.И., Нечаева Г.А. **Экология в экспериментах. Учебное пособие для учащихся 10-11 классов общеобразовательных школ.** – М.: Издательский центр «Вента Граф», 2006.
8. Федорос Е.И., Нечаева Г.А. **Экология в экспериментах. Методическое пособие.** – М.: Издательский центр «Вента Граф», 2006.

# ПРИЛОЖЕНИЯ

## Приложение 1

**Дрозофилы** (лат. *Drosophila*) — плодовые мушки, род мелких насекомых семейства *Drosophilidae*, отряда *Diptera* (Двукрылые). Род насчитывает около 1500 описанных видов (предполагаемое реальное разнообразие — несколько тысяч видов). Многие виды синантропны. В природе питаются соком растений, гниющими растительными остатками. Личинки питаются также и микроорганизмами



Фото 1



Фото 2

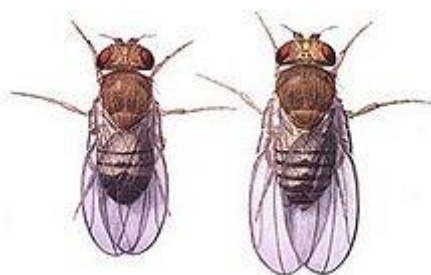


Рис. 1

Рис. 2

Фото 1, рис.1 – самец *Drosophila melanogaster*

Фото 2, рис. 2 - самка *Drosophila melanogaster*



Яйцо



Личинка

Жизненный цикл дрозофилы при 25 °С — 10 дней, при 18 °С — примерно в два раза больше. Самки откладывают в загнивающий фрукт или другой органический материал около 400 яиц (эмбрионов), каждое из которых порядка 0,5 мм в длину. Яйца раскрываются через 24 часа. Вылупившиеся личинки

растут на протяжении 5 дней, дважды линяя за это время: через 24 и 48 часов после рождения. В течение этого времени они питаются микроорганизмами, разлагающими фрукт, а также и самим сахаром из фрукта. Наконец, личинки закупориваются в пупарий и претерпевают пятидневную стадию метаморфоза, в результате которого возникают взрослые особи.

## **Ирунин**

## **Приложение 2**

**Латинское название** Irunin

**Состав и форма выпуска**

1 капсула содержит итраконазола 0,1 г; в контурной ячейковой упаковке 10 или 15 шт., в картонной пачке 1 упаковка.

**Фармакологическое действие**

Противогрибковое. Ингибирует синтез эргостерола клеточной мембраны грибов.

**Фармакокинетика**

Обладает высокой биодоступностью (понижается при почечно-печеночной недостаточности, СПИДе, нейтропении, после трансплантации органов).  $C_{max}$  достигается через 3-4 ч, время наступления равновесной концентрации в плазме при длительном применении - 1-2 нед. Равновесная концентрация при приеме 100 мг препарата 1 раз в сутки - 0,4 мкг/мл; при приеме 200 мг 1 раз в сутки - 1,1 мкг/мл, 200 мг 2 раза в сутки - 2 мкг/мл. Связывается с белками плазмы на 99,8%. Концентрация итраконазола в легких, почках, печени, костях, желудке, селезенке, скелетных мышцах в 2-3 раза превышает его концентрацию в плазме; в тканях, содержащих кератин, в 4 раза.

**Фармакодинамика**

Синтетическое противогрибковое средство широкого спектра действия. Производное триазола.

**Показания**

Микоз кожи, полости рта, глаз, тропический микоз; вульвовагинальный кандидомикоз; онихомикоз, вызванный дерматофитами и/или дрожжами; системный аспергиллез, кандидомикоз, криптококкоз (в т.ч. криптококковый менингит), гистоплазмоз, споротрихоз, паракокцидиомикоз, бластомикоз, отрубевидный лишай.

**Беременность и лактация**

Не рекомендуется в период беременности: установлено в экспериментальных исследованиях, что итраконазол вызывает нарушения развития плода. Достоверные клинические данные, подтверждающие безопасность применения итраконазола у человека, в данный период отсутствуют. На время лечения следует прекратить грудное вскармливание.

**Противопоказания**

Гиперчувствительность, одновременный прием внутрь терфенадина, астемизола, цизаприда, мидазолама или триазолама.

