

## Оценка уровня генотоксичности в экологическом мониторинге

© 2010. В.Н. Чупис<sup>1</sup>, д.ф.-м.н., директор, Н.В. Емельянова<sup>1</sup>, к.б.н., начальник отдела, Е.А. Танайлова<sup>1</sup>, к.б.н., с.н.с., Н.В. Полухина<sup>1</sup>, к.б.н., зам. начальника отдела, Т.А. Шингаренко<sup>2</sup>, директор, О.М. Плотникова<sup>2</sup>, к.б.н., научный руководитель,  
<sup>1</sup>Государственный научно-исследовательский институт промышленной экологии,  
<sup>2</sup>Региональный центр по обеспечению государственного экологического контроля и мониторинга объектов по хранению и уничтожению химического оружия по Курганской области,  
e-mail: vit@sar-ecoinst.org

Приведены результаты исследования уровня генотоксичности почвогрунтов в районе бывшего захоронения химического оружия в Удмуртской Республике. Для оценки загрязнения почвогрунта использованы методы учета хромосомных aberrаций, изменения ядрышковой активности в меристематических клетках растительных тест-объектов и токсиколого-гигиенические исследования на лабораторных мышах.

The article presents the results of investigating the level of ground gene-toxicity in the area of the former chemical weapons storage in the Udmurt republic. To evaluate the ground pollution level we used methods of chromosome aberration counting, nucleolus activity changes in the meristematic cells of tested plants and toxicity-hygiene experiments on laboratory mice.

Ключевые слова: цитогенетический анализ, ядрышковый тест, хромосомные aberrации, токсиколого-гигиенический анализ

Key words: cytogenetic analysis, nucleolus test, chromosome aberrations, toxicity-hygiene analysis

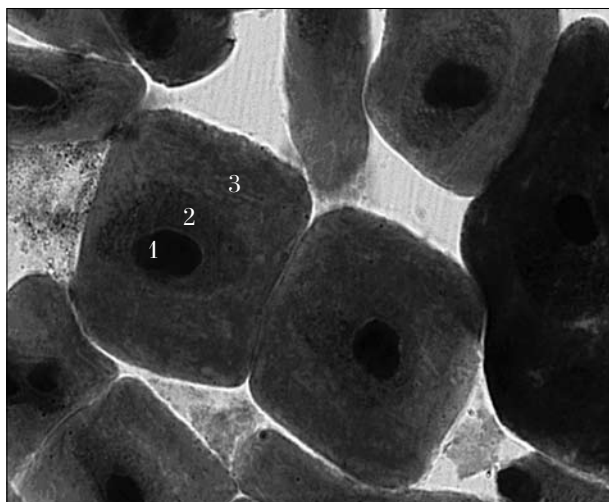
В последние десятилетия актуальнейшей проблемой остается оценка последствий антропогенного воздействия на окружающую среду, в частности при хранении и уничтожении химического оружия. В современных условиях глобального загрязнения биосферы техногенными продуктами, несущими в себе опасность воздействия на генетический аппарат живых существ, особый интерес представляет слежение за интегральными эффектами мутагенов и выявление влияния малых доз загрязнителей [1, 2].

Для целей биоиндикации мутагенного фона территорий в качестве тест-объектов достаточно часто используют растения [3, 4], что объясняется их прикрепленным образом жизни, благодаря чему они постоянно подвергаются действию как глобально, так и локально распространенных загрязнителей [5, 6]. Одним из наиболее информативных и высокочувствительных методов оценки экологического состояния природной среды является цитогенетический анализ, основанный на регистрации хромосомных aberrаций и изменении количества ядрышек [7, 8].

В связи с тем что процессы хранения и уничтожения химического оружия сопряжены

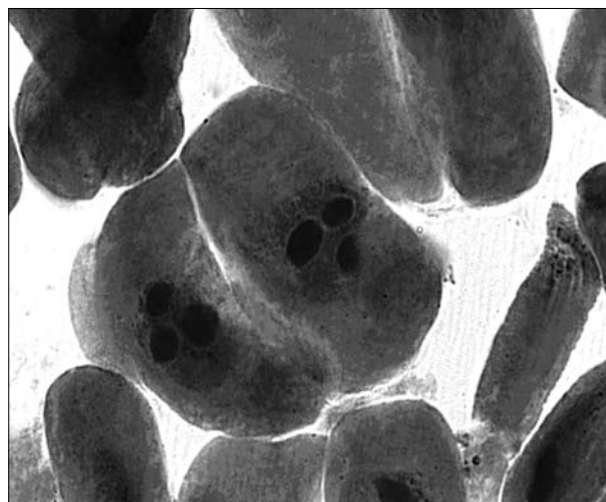
с потенциальной опасностью воздействия высокотоксичных соединений, а необходимость оценки последствий этого влияния очевидна [9, 10], в 2009 г. были проведены исследования по изучению уровня генотоксичности среды в районе бывшего захоронения химического оружия в Удмуртской Республике.

