

Биология

УДК 575.24.581.15.581.3

В. С. ПОГОСЯН, Э. А. АГАДЖАНЯН, А. Л. АТОЯНЦ, Р. М. АРУТЮНЯН

**ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ПОЧВ С ПРИМЕНЕНИЕМ
РАСТИТЕЛЬНЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ**

С применением традесканции (клон 02) определены частота соматических рецессивных мутаций по тесту волосков тычиночных нитей (Трад ВТН) и частота образования микроядер в тетрадах микроспор по микроядерному тесту (Трад МЯ), отражающая уровень нерасхождения или повреждения хромосом в спорогенных клетках. С применением водных вытяжек сероземных и черноземных почв выявлены различия генетических реакций соматических клеток в зависимости от вида почвы и пунктов исследования.

В настоящее время в Армении снизилось содержание радионуклидов в окружающей среде, произошло их перераспределение в зависимости от почвенно-климатических и ландшафтных условий, часть их распалась. По данным Налбандяна и Ананян [1] содержание ^{90}Sr в последние годы в почвах г. Еревана снизилось примерно на 78%. Содержание ^{137}Cs уменьшилось незначительно. Это объясняется особенностями радионуклидов – ^{90}Sr в почвах находится, в основном, в подвижном состоянии, активно мигрируя и поглощаясь растениями, а радиоактивный цезий (^{137}Cs), наоборот, довольно прочно закрепляется в почвах и слабо мигрирует.

В связи с загрязнением биосферы стало актуальным комплексное изучение влияния загрязнителей на биологические объекты, особенно на растения. Для проведения генетических анализов в качестве объекта была выбрана традесканция (клон 02), которая является высокочувствительным индикатором и начиная с 70-ых годов широко используется в экспериментах по радиационно-химическому мутагенезу [2–4].

Целью настоящей работы явилось применение традесканции (клон 02) для изучения мутагенной активности почв, прилегающих к населенным пунктам Мецамор, Агавнатун, Армавир, Мргашат и Айгешат вокруг Армянской АЭС, а также из Ошакана, находящегося на расстоянии 25 км от АЭС.

Эксперименты были проведены двумя сериями. 1. Выращивание индикаторных растений непосредственно в почвах Мецамора, Агавнатуна, Армавира и Ошакана, в качестве контроля была выбрана земля оранжереи ЕГУ. 2. Обработка черенков индикаторных растений в водных вытяжках сероземных и черноземных почв Мецамора, Мргашата и Айгешата, контролем служила сероземная и черноземная земля Арзни.

В опытах первой серии определялись частота рецессивных розовых мутационных событий (РМС) и генетически неопределенных (бесцветных) событий (БМС) в волосках тычиночных нитей традесканции, а также частота образования микроядер (МЯ) в тетрадах микроспор, отражающая уровень нерасхождения или повреждения хромосом при микроспорогенезе.

Во второй серии опытов, кроме применения генетических критериев для соматических клеток традесканции (РМС и БМС), анализировались и некоторые морфологические изменения: образование карликовых волосков и изменение числа тычинок в цветках.

При анализе генотоксичности в раскрывшихся цветках традесканции учитывались мутационные сектора в тычиночных волосках. Для выявления микроядер в тетрадах микроспор цветочные бутоны фиксировались в ацеталкоголе (1:3) и готовились временные препараты, окрашенные ацетокармином. С использованием теста Трад ВТН расчеты РМС и БМС велись в среднем на 1000 волосков [5], а при применении теста Трад МЯ проводился подсчет микроядер в тетрадах микроспор в среднем на 100 тетрад по стандартной методике [6].

Для каждой пробы анализировали 34–35 тыс. волосков тычиночных нитей и 6 тыс. тетрад с микроядрами. Статистическая обработка результатов экспериментов проводилась по общепринятой методике [7].

Данные, полученные в первой серии опытов, показали, что в волосках тычиночных нитей традесканций, растущих в почвах Мецамора, Агавнатуна, Армавира и Ошакана, происходят изменения частоты образования соматических мутаций в зависимости от пункта исследования. Повышение ее уровня отмечается начиная с пункта Мецамор, где частота как РМС, так и БМС превосходит спонтанный уровень в 2,04 раза. Наивысший уровень РМС отмечается в пробах почвы Агавнатуна ($1,92 \pm 0,33$), а БМС – Ошакана ($12,56 \pm 0,85$), где частота мутаций превосходит уровень контроля в 3,2 раза (табл. 1). В почвах указанных четырех пунктов общая частота РМС превышает спонтанный уровень в 2,2–4,6 раза, а частота БМС – в 1,7–3,2 раза. Наименьший уровень РМС выявлен в пробах почвы Ошакана, а БМС – Армавира ($p < 0,001$).