**Побочное действие**

Со стороны органов ЖКТ: диспепсия, тошнота, боль в животе, анорексия, рвота, запор, гепатит, повышение активности трансаминаз печени. Со стороны нервной системы и органов чувств: головная боль, головокружение, периферическая нейропатия. Аллергические реакции: кожный зуд, крапивница, ангионевротический отек, синдром Стивенса - Джонсона. Со стороны мочеполовой системы: дисменорея, отечный синдром, окрашивание мочи в темный цвет. Прочие: алопеция.

**Меры предосторожности**

У пациентов с нарушенным иммунитетом (СПИД, состояние после трансплантации органов, нейтропения) может потребоваться увеличение дозы. Больным циррозом печени и/или почечной недостаточностью, с повышенным содержанием трансаминаз в плазме крови, итраконазол назначают под контролем концентрации в плазме и только в тех случаях, когда ожидаемый эффект терапии превышает возможный риск поражения печени. При длительности приема более 1 мес необходим контроль функции печени. В период лечения женщинам детородного возраста рекомендуется использование контрацептивных средств

## Приложение 3

### Приготовление дрожжевой питательной среды

**Состав:** на 1 литр питательной среды – 10 г агара микробиологического, 33 г манной крупы, 33 г сухих дрожжей (или 100 г свежих) и 3 мл пропионовой кислоты.

**Способ приготовления.** 1. Агар замочить на 12 часов в 0,5 л воды. Пол-литра чистой воды довести до кипения, добавить дрожжи и манную крупу, постоянно помешивая. Кипятить 30 минут. Добавить агар и сахар. Кипятить еще 30 минут, помешивая.

2. Остужать 5-10 минут и добавить пропионовую кислоту (для дезинфекции питательной среды).

3. Разлить «кашу» с помощью воронки в подготовленную стерильную посуду (пробирки, баночки или др.), прикрыть марлей.

4. После остывания с помощью кисточки смазать поверхность среды раствором, содержащим дрожжи и сахар, - дрожжевой суспензией (взвесь дрожжей по консистенции должна напоминать молоко).

5. Готовые пробирки со средой плотно закрыть ватными пробками, а баночки марлей; излишки «каши» хранить в холодильнике. [7]

**\*\*\*Примечание.** Микробиологический агар можно приобрести в любой фирме, продающей химические реактивы; пропионовую кислоту можно не добавлять; среду можно приготовить заранее и хранить в холодильнике. [7]

## Приложение 4

### Приготовление агаро-сахарозной среды

**Состав:** на 0,5 л среды – 0,5 г агара микробиологического, 33 г сахара.

**Способ приготовления.** 1. Агар замочить на 12 часов в 0,5 л воды. Довести смесь до кипения, добавить сахар; кипятить 30 минут, помешивая.

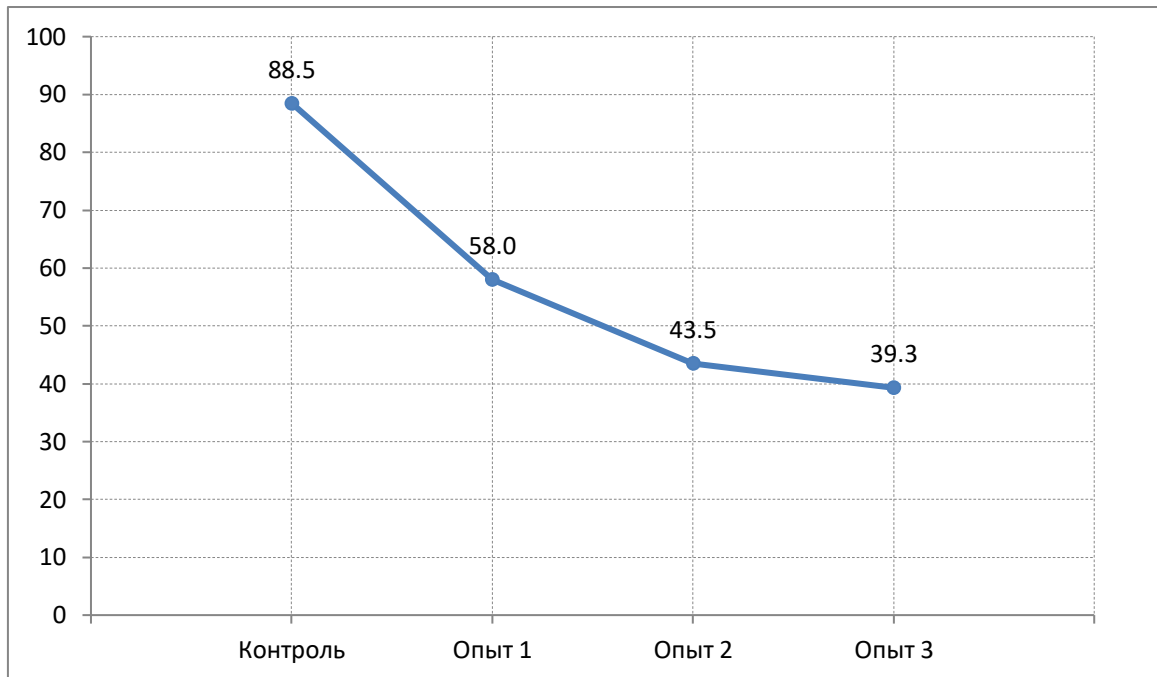
2. Остужать 5-10 минут. Разлить среду с помощью воронки в подготовленную стерильную посуду (пробирки, баночки или др.), прикрыть марлей.

