



Биолог. журн. Армении, 1 (66), 2014

## СКРИНИНГ ГЕНОТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ВОД РЕК БАССЕЙНА ОЗ. СЕВАН С ПОМОЩЬЮ РАСТИТЕЛЬНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ТРАДЕСКАНЦИИ

Э.А. АГАДЖАНЫАН<sup>1</sup>, Р.Э. АВАЛЯН<sup>1</sup>, А.Л. АТОЯНЦ<sup>1</sup>,  
А.Л. ГЕВОРКЯН<sup>1</sup>, С.Г. МИНАСЯН<sup>2</sup>, А.Э. СИМОНЯН<sup>1</sup>,  
Р.М. АРУТЮНЯН<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ЕГУ Биологический факультет кафедра генетики и цитологии,  
rouben\_a@hotmail.com

<sup>2</sup>Центр мониторинга воздействия на окружающую среду,  
Министерство охраны природы РА  
seyran\_minasyan@yahoo.com

Изучена генотоксичность водных проб оз. Севан вблизи п-ва Севан, с.Шоржа и впадающих в него рек Гаварагет и Дзкнагет с применением теста Трад-ВТН (волоски тычиночных нитей) традесканции (клон 02). Установлено достоверное повышение уровня частоты рецессивных мутационных событий (РМС) в водных пробах рек Гаварагет и Дзкнагет по сравнению с контролем и другими пробами. Выявлена высокая положительная корреляция между частотой РМС и концентрацией некоторых химических элементов в изученных водных пробах (Si, P, Al, Mn, Fe).

Полученные результаты показывают, что тест-система традесканции (клон 02) может быть использована для экотестирования загрязнения природных водоемов Армении.

*Традесканция (клон 02) – генотоксичность – рецессивные мутационные события (РМС) – загрязнение воды*

Վատարվել է Սևանա լճի ջրերի՝ թերակղզու և Շորժա գյուղից հարավ ընկած տարածքից, ինչպես նաև լիճ թափվող Գավառագետ և Չկնագետ գետերից վերցված նմուշների գենաթունաբանական ուսումնասիրություն բուսական թեստ-օբյեկտ՝ տրադեսկանցիայի (02 կլոն) կիրառմամբ: Դիտվել է տրադեսկանցիայի անէջաթելերի մագիկների ռեցեսիվ մուտացիոն դեպքերի (ՌՄԴ) հաճախականության հավաստի բարձրացում Գավառագետ, Չկնագետ գետերի ջրերի նմուշներով մշակված բույսերի մոտ համեմատած ստուգիչի և մյուս նմուշների հետ: Բացահայտվել է բարձր դրական կորելյացիա ՌՄԴ մակարդակի և որոշ քիմիական էլեմենտների (Si, P, Al, Mn, Fe) խտությունների միջև:

Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ տրադեսկանցիայի (02 կլոն) թեստ-համակարգը կարող է կիրառվել բնական ջրային ռեսուրսների աղտոտվածության էկոթեստավորման համար:

*Տրադեսկանցիա (02 կլոն) – գենաթունաբանություն – ռեցեսիվ մուտացիոն դեպքեր (ՌՄԴ) – ջրի աղտոտում*

The genotoxicity of water pollution in the Lake Sevan near Sevan peninsula and Shorja village and Gavaraget and Dzknaget rivers of its basin was investigated, with the application of Trad-SH (stamen hairs) test of Tradescantia (clone 02) was investigated.

A significant increase in the level of recessive mutation events frequency in stamen hairs treated by the water samples from Gavaraget and Dzknaget rivers as compared with the control and other studied samples was disclosed.

The high positive correlation between the RME frequency and the concentration of some chemical elements in the studied water samples (Si, P, Mn, Al, Fe) was revealed.

The obtained results show, that test of *Tradescantia* (clone 02) can be applied for ecotesting of natural water bodies' pollution.