Таблица 1

Генотоксичность почв населенных пунктов

Пункты взятия почвы	РМС, 1000±m	БМС, 1000±m	Тетрады с МЯ, %±m	МЯ в тетрадах, %±m
Мецамор	$1,20 \pm 0,26^{***}$	$8,03 \pm 0,67^{***}$	$15,87 \pm 0,67^{***}$	$26,90 \pm 0,81^{***}$
Агавнатун	$1,92 \pm 0,33^{***}$	$8,13 \pm 0,68^{***}$	$15,13 \pm 0,65^{***}$	$24,20 \pm 0,78^{***}$
Армавир	$1,44 \pm 0,28^{**}$	$6,64 \pm 0,62^{***}$	$14,72 \pm 0,65^{***}$	$21,80 \pm 0,75^{***}$
Ошакан	$0,92 \pm 0,23$	$12,56 \pm 0,85^{***}$	$32,0 \pm 0,85^{***}$	$61,0 \pm 0,89^{***}$
контроль	$0,41 \pm 0,16$	$3,93 \pm 0,48$	$9,8 \pm 0,54$	$13,4 \pm 0,62$

*** – $p < 0,001$, ** – $p < 0,01$.

Интересно, что аналогичная зависимость отмечается не только в соматических, но и в спорогенных клетках традесканции – в тетрадах микроспор. В данном случае при применении теста Трад МЯ частота образования тетрад с МЯ превышает спонтанный уровень в 1,5–3,2 раза, а при подсчете МЯ в

тетрадах количество их превосходит спонтанный уровень в 1,6–4,5 раза. Надо отметить, что наивысшая частота образования МЯ в тетрадах и появления БМС выявлена в пробах почвы Ошакана (табл.1).

С применением статистической компьютерной программы ANOVA обнаружена достоверная корреляция между частотой образования МЯ в тетрадах традесканции, отражающей уровень нерасхождения или повреждения хромосом при микроспорогенезе, и частотой БМС.

Таблица 2

Генотоксичность водных вытяжек почв населенных пунктов

Пункты взятия почвы	Вид почвы	Число изуча- емых волос- ков	Генетические изменения на 1000±m		Морфологические изменения на 1000±m	
			РМС	БМС	кол-во карликовых волосков	кол-во цветков с измененным числом тычинок
Мецамор	серозем	5478	1,09±0,49	9,13±1,28	12,96±1,52	0,55±0,31
	чернозем	9621	0,42±0,21	11,54±1,09	7,38±0,87	1,25±0,36
Мргашат	серозем	7891	1,65±0,46***	5,58±0,84***	6,72±0,91	0,89±0,33
	чернозем	4067	1,23±0,55	20,16±2,20***	2,25±0,74	1,25±0,55
Айгешат	серозем	7777	1,29±0,41*	36,13±0,19***	3,60±0,62	0,51±0,25
	чернозем	7917	0,25±0,18	27,40±1,83***	1,85±0,48	0,13±0,12
контроль	серозем	7190	0,55±0,28	73,57±3,08***	1,95±0,16	0,42±0,24
	чернозем	5950	0,17±0,17	10,75±1,34	1,35±0,51	0,84±0,40

*** – p<0,001, * – p<0,05.

Опыты второй серии (водные вытяжки почв) выявили существенные отличия частот мутаций в соматических клетках в зависимости как от вида почв, так и от пунктов исследования (табл. 2). В данной серии повышение РМС отмечается в сероземных почвах всех изучаемых пунктов. Указанная закономерность имеет место и у контрольного варианта (Арзни). Однако наивысший уровень РМС, превышающий уровень контроля в 3 раза, выявили в сероземных почвах Мргашата. Далее идет серозем Айгешата, где частота РМС превосходит контрольный уровень в 2,35 раза, достигая 1,29±0,41. Во второй серии опытов высокой активностью БМС выделяются сероземные и черноземные почвы Айгешата, а также черноземные почвы Мргашата.