3. После остывания с помощью кисточки смазать поверхность среды дрожжевой суспензией (взвесь дрожжей по консистенции должна напоминать молоко).

4. Готовые пробирки со средой плотно закрыть ватными пробками, а баночки марлей; излишки среды хранить в холодильнике. [7]

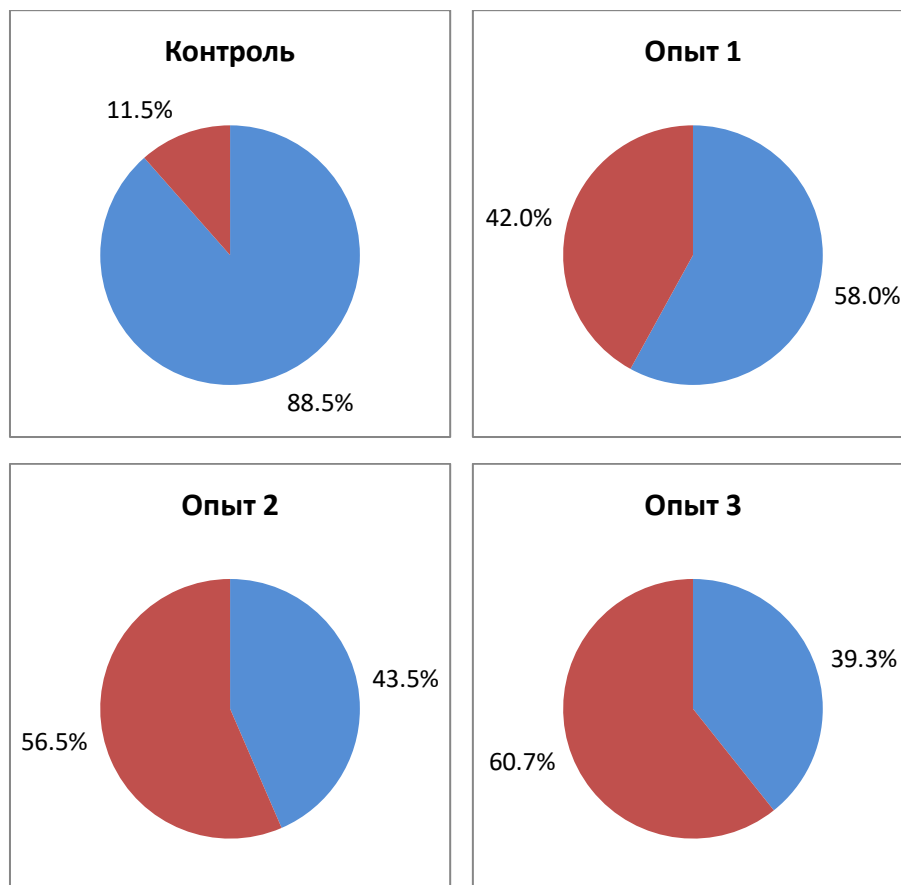
Количество вылетевших имаго по отношению к числу яиц (в %)