*Tradescantia (clon 02) – recessive mutation events (RME) – genotoxicity – water pollution*

Для изучения генетических эффектов последствий комплексного действия загрязнителей на живые организмы в настоящее время актуальным является активизация экогенетических исследований как важной составляющей части экотоксикологии [2]. Особую актуальность в данных исследованиях для Армении приобретает изучение качества природных водных ресурсов, в том числе рек, впадающих в оз. Севан.

Оз. Севан представляет собой основной источник пресной воды в Армении. В нем не только сосредоточено 80% водных ресурсов страны, но оно также играет важнейшую роль с точки зрения регулирования водного баланса и хозяйственного развития всей страны.

Загрязнение русла впадающих в Севан рек (26) промышленными отбросами, бытовым мусором и отходами (ежегодно более 10 тонн токсичных веществ сбрасывается в озеро) становится важной причиной, приводящей к разрушению экосистемы бассейна оз. Севан [1].

В связи с этим возможность определения с помощью растительных тест-систем степени загрязненности природной среды экотоксикантами – это решение части проблемы контроля качества окружающей среды и сохранения биоразнообразия [3].

Целью настоящей работы явилось изучение уровня генотоксичности водных проб рек Гаварагет, Дзкнагет и оз.Севан (территории полуострова и с. Шоржа), различающихся различной степенью загрязненности химическими соединениями, с применением модельного тест-объекта традесканции (клон 02), являющегося высоко чувствительным биоиндикатором генотоксичности воздуха, воды и почвы.

**Материал и методика.** Пробы воды брали в устьях исследуемых рек и бассейна оз.Севан в весенний период.

Обработка растений традесканции водными пробами проводилась двумя методами:

- 1- обработка соцветий (бутонов) погружением их в исследуемые водные пробы,
- 2- обработка черенков традесканции с образовавшимися цветочными бутонами.

При проведении 1-й серии опытов соцветия (бутоны) помещали в водные пробы в течение 18 ч (12/6 – дневной/ночной цикл в часах). Опыт проводили в условиях теплицы ЕГУ. Во второй серии опытов черенки с цветочными бутонами помещали в стеклянные стаканы с пробами на 24 ч (18/6 – цикл при комнатной температуре). Опыт проводили в лабораторных условиях. В качестве контроля использовали дистиллированную воду.

Для применения теста Трад-ВТН соцветия сначала оставляли на 7-дневный восстановительный период, а затем проводили ежедневный учет рецессивных мутационных событий (РМС) и бесцветных мутационных событий (БМС) по общепринятой методике [3,5]. Для каждого варианта было проанализировано 18-22 тыс. волосков. В качестве основного индикаторного тест-критерия учитывалась частота появления точковых розовых рецессивных мутаций РМС в волосках тычиночных нитей традесканции (тест Трад-ВТН). Рассматривалось также появление БМС и различного рода морфологических изменений волосков – невыживших (НВ) и разветвленных (РВ). В исследуемых водных пробах определялась концентрация присутствующих в них химических веществ и тяжелых металлов. Данные за 2013 год были любезно предоставлены Центром мониторинга воздействия на окружающую среду.

Полученные результаты обрабатывали статистически с применением программы Statgraphics Plus 2.1.

Проводили корреляционный анализ между частотой мутационных изменений в ВТН и химическим составом исследуемых водных проб.

**Результаты и обсуждение.** На основании проведенного биотеста Трад-ВТН выявлено, что во всех опытных вариантах наблюдалось достоверное повышение частоты всех РМС и БМС, а также морфологических нарушений в ВТН по сравнению с контролем (табл. 1).