Надо отметить, что во второй серии опытов помимо генетических изменений были отмечены и морфологические аномалии. Наиболее часто образуются карликовые тычиночные волоски, содержащие всего от 2 до 10 клеток, а также происходит изменение числа тычинок (вместо 6 тычинок формируются 3, 4 или 5) (табл. 2). Интересно, что частота появления карликовых тычиночных волосков у растений, обработанных в водных вытяжках сероземных почв, повышается во всех взятых пунктах, однако заметное изменение числа тычинок обнаружено только в водных вытяжках черноземных почв Мецамора, Мргашата и Арзни, а в пробах Айгешата – в сероземных почвах.

Таким образом, с применением высокочувствительных тест-систем традесканции (клон 02) выявлена зависимость генотоксичности изучаемых образцов почвы от ее вида и местонахождения. Показано, что среди применяемых тестов наиболее результативными оказались тесты по выявлению

рецессивных генетических мутаций и образованию микроядер в тетрадах микроспор. Указанные тесты могут применяться для оценки генотоксичности загрязнения окружающей среды.

Работа выполнена в рамках проекта МНТЦ, Грант N А-773

*Лаборатория общей биологии,
подгруппа генетики и цитологии*

Поступила 22.04.2005

ЛИТЕРАТУРА

1. Налбандян А.Г., Ананян В.Л. – Материалы II республиканской молодежной научной конференции. Армения, 2001, с. 73–78.
2. Sparrow A.H., Underbrink A.G., Rossi H.H. – Science, 1972, v. 176, № 4037, p. 916–918.
3. Underbrink A.G., Schaierer L.A., Sparrow A.H. – Plenum Press, 1973, v. 3, № 9, p. 171–207.
4. Sparrow A.H., Schaierer L.A., Villalobos-Pictrini R. – Mutat. Res., 1974, v. 26, № 4, p. 265–269.
5. Ma T.H., Cabrera G.L., Cebulka-Wasilewska A., Chen R., Loarca F., Vandenberg A.L., Salamone M.E. – Mutat. Res., 1994, v. 310, p. 211–220.
6. Ma T.H., Cabrera G.L., Chen R., Gill B.C., Sandhu S.S., Vandenberg A.L., Salamone M.F. – Mutat. Res., 1994, v. 310, p. 221–230.
7. Гроссман С., Тернер Дж. Математика для биологов. М.: Высшая школа, 1983, с.383.

Վ. Ս. ՊՈԳՈՍՅԱՆ, Է. Ա. ԱԳԱԶՅԱՆ, Ա. Լ. ԱԹՅԱՆՑ, Ռ. Մ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ
ՀՈՂԵՐԻ ԳԵՆՈՏՈՔՍԻԿՈՒԹՅԱՆ ԲԱՅԱՀԱՅՏՈՒՄԸ ԲՈՒՍԱԿԱՆ
ՏԵՍՏ-ՀԱՍՏԱԿԱՐԳԵՐԻ ԿԻՐԱՈՍԱՄԲ

Ամփոփում

Տրադեսկանցիայի 02 կլոնի կիրառմամբ ուսումնասիրվել է սոմատիկ ռեցեսիվ մուտացիաների և միկրոսպորների տետրադներում միկրոկորիզների առաջացման հաճախականությունը Մեծամոր, Աղավնատուն, Օշական, Մրգաշատ և Այգեշատ գյուղերի բնակելի տարածքներից վերցված հողերում:

Գորշահողերի և սևահողերի ջրային քաշվածքի կիրառումով պարզվել է, որ գենետիկական փոփոխությունների տարբերությունները կախված են ինչպես հողերի տեսակներից, այնպես էլ նրանց գտնվելու վայրից:

V. S. POGHOSYAN, E. A. AGHADJANYAN, A. L. ATOYANTS, R. M. HARUTUNYAN

THE REVELATION OF SOIL GENOTOXICITY USING THE PLANT ASSAYS

Summary

Using the 02 clone of Tradescantia the frequency of emergence of somatic recessive mutations in stamen hair and micronucleus in tetrads was revealed in soils taken from dwelling areas of Metsamor, Aghavnatun, Armavir, Oshakan, Mrgashat and Ajgeshat villages.

The investigations of water extract of grey and black soils was revealed, that heterogeneity of genetic changes depends on the types of soils and the research areas.