График №1



В каждом варианте учтены данные 4-х повторностей

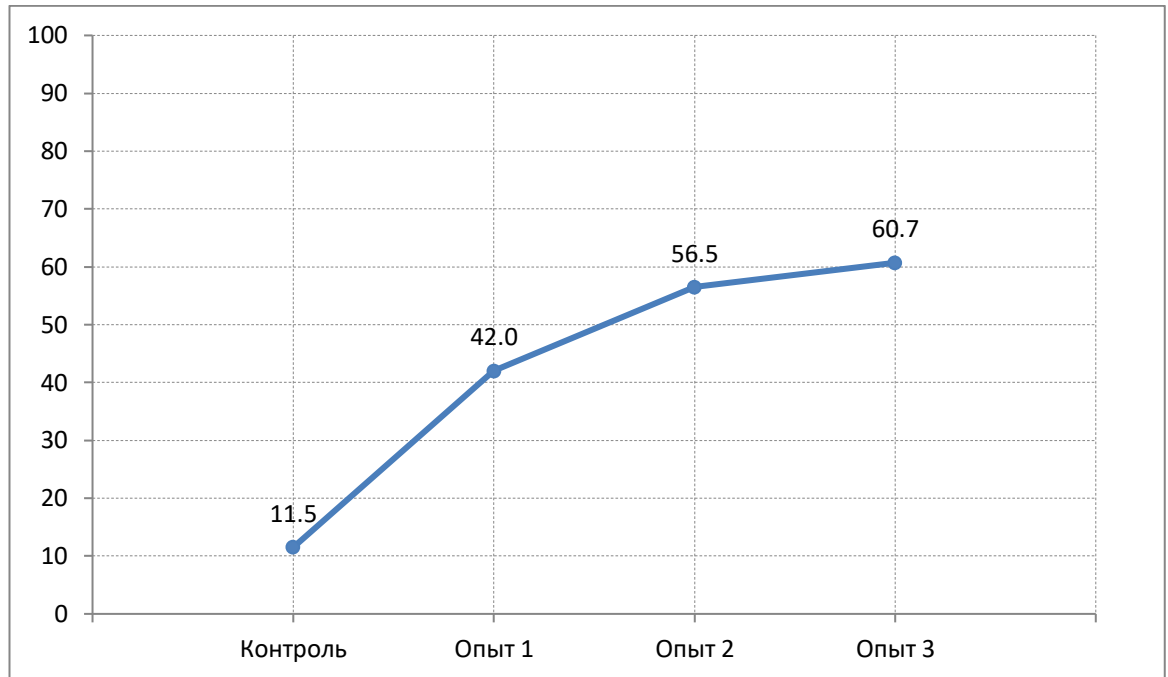
Диаграмма №2



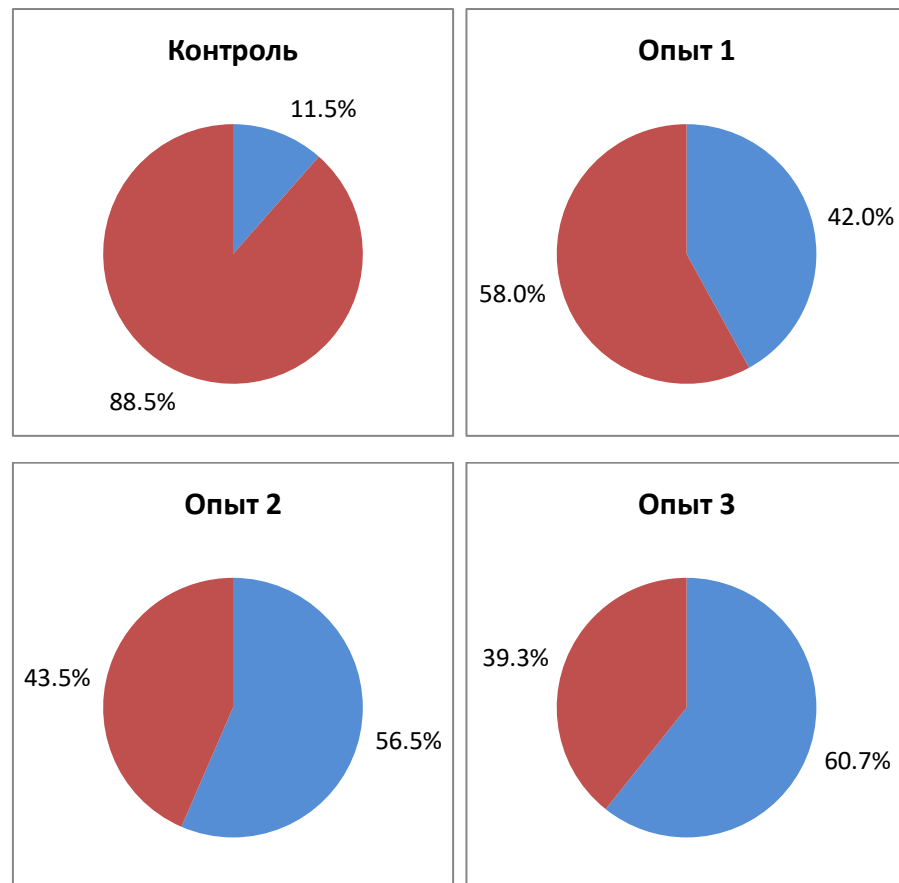
■ - количество вылетевших имаго (в %)

