

ЛИТЕРАТУРА

1. Гаспарян А. В., Изумнов В. В. *Вопр. курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры* 6, 57—60, 1985.
2. Гаспарян А. В., Мурадян Д. А. *Научн. тр., посвящ. 100-летию со дня рожд. А. А. Акопяна*. 48—54, Ереван, 1986.
3. Глуховская С. Н., Максимович К. А., Померанец М. Л., Савченко С. И. *Мат-лы итоговой научно-практ. конф. Одесского научно-иссл. ин-та курортологии*. 54—55, Одесса, 1970.
4. Маринов Н. А., Пасека И. П. *Трускавецкие минеральные воды*. 296, М., 1978.
5. Максимович К. А. *Методики микробиологического исследования лечебных минеральных вод*. Одесса, 1978.
6. Максимович К. А., Николенко С. И. *Методические рекомендации по микробиологическому исследованию лечебных минеральных вод*. Одесса, 1984.
7. Максимович К. А., Глуховская С. М., Бойко О. А. *Мат-лы научно-практ. конф. по вopr. курортологии и физиотерапии*. 171, Киев, 1967.
8. Осинцева Л. А., Тронова Т. М. *Вопросы курортологии, климатологии и изучения минеральных вод Сибири*. 115—122, Томск 1976.
9. *Состав и свойства минеральной воды «Нафтуса»*. Киев, 1978.
10. Родина Л. Г. *Методы водной микробиологии*. М.—Л., 1965.
11. Тронова Т. М. *Вопросы курортной климатологии, климатотерапии и изучения минеральных вод Сибири*. Томск, 1971.

Поступило 24.11.1989 г.

Биолге ж. Армении, № 5.(42) 1989

УДК 575.24

ИССЛЕДОВАНИЕ МУТАГЕННОСТИ ВОДЫ РЕК ГАВАРАГЕТ И АРПА

Ж. Б. БЕГЛАРИН, И. Г. БАГРАМЯН

СГБС АН АрмССР, лаборатория экспериментальной экологии, Ереван

Показана индукция генных мутаций некоторых штаммов *Salmonella typhimurium* под действием воды из рек Гаварагет и Арпа. Предполагается, что мутагенная активность воды связана с химическим загрязнением окружающей среды.

Խոյս է արձան, որ Գափառապետ և Արփա գետերի ջրերի ազդեցությունը *Salmonella typhimurium*-ի մի քանի շտամների մոտ առկա է բերուով կենսաին ռեպրոդուկտիվ ճնշողություն է. որ ջրերի մուտացիոն ակտիվությունը պայմանավորված է ջրապահ միջավայրի բիոհիսիակ աղտոտվածությամբ:

It is found out that addition of waters of the rivers Gavaraget and Arpa to some strains of *Salmonella typhimurium* causes gene mutations. It is proposed that the mutagenic activity of the waters is related with the environmental chemical pollutions.

Загрязнение окружающей среды— штаммы *Salmonella typhimurium* —мутации— биосейн оз. Севан.

Как известно, наибольшую опасность при загрязнении окружающей среды представляют соединения, обладающие мутагенным действием.

Сокращения: 2НФ—2 нитрофлуорен; НММ—нитрометилмочевина.

Целью настоящей работы являлась оценка генетических последствий загрязнения рек бассейна оз. Севан, так как загрязнение воды может привести к нежелательным генетическим последствиям. В связи с этим несомненный интерес представляет создание системы мониторинга воды, водной среды.

Для оценки мутагенной активности окружающей среды удобным объектом служит система индикаторных штаммов *Salmonella typhimurium*, разработанная Эймсом [5], которая дает возможность не только выявить мутагены окружающей среды, но и при обнаружении их судить о первичных механизмах действия, так как мутагенная активность обнаруживается путем реверсии, вызываемой лишь определенным типом мутации. Проблема исследования мутагенности воды, в частности, методом Эймса, занимает многих исследователей мира. Имеются данные, свидетельствующие о повышенной мутагенной активности воды Миссисипи [8], генотоксической активности сточных вод [7], мутагенной активности воды Дуная [4]. Из результатов последней работы следует, что мутагенность зависит от уровня воды и сезона.

Выявлена мутагенность сточных вод [1]. В некоторых странах Европы, в США и Канаде была показана генотоксичность экстрактов из питьевой воды [9]. В Японии исследованы мутагенные компоненты речных отложений [10].

Материал и методика. В работе использованы индикаторные штаммы *Salmonella typhimurium*, TA 1950, TA 1538, TA 100, TA 98 (штаммы взяты на биологическом факультете ЕрГУ в 1988 году). Эти штаммы несут мутации аукотрофности по гистидину (табл. 1).

