



ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ И ГЕНЕТИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ФАКТОРЫ СРЕДЫ

© Н. В. Реутова,
П. М. Джамбетова

Государственный
университет
им. Х. М. Бербекова,
Нальчик

✿ Для выявления мутагенного влияния различных загрязнителей на окружающую среду предлагается использовать одуванчик лекарственный (*T. officinale* Wigg. s. l.). Этот повсеместно распространенный вид является удобным объектом для генетического мониторинга. Он проявил высокую чувствительность к различным типам загрязнений (тяжелые металлы, продукты горения и переработки нефти) и является удобным, простым в работе и недорогим объектом. Для определения влияния окружающей среды рекомендуется использовать анафазно-телофазный метод анализа митотических аномалий в кончиках корней проростков семян.

✿ **Ключевые слова:**
бенз(а)пирен; мутации;
продукты переработки нефти;
растения; тяжелые металлы

ОДУВАНЧИК ЛЕКАРСТВЕННЫЙ (*TARAXACUM OFFICINALE* WIGG. S.L.) КАК УДОБНЫЙ ОБЪЕКТ ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ЗАГРЯЗНЕНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

ВВЕДЕНИЕ

Загрязнение окружающей среды промышленными предприятиями разного профиля — одна из наиболее острых проблем современности. Если токсическое влияние отходов предприятий, как правило, достаточно очевидно и легко выявляется, то скрытое генетическое влияние определить трудно. Для этого требуется использование специальных тест-систем, которые зачастую являются весьма дорогостоящими, сложными и трудоемкими в использовании, требующими высококвалифицированного персонала.

Для выявления генетического влияния промышленных предприятий очень удобными объектами являются дикорастущие растения. Результаты, полученные с их использованием, хорошо согласуются с данными, полученными на других объектах [1,3].

В данной работе был использован повсеместно распространенный вид *T. officinale* для выявления мутагенного влияния как неорганических (тяжелые металлы), так и органических (продукты переработки и горения нефти) загрязнителей окружающей среды. Данный вид предлагается использовать для первого этапа скрининга возможного генетического влияния загрязнителей окружающей среды.

МЕТОДИКА

Для определения мутагенного влияния промышленных предприятий на окружающую среду можно использовать семена *T. officinale*. Семена собирают с растений, произрастающих в загрязненной зоне. Данный вид является многолетником, поэтому подвергается влиянию загрязнителей в течение достаточно длительного времени. В качестве контроля используют семена растений из чистой зоны, соответствующей по своим геоклиматическим характеристикам зоне загрязнения.

В нашей работе при изучении влияния горно-обогатительного комбината мы использовали семена растений, произрастающих на отвалах комбината. В качестве чистой зоны были выбраны участки, расположенные на 15–20 км вверх по ущелью, соответствующие по своим характеристикам зоне отвалов.

При определении влияния гидро-металлургического завода (ГМЗ) семена собирали с растений, произрастающих на территории отстойника предприятия, в который сбрасываются жидкие отходы завода в виде пульпы. В качестве контроля использовали семена растений, произрастающих в курортной зоне города.

В случае исследования влияния продуктов кустарной переработки и горения нефти семена растений собирали в окрестностях населенных пунктов, где в течение ряда лет производилась кустарная переработка нефти. Семена собирали на расстоянии примерно 100 м от установок по переработке не-

фти. На этих же участках были взяты и образцы почв для анализа. В качестве чистой зоны был выбран населенный пункт (Гойты), где подобного производства не было. Все населенные пункты расположены в одной природно-климатической зоне [1].

Во всех случаях собирали семена не менее чем с 30 растений, на каждом растении брали по одному соцветию, на одно соцветие приходится 70–100 семян, и эти семена перемешивали. Затем семена проращивали в чашках Петри на фильтровальной бумаге в водопроводной воде, в термостате при 26 °С до появления корешков длиной 5–6 мм. Корешки фиксировали в спирт-уксусной (3:1) смеси не менее 2-х часов. В фиксаторе проростки можно хранить в течение 1–2 недель в холодильнике или при комнатной температуре. Проростки окрашивали ацетокармином на водяной бане в течение 10–12 минут и готовили временные давленные препараты по общепринятой методике [2]. Уровень мутаций определяли с использованием анафазно-телофазного метода. Фрагменты, появляющиеся между разошедшимися к полюсам хромосомами, являются результатом либо делеций, либо отставших хромосом. «Мосты» появляются в результате формирования дицентриков.

Для статистической обработки использовали преобразование Фишера для сравнения долей [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В почвах изучаемых районов, в которых собирали семена с растений, был определен уровень загрязнения. В таблице 1 приведены данные по содержанию ряда

тяжелых металлов в хемоземе отвалов горно-обогатительного комбината (ГОК) и в чистой зоне. Почва загрязненной зоны отличается повышенным содержанием всех металлов. Особенно много молибдена [3]. Следует отметить, что рН водной вытяжки из хемозема имела щелочную реакцию — (рН=10).