# Куколочная гибель дроздофил под влиянием ирунина (в %)

График №2



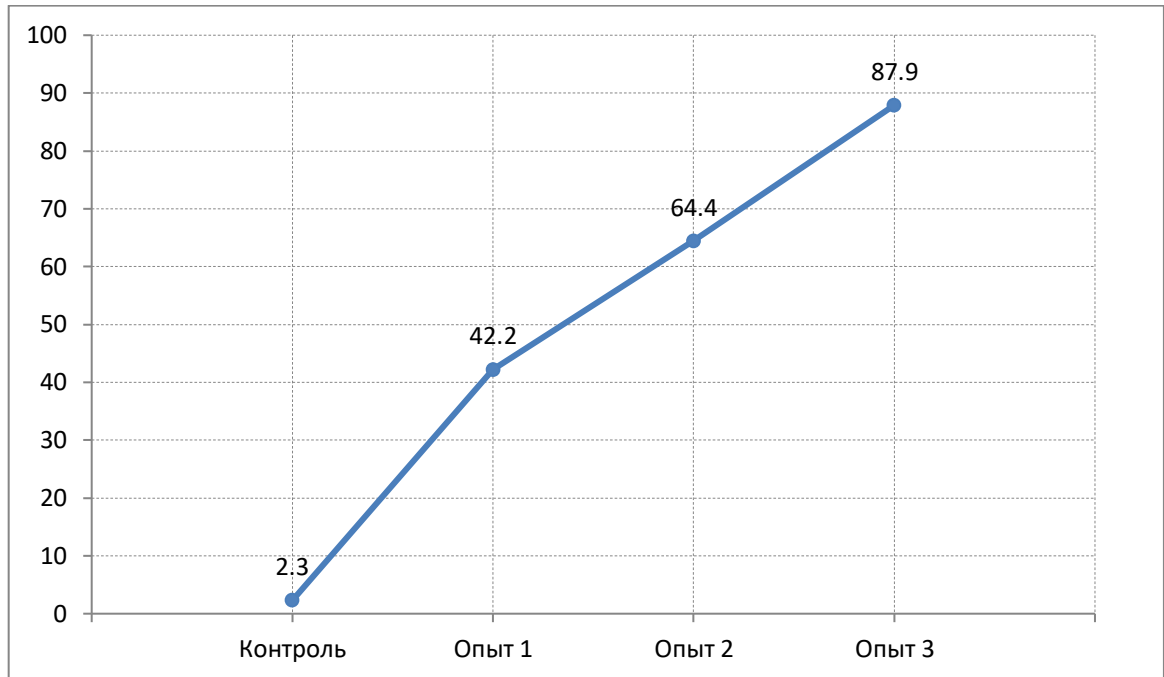
В каждом варианте учтены данные 4-х повторностей **Диаграмма №2**



■ - количество погибших куколок (в %)