Цель настоящего исследования состояла в оценке загрязнения почвогрунта на основе изменения ядрышковой активности и учета хромосомных aberrаций в меристематических клетках растительных тест-объектов. Для этого проводился анализ апикальной меристемы проростков ячменя по методикам, прошедшим государственную аттестацию в отделе биологических исследований ФГУ ГосНИИЭНП. Математическая обработка результатов осуществлялась с использованием приложения Microsoft Excel. Для определения степени достоверности различий применялся t-критерий Стьюдента, различия считали достоверными при  $p \leq 0,05$ . При оценке результатов исследований применяли эколого-токсикологические показатели и критерии отнесения отходов к классам опасности согласно Приложению 7 к «Санитарным правилам по определению класса



1 – ядрышко; 2 – ядро; 3 – цитоплазма

**Рис. 1.** Одно ядрышко в апикальной меристеме корней ячменя (контроль)



**Рис. 2.** Три ядрышка в апикальной меристеме корней ячменя (проба)

опасности токсичных отходов производства и потребления»: чрезвычайно опасные (1 класс), высокоопасные (2 класс), умеренноопасные (3 класс), малоопасные (4 класс).

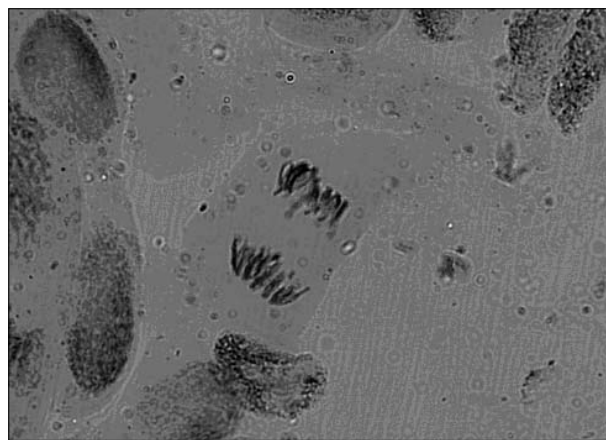
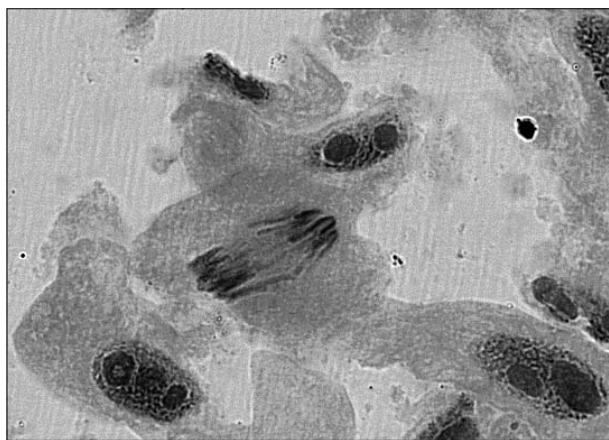
При исследовании контрольной пробы почвогрунта отмечено, что среднее число ядрышек в клетках апикальной меристемы корней ячменя составляло 1,3 (рис. 1). Анализ проб, полученных с шести исследуемых площадок (№ 1, 2, 4, 12, 13, 15), показал существенное увеличение среднего количества ядрышек в меристематических клетках. При исследовании проб с площадки № 16 и вдоль границы исследуемой территории подобной тенденции не выявлено.

Полученные результаты являются следствием увеличения ядрышковой активности, выражающейся в процентном увеличении клеток, содержащих 2, 3, 4 и более ядрышек (рис. 2). При исследовании временных пре-

паратов было отмечено, что максимальное их количество равнялось 6, в то время как при анализе препаратов контрольной пробы в большинстве клеток диапазон варьирования данного показателя составил от 1 до 2.

Основным критерием генотоксичности является увеличение количества ядрышек в клетках корней проростков ячменя по сравнению с контролем на 20% и более. При анализе результатов (табл. 1) отмечено, что на площадках № 1, 2, 4, 12, 13, 15 выявляется высокий процент отклонения от контроля (73,9 – 88,5%). Подобные данные свидетельствуют о значительном уровне цитогенетических аномалий и развитии патологического состояния у тест-растения при воздействии на него исследуемых проб почвогрунтов.

Пробы, взятые с модельной площадки № 16 и вдоль границы изучаемой территории, показали отклонение от контроля менее 20%, что



**Рис. 3.** Хромосомные aberrации в апикальной меристеме корней ячменя (проба)

Результаты ядрышкового теста, метода учета хромосомных aberrаций и токсиколого-гигиенических исследований

Площадка	Ядрышковый тест, % отклонения от контроля	Метод учета хромосомных aberrаций, % отклонения от контроля	Токсиколого-гигиенические исследования, % отклонения от контроля	Класс опасности
1	78,5	9,3	31-45	2
2	73,9	31,3	31-45	2
4	88,5	26,7	31-45	2
12	86,6	23,6	31-45	2
13	82,2	82,2	31-45	2
15	83,7	21,9	31-45	2
16	менее 10	28,5	31-45	2
Вдоль границы территории	менее 10	менее 2	менее 20%	4

является показателем отсутствия генотоксического эффекта.