Данные по уровню мутаций у проростков из семян растений, собранных на отвалах ГОК и на территории отстойника гидро-металлургического завода (ГМЗ) приведены в таблице 2. Спонтанный уровень мутаций у данного вида достаточно высок. Уровень хромосомных aberrаций у проростков семян растений, собранных с отвалов ГОК, в 4,85 раза превышает таковой у проростков из чистой зоны. Меньшее превышение наблюдается у проростков с территории отстойника гидро-металлургического завода. В данном случае уровень хромосомных aberrаций повышен в 1,6 раза. Мы полагаем, что это связано с меньшим содержанием молибдена в жидких стоках завода (10 мг/л) по сравнению с его содержанием в хемоземе отвалов, который также формируется за счет жидких стоков ГОК. Следовательно, в данном случае наблюдается дозозависимый эффект.

Данные по типам мутаций приведены в таблице 3. Преобладающим типом хромосомных aberrаций у всех изученных растений были фрагменты, которые являются результатом делеций или могут представлять собой отставшие хромосомы. «Мосты», которые возникают вследствие появления дицентриков или из-за того, что один кинетохор прикреплен микротрубочками одновременно к двум противоположным полюсам веретена деления [5], встречались в небольших количествах. Дикорастущие растения мы также использовали для генетического мониторинга и

Таблица 1

Содержание тяжелых металлов в почвах отвалов

Вариант	Содержание тяжелых металлов (мг/кг)					
	Mo	Pb	Cu	Zn	Bi	Sn
Отвалы ГОК	> 40	33	37	30–60	6,5	4,5
Чистая зона	< 2	8–13,5	9,5–13	10–15	0	0

Таблица 2

Уровень мутаций у одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.s.l), произрастающего в районах расположения предприятий цветной металлургии

Вариант	Количество ана/телофаз	В том числе с хромосомными aberrациями	%	P
Чистая зона	1033	41	3,97	
Отвалы ГОК	1007	194	19,72	≤ 0,001
Чистая зона	1001	48	4,72	
Отстойник ГМЗ	1000	76	7,60	≤ 0,05

в случае загрязнения нефтепродуктами [1]. Для проведения цитогенетических исследований в окрестностях ряда населенных пунктов были также собраны семена одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg. s.l.). В таблице 4 приведены данные по загрязнению почв в районах кустарной переработки нефти.

ПДК по бенз(а)пирену составляет 0,02 мг/кг. Несмотря на то, что населенный пункт Гойты выбран в качестве условно чистой зоны, в почвах данного населенного пункта содержание бенз(а)пирена превышает ПДК. Поскольку кустарная переработка нефти здесь не производилась, загрязнение, по-видимому, связано с переносом продуктов неполного сгорания нефти воздушными массами.

В таблице 5 приведены данные по уровню хромосомных aberrаций у растений из зоны нефтезагрязнений.

Основным типом нарушений были фрагменты, но также с достаточно большой частотой (4,1 %) появлялись «мосты», являющиеся результатом сложных хромосомных перестроек, чего не наблюдалось в случае воздействия предприятий, связанных с добычей и переработкой цветных металлов. В случае влияния нефтезагрязнений также наблюдается хорошая дозовая зависимость уровня aberrаций хромосом от уровня загрязнения.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Растения уже давно были предложены для первого этапа скрининга мутагенов окружающей среды [6-8]. Среди всего разнообразия растительных тест-систем

Таблица 3

Типы хромосомных aberrаций у одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.s.l), произрастающего в районах расположения предприятий цветной металлургии

Вариант	Количество ана/телофаз	Количество фрагментов	%	P	Количество «мостов»	%	P
Чистая зона	1033	34	3,23		7	0,61	
Отвалы ГОК	1007	152	15,03	≤ 0,001	42	4,11	≤ 0,001
Чистая зона	1001	45	4,46		3	0,32	
Отстойник ГМЗ	1000	67	6,70	≤ 0,05	9	0,90	≤ 0,05

Таблица 4

Содержание поллютантов в почвах ряда населенных пунктов Чеченской республики

Места отбора почв	Содержание бенз(а)пирена (мг/кг)	Углеводороды (%)	Нефтепродукты (%)
Гойты (у.ч.з.)	0,03	0,03	0,02
Цоцан-Юрт	0,06	0,86	0,73
Гельдеген	0,14	0,63	0,52
Мескер-Юрт	0,15	1,17	1,10
Алхан-Юрт	0,26	1,48	1,48
Долинск	1,83	1,72	1,56