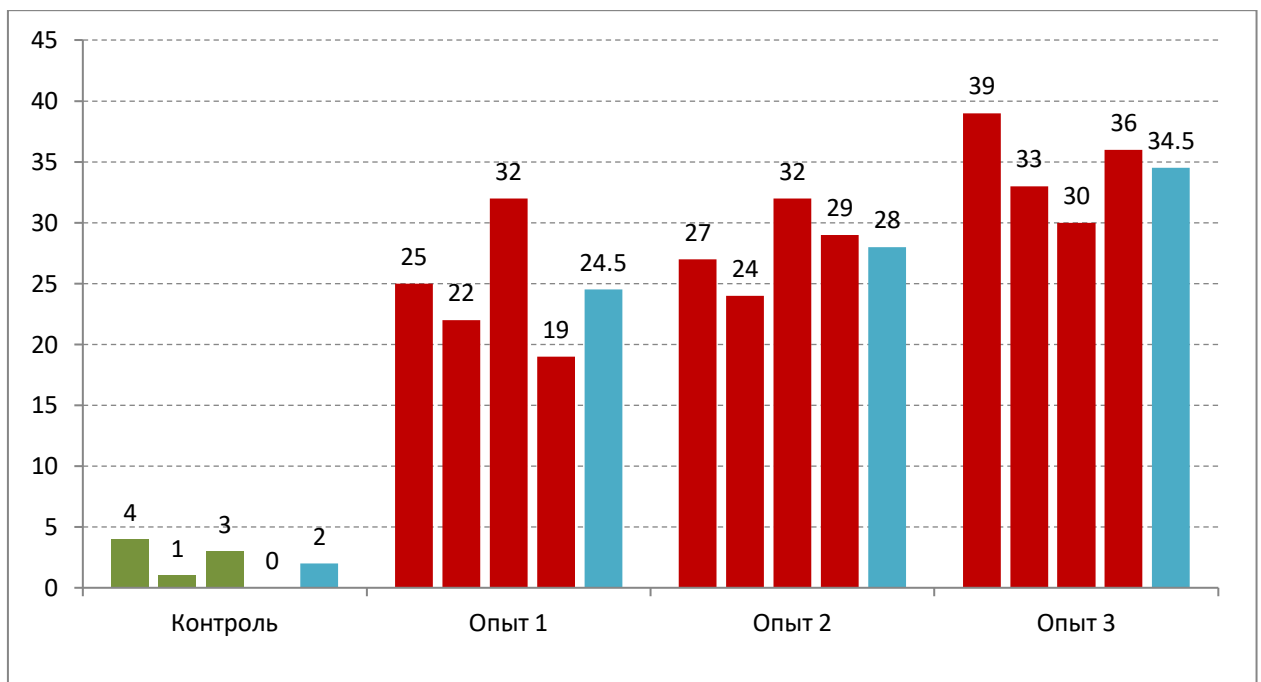
## Количество имаго дрозофил с морфозами глаз (в %)