**Таблица 1.** Анализ генотоксичности водных проб рек бассейна оз.Севан

Варианты	Соматические мутации		Морфологические изменения	
	(РМС/1000)± m	(БМС/1000)± m	(НВ/1000)± m	(РВ/1000)± m
оз. Севан, полуостров	1,6± 0,27***	13,87±0,60 **	1,3 ± 0,24***	0,2± 0,10
с. Шоржа, берег	1,6± 0,30***	18,9± 0,90 ***	1,5 ± 0,28***	0,1± 0,10
р. Дзкнагет	1,9± 0,30***	16,8± 0,86 ***	2,1 ± 0,30***	0,7± 0,20
р.Гаварагет	2,3± 0,35 ***	16,5± 0,90 ***	1,1 ±0,24***	0,7± 0,02
контроль	0,25±0,11	12,7± 0,70	0,4 ± 0,14	–

\*- p<0.05, \*\* - p<0.01, \*\*\* - p<0.001

У всех водных проб уровень РМС превысил контроль в 6-9 раз соответственно. Наибольшая частота отмечалась в пробах из рек Дзкнагет и Гаварагет, где значение РМС составил соответственно 1,9±0,3 и 2,3 ±0,35 в сравнении с контролем – 0,25 ± 0,11. Уровень БМС во всех вариантах незначительно превышал контрольный (в 1,2-1,5 раза), особенно максимально этот эффект проявился в пробах, взятых из озера вблизи с. Шоржа.

Среди наблюдаемых морфологических нарушений в ВТН увеличение частоты встречаемости невыживших и разветвленных волосков отмечалось, в отличие от контроля, во всех опытных пробах и превысило уровень контроля в 3-5 раз. Наибольшая частота встречаемости изменений типа разветвленных волосков также наблюдалась в пробах рек Дзкнагет и Гаварагет.

Данные второй серии опытов показали, что во всех вариантах наблюдалось равнозначное повышение частоты РМС по сравнению с контролем – 5,2-5,8 раз соответственно в зависимости от водной пробы. Что касается уровня соматических мутаций типа БМС, то он был выше контроля в 1,2-1,8 раз во всех исследуемых пробах (табл. 2). Подобный эффект наблюдался также при рассмотрении морфологических нарушений типа НВ, где частота этих изменений превышала контрольный в 2,5-4 раза соответственно.

**Таблица 2.** Анализ генотоксичности водных проб рек бассейна оз.Севан (черенковым методом)

Варианты	Соматические мутации		Морфологические изменения	
	(РМС/1000)± m	(БМС/1000)± m	(НВ/1000)± m	(РВ/1000)± m
оз.Севан	0,80±0,33**	15,0±1,4***	2,0±0,50***	–
с. Шоржа, берег	0,70±0,30*	14,0±1,4***	1,4±0,40**	–
р. Дзкнагет	0,82±0,34*	18,9±1,5***	2,3±0,56***	–
р. Гаварагет	0,74±0,30**	13,4±1,4***	2,4±0,54***	–
контроль	0,14±0,14	10,5±1,2	0,6±0,30	–

\* - p<0.05, \*\* - p<0.01, \*\*\* - p<0.001

На основании проведенного нами исследования с помощью биотеста Трад-ВТН показано, что водные пробы рек Гаварагет и Дзкнагет по сравнению с контролем отличаются выраженной генотоксичностью как по уровню мутационных событий, так и морфологических нарушений в ВТН.

При выявлении уровня генотоксичности водных проб рек и территории оз.Севан полученные данные с применением двух методических подходов (обычного и черенкового) в целом показали однозначную реакцию градесканции как тест-системы.

По данным теста Трад-ВТН, проведенного методом погружения соцветий (бутонов) в исследуемые водные пробы, была отмечена достоверная высокая положительная корреляция между уровнем РМС и концентрациями в водных пробах NO<sup>-</sup>ионов и элементов – Si ( $r=0,99$ ), Al ( $r=0,98$ ), P ( $r=0,98$ ), Fe ( $r=0,96$ ), Mn ( $r=0,95$ ), а также частотой РВ и концентрациями Fe ( $r=0,95$ ), Mn ( $r=0,96$ ), и Cu ( $r=0,98$ ) (табл. 3).