У.ч.з. — условночистая зона

Таблица 5

Уровень хромосомных aberrаций у *T. officinale* в условиях загрязнения почв продуктами переработки нефти

Место сбора растений	Всего анафаз	В т.ч. с мутациями	%	P	«Мосты»	%	P	Фрагменты	%	P
Гойты (у.ч.з.)	1056	24	2,27		5	0,48		19	1,78	
Цоцан-Юрт	1007	96	9,53	< 0,001	23	2,28	< 0,001	73	7,25	< 0,001
Гельдеген	1050	114	10,85	< 0,001	30	2,85	< 0,001	84	8,00	< 0,001
Мескер-Юрт	1012	104	10,28	< 0,001	25	2,47	< 0,001	79	7,81	< 0,001
Алхан-Юрт	1026	121	11,70	< 0,001	33	3,22	< 0,001	88	8,58	< 0,001
Долинск	1044	126	12,07	< 0,001	35	3,35	< 0,001	91	8,72	< 0,001

все-таки наиболее удобными для генетического мониторинга являются виды дикорастущей флоры. Среди них следует найти наиболее доступные, чувствительные и удобные для работы объекты. В качестве такого объекта мы и предлагаем одуванчик лекарственный (*T. officinale*).

В результате проведенных исследований по мутагенному влиянию разного типа загрязнений мы выявили высокую чувствительность этого вида как к органическим, так и к неорганическим загрязнителям. Он оказался весьма удобным объектом для исследования мутагенного влияния промышленных предприятий. *T. officinale* произрастает повсеместно, в т. ч. и в горах (в нашем случае до высоты 2000 м). Семена не имеют периода покоя, обладают высокой всхожестью, с ними можно работать как сразу после сбора, так и через достаточно большой промежуток времени (в течение 2-х лет). Корешки проростков имеют оптимальную толщину, из них легко готовить временные давленные препараты высокого качества.

Интересно отметить довольно высокий спонтанный уровень мутаций у данного вида по сравнению с другими видами растений [1]. Причем такой высокий спонтанный уровень мутаций наблюдался у растений, произрастающих в разных по высоте районах. По-видимому, это особенность данного вида.

Таким образом, *T. officinale* является очень удобным видом для генетического мониторинга объектов окружающей среды, в частности почв, для оценки их мутагенной активности.

Литература

1. Джамбетова П. М., Реутова Н. В., Ситников М. Н. Влияние нефтезагрязнений на морфологические и цитогенетические характеристики растений // Экологическая генетика. — 2005. — Т. 3., № 4. — С. 5–11.
2. Дубинина Л. Г. Структурные мутации в опытах с *Strepis capillaries* L. — М., Наука, — 1978. — С. 188

3. Реутова Н. В., Воробьева Т. И., Реутова Т. В. Некоторые подходы к оценке мутагенного влияния отходов промышленных предприятий на окружающую среду. // Генетика. — 2005. — Т. 41., № 6. — С. 753–758.
4. Урбах В. И. Математическая статистика для биологов и медиков. — М., Изд-во АН СССР. — 1963. — С. 215–217.
5. Юров И. Ю., Ворсанова С. Г., Юров Ю. Б. Соматические хромосомные мутации у человека: частота и возможные генетические последствия // Современные достижения генетических исследований: клинические аспекты. Наследственные болезни крови и генетика опухолей кроветворной системы / Под ред. Ю. В. Шатохина. Ростов-на-Дону. — ГОУ ВПО Рост ГМУ Росздрава. — 2006. — С. 79–97.
6. Constantin M. J., Owens E. T. Introduction and perspectives of plant genetic and cytogenetic assays // *Mutat. Res.* — 1982. — Vol. 99., N 1. — P. 1–12.
7. Grant W. G. Chromosome aberrations in plant as a monitoring system // *Environ. Health Persp.* — 1978. — N 27. — P. 37–43.
8. F. J. de Serres. Utilization of higher plant systems as monitor of environmental mutagens // *Environ. Health Persp.* — 1978. — N 27. — P. 3–6.

Dandelion (*Taraxacum officinale* Wigg. s.l.) is a convenient object for genetic monitoring of environmental pollution.

N. V. Reutova, P. M. Dzambetova

✪ **SUMMARY:** It is proposed to use dandelion (*Taraxacum officinale* Wigg. s.l.) for testing of mutagenic effects of environmental pollutants. This widespread species is convenient for genetic monitoring. It is sensitive to various types of pollutants (heavy metals, products of combustion and processing of oil). *T. officinale* appeared to be a convenient, simple in using and inexpensive object for genetic monitoring of environmental pollution. Anaphase-telophase method is recommended for this purpose.

✪ **KEY WORDS:** benzo(a)pyrene, heavy metals, mutations, plants, products of combustion and processing of oil