Параллельно с ядрышковым тестом проводился и метод учёта хромосомных aberrаций. В процессе проведённых исследований отмечались отставания, образование фрагментов и мостов – результат повреждения хромосом на разных стадиях клеточного цикла [5] (рис 3).

Анализ изучаемых проб показал наличие генотоксического эффекта, проявляющегося в увеличении процентного содержания aberrантных клеток. Процент отклонения при этом превышал 2% и в некоторых случаях (площадка № 12) достигал 28%. Выявлена положительная корреляция между данными, полученными с использованием двух упомянутых методик, коэффициент корреляции при этом составил 0,5-0,8. Однако следует отметить, что проба с площадки № 16, показавшей отсутствие токсичности с применением ядрышкового теста, вызвала хромосомные aberrации используемого тест-объекта.

Результаты ядрышкового теста и метода учета хромосомных aberrаций были подтверждены токсиколого-гигиеническими исследованиями, проведёнными на лабораторных мышах (РЦ СГЭЖиМ по Курганской области). При проведении острого токсикологического эксперимента использовали разведения, вызывающие токсический эффект при пероральном введении животным.

В ходе хронических опытов регистрировались клинические признаки отравления, сроки гибели, макроморфологические изменения в органах при вскрытии погибших животных. При воздействии проб, взятых с площадок № 1, 2, 4, 12, 13, 15, в том числе и с площадки

№ 16, процент отклонения от нормы варьировался в пределах 31–45%. При исследовании проб вдоль границы изучаемой территории отмечено, что отклонение от контроля не превышало 20%.

Таким образом, отмечена положительная корреляция между данными, полученными с использованием ядрышкового теста, метода учета хромосомных aberrаций, и результатами токсиколого-гигиенических исследований. На основании анализа полученных данных большинству рассмотренных проб с модельных площадок присвоен 2 класс опасности – высокоопасные. Исключение составляют пробы с границы исследуемой территории, которым присвоен 4 класс опасности, что согласно эколого-гигиеническим показателям и критериям определяется как малоопасный для здоровья человека.

Из изложенного выше следует, что данные оценки генотоксичности с применением ядрышкового теста, метода учета хромосомных aberrаций на апикальной меристеме корней проростков ячменя свидетельствуют о том, что количество ядрышек в клетках меристемы проростков, выращенных на пробах, превышает контрольную более чем на 70%, а количество aberrантных клеток – более 80%. Это является показателем значительного генотоксичного влияния токсикантов на растительные тест-объекты и свидетельствует о высоком уровне цитогенетических аномалий в анализируемых пробах.

## Литература

1. Крупская Л.Т., Саксин Б.Г., Бондаренко Е.И., Ершов М.А., Бабурин А.А. Биоиндикация загрязнения

экосистем в зоне влияния золотодобычи на юге Дальнего Востока // «Исследовано в России» (электронный журнал).

2. Шкодич П.Е., Желтобрюхов В.Ф., Клаучек В.В. Эколого-гигиенические аспекты проблемы уничтожения химического оружия. Волгоград: Изд-во Волгоградского гос. унив., 2004. 236 с.

3. Калдыбаев Б.К. Эколого-генетическая оценка последствий загрязнения агроценозов восточной части зоны земледелия Иссык-Кульской области: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. 1983. 20 с.

4. Калаев В.Н., Карпова С.С. Цитогенетический мониторинг: методы оценки загрязнения окружающей среды и состояния генетического аппарата организма. Воронеж. 2004. 80 с.

5. Гарипова Р.Ф., Калиева А.Ж. Цитогенетический анализ в мониторинге почв при техногенном загрязнении микроэлементами // Вестник ОГУ. 2009. № 4. С. 94–97.

6. Найденова Л.С., Епринцев С.А., Попов В.Н. Проведение цитогенетического мониторинга в г. Воронеже, используя древесные породы деревьев на

примере берёзы повислой // Вестник ВГУ. Серия Химия. Биология. Фармацев. 2008. № 1. С. 115–122.

7. Хакунов М.Р. Необходимость применения биологических методов при анализе загрязнений окружающей среды // Экологические проблемы современности: Докл. Семинара. Майкоп. 2009. (электронный документ).

8. Федорова А.И., Калаев В.Н., Плахотина А.Ю. Биоиндикация мутагенного эффекта радона с использованием ядрышкового теста в клетках корней традесканции // Вестник ВГУ. Серия Химия. Биология. Фармацев. 2004. № 2. С. 151–156.

9. Гармонов С.Ю., Евгеньев М.И., Зыкова И.Е. Перспективные методы оценки генетически детерминированной химической чувствительности организма человека // Химическая и биологическая безопасность. 2003. № 11-12. С. 3–16.

10. Котегов Б.Г., Капитонова О.А., Холмогорова Н.В. Биологический мониторинг в зоне влияния Камбарского завода по уничтожению химического оружия: опыт организации и реализации. Ижевск: Изд-во Удмуртского университета. 2009. 212 с.