**Таблица 3.** Уровни корреляции между мутационными изменениями в ВТН и химическим составом исследуемых водных проб.

Типы мутаций и изменений	Коэффициент корреляции (r)							
	Нитрат ионы мг/л	Si	Al	P	Fe	Mn	Cu	V
Соматические мутации (РМС/1000) $\pm$ m	0,95**	0,99***	0,98**	0,98**	0,96**	0,95**	0,86	0,84
Соматические мутации (БМС/1000) $\pm$ m	-0,0008	0,03	-0,06	0,22	0,07	0,05	0,13	-0,01
Морфологические изменения (РВ/1000) $\pm$ m	0,67	0,88	-0,14	0,82	0,95**	0,96**	0,98**	0,47
Морфологические изменения НВ/1000) $\pm$ m	-0,51	-0,19	-0,14	-0,18	0,03	0,05	0,27	-0,7

\* -  $p<0,05$ , \*\* -  $p<0,01$ , \*\*\* -  $p<0,001$

В то же время, по результатам данного теста, проведенного черенковым методом, достоверной положительной корреляции между мутационными изменениями в ВТН и химическим составом исследуемых водных проб не было выявлено (табл. 4).

**Таблица 4.** Уровни корреляции между мутационными изменениями в ВТН (черенковым методом) и химическим составом исследуемых водных проб

Типы мутаций и изменений	Коэффициент корреляции (r)							
	Нитрат ионы мг/л	Si	Al	P	Fe	Mn	Cu	V
Соматические мутации (РМС/1000) $\pm$ m	-0,21	0,01	0,13	-0,15	0,14	0,17	0,26	-0,37
Соматические мутации (БМС/1000) $\pm$ m	-0,4	-0,06	0,01	0,13	0,14	0,18	0,37	-0,61
Морфологические изменения (НВ/1000) $\pm$ m	0,63	0,78	0,85	0,65	0,81	0,83	0,79	0,47
Морфологические изменения (РВ/1000) $\pm$ m	-	-	-	-	-	-	-	-

\* -  $p<0,05$ , \*\* -  $p<0,01$ , \*\*\* -  $p<0,001$

Нами была проведена сравнительная оценка уровней повреждений ДНК в эритроцитах карасей, обитающих в тех же участках оз. Севан, методом ДНК-комет [4]. Выявлено достоверное повышение уровня повреждений ДНК у рыб из устьев рек Гаварагет и Дзкнагет по сравнению с рыбами из оз. Севан. Показано, что данный эффект может быть связан с повышенным содержанием некоторых элементов (Cu, Fe, Mn) в изучаемых пробах.

Таким образом, нашими исследованиями подтверждается высокая информативность применения растительной тест-системы – традесканции (клон 02) при экотестировании водных проб для оценки загрязненности природных водоемов Армении (бассейн оз. Севан).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Акопян К.А.* Антропогенная нагрузка на водные ресурсы и их безопасность. Матер. Междун.конф. РЭЦ Кавказ “Экологическая безопасность Кавказского региона, сентябрь, Тбилиси, с.126-128, 2004.
2. *Безель В.С.* Популяционная экотоксикология. М., Наука, 80с., 1994.
3. *Водяницкий Ю.Н.* Экотоксикологическая оценка опасности тяжелых металлов и металлоидов в почве. Агрехимия, 2, с.75-84, 2012.
4. *Оганесян Г.Г., Симонян А.Э., Габриелян Б.К., Минасян С.Г., Арутюнян Р.М.* Оценка повреждений ДНК в эритроцитах рыб из разных водоемов Армении методом ДНК-комет. Биолог.журн.Армении, 64, 4, с.64-70, 2012.
5. *Ma T.H., Cabrera G.L., Cebulska-Wasilewska A., Chen R., Loarea F., Vandenberg A.L., Salomone M.F.* Tradescantia stamen hair mutation bioassay. Mutat.Res., 910, 2, p.211-220, 1994.

*Поступила 27.11.2013*