График №3



В каждом варианте учтены данные 4-х повторностей

Гистограмма №1

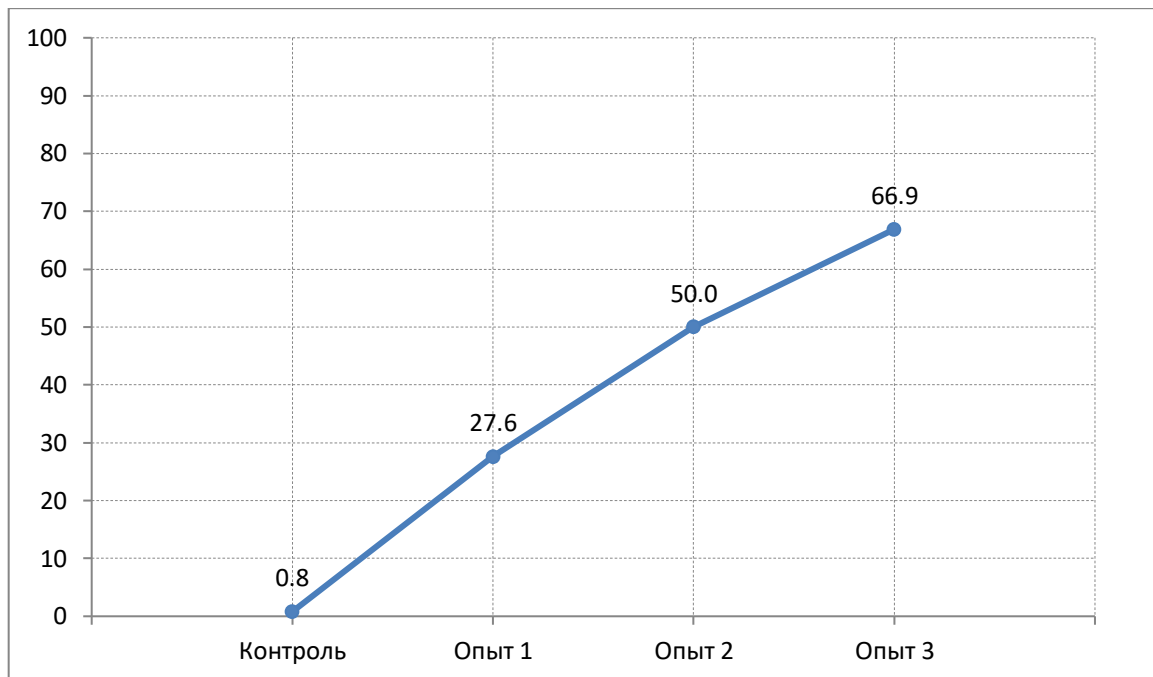


■ - средние значения количества особей с морфозами глаз в каждом варианте из 4-х повторностей

## Приложение 8

### Количество имаго дрозофил с морфозами крыльев (в %)

График №4



В каждом варианте учтены данные 4-х повторностей

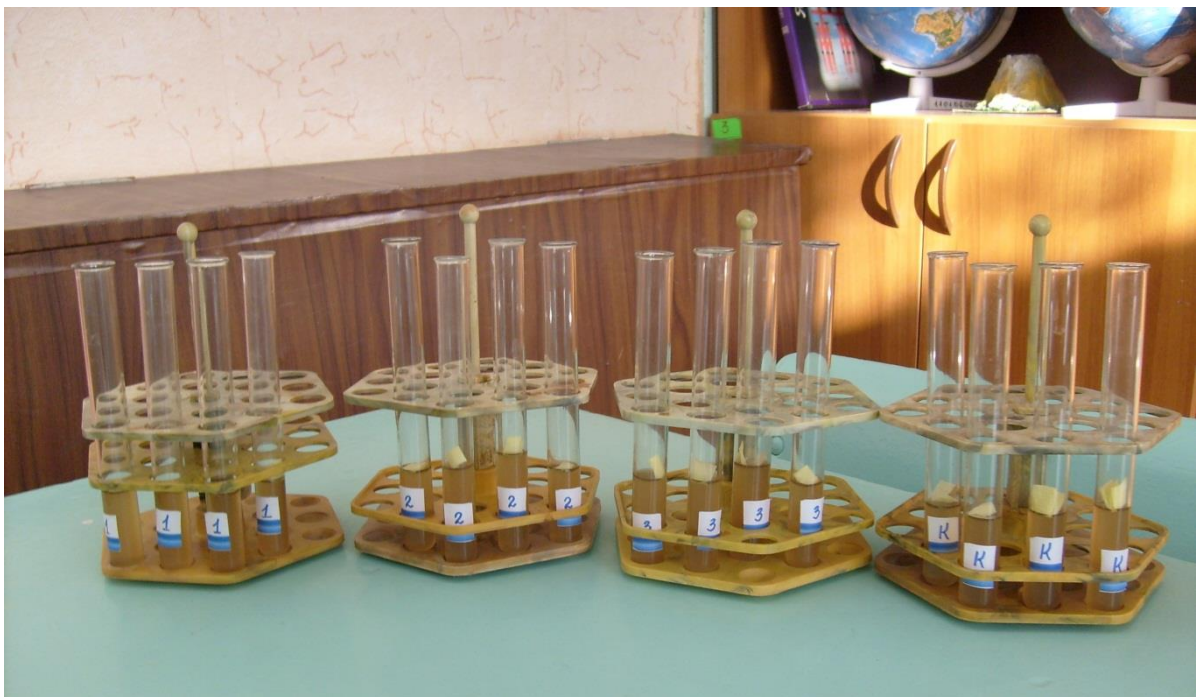
Гистограмма №2



■ - средние значения количества особей с морфозами крыльев в каждом варианте из 4-х повторностей



**Фото 1.** Питательная среда с кладкой яиц дрозофилы  
(без добавления ирунина)



**Фото 2.** Закладка контрольных и опытных образцов для получения личинок и куколок с последующим вылетом имаго.



**Фото 3.** Морилка для наркоза взрослых особей дрозофил.



**Фото 4, 5. Массовый вылет имаго.**



**Фото 6.** Имаго дрозофил после обработки эфиром.



**Фото 7.** Пупарии, оставшиеся после вылета имаго.