Таблица 1. Характеристика штаммов Эймса

Штаммы	Мутация по гистидину		Дополнительные мутации		Замена пар оснований	Сдвиг рамки считывания	Наличие плазмиды
	his G-46	his D3052	rla	uvr B			
TA 1950	+	-	+	-	+	-	-
TA 1538	-	+	-	+	-	+	-
TA 98	-	+	-	-	-	+	несет плазмиду
TA 100	+	-	-	-	+	-	несет плазмиду

Среды: интрат Na—2 г, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ —42 г, KH_2PO_4 —18 г, $(NH_4)_2O_4$ —4 г на 1 л H_2O (рН 7). Для нижнего слоя использованы рыбный питательный агар и 1,5%-ный голодный агар (300 мл 2%-ного водного агара, 100 мл СР, 2 мл $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 10 мл 20%-ного раствора глюкозы). Верхний слой: 80 мл 0,7%-ного минимального агара, 10 мл 0,5 Мм L-гистидина и 10 мл 0,25 мм биотина.

Определение мутагенной активности воды методом *in vitro* проводилось следующим образом.

Штаммы, выращенные на МПБ до концентрации $2 \cdot 10^8$ кл/мл, осаждали и ресуспендировали в СР, разведенном в 4 раза. Смесь 0,25 мл индикаторной культуры и 0,1 мл испытуемой пробы инкубировали 25 мин при 37°. Суспензию высеивали на МПА для определения числа выживших клеток и на голодный агар для подсчета колоний ревертантов. Чашки с МПА инкубировали 18 ч, а с голодным агаром—48 ч при 37°. Для положительных контролей использовали 2 ПФ и НММ. Использована модификация с внесением пробы воды в слой верхнего полужидкого 0,7%-ного агара совместно с тест-культурой.

Пробы воды брали из устьевой части реки один раз в месяц.

Результаты и обсуждение. Для определения мутагенного действия воды методом *in vitro* без метаболической активации исследования проводили на штаммах *Salmonella typhimurium* TA 1950 и TA 1538. Эти штаммы несут мутации замены пар оснований и сдвиг рамки считывания. Кроме того, в геноме индикаторных штаммов введены дополнительные мутации, которые повышают их чувствительность к мутагенному действию, а именно *his*⁻—дефектность клеточной стенки и *uvrB*—отсутствие системы эксцизионной репарации (табл. 1).

Мутагенный эффект исследуемой пробы определяли путем индуцирования обратных мутаций от аукеографности по гистидину к протрофности.

Эксперименты показали, что проба воды из р. Гаварагет без метаболической активации индуцирует мутации к протрофности (*his*⁻—*his*⁺) у штаммов TA 1950 и TA 1538 (табл. 2). ИММ (для штамма 1950) и 2НФ (для штамма 1538), использованные в качестве позитивных контролей, эффективно индуцируют обратные мутации.

Таблица 2. Влияние паводковой воды р. Гаварагет (весна, 1984 г.) на количество ревертантов *Salmonella typhimurium*

Штамм TA 1950	Число ревертантов		Кратность	Число ревертантов		Кратность
	контроль	0 мин		25 мин	Кратность	
5.0 · 10 ⁶	10	400	3.0	550	3.9	
4.0 · 10 ⁶	120	370	3.0	600	5.0	
0.8 · 10 ⁶	210	501	3.3	500	4.2	
0.7 · 10 ⁶	130	363	2.8	481	3.7	
Штамм TA 1538						
3.0 · 10 ⁶	60	221	3.7	340	5.7	
2.3 · 10 ⁶	80	200	2.5	280	3.5	
2.2 · 10 ⁶	70	150	2.1	190	2.7	
3.3 · 10 ⁶	130	260	2.0	300	2.3	
2.4 · 10 ⁶	90	220	2.4	300	3.3	

Инкубация бактерий штаммов TA 1950 и TA 1538 с пробями воды в течение 25 мин вызывает заметную индукцию мутаций. Количественный тест позволил не только судить о наличии или отсутствии мутагенного эффекта, но и о кратности увеличения.

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать вывод о том, что при использовании воды рек Гаварагет и Арпа в системе *in vitro* со штаммами TA 1950, TA 1538 и TA 98 значительно повышается частота реверсий по сравнению со спонтанным уровнем от 2 до 5 раз (табл. 2).

Это указывает на то, что вода реки Гаварагет индуцирует мутации типа замены пар оснований (у штамма TA 1950) и сдвига рамки считывания (TA 1538). Вода реки Арпа индуцирует мутации только типа сдвига рамки считывания (табл. 3).

Данные табл. 3 свидетельствуют об отсутствии мутагенного эффек-

Таблица 3. Влияние нативной воды р. Арпа (осень, зима) на количество ревертантов *Salmonella typhimurium*

Штамм ТА 98 (осень)	Число ревертантов		Кратность	
	титр	контроль		опыт
0.7 10 ⁶		4	14	3.5
0.8 10 ⁶		6	16	3.0
1.1 10 ⁶		20	50	4.0
1.1 10 ⁶		10	20	2.0
Штамм ТА 100 (зима)				
1.0 10 ⁶		51	74	1.4
1.0 10 ⁶		62	96	1.5
0.1 10 ⁶		145	245	1.3
0.5 10 ⁶		115	184	1.6
0.1 10 ⁶		70	101	1.4

та изученных проб на тестерном штамме ТА 100, на это указывает почти одинаковый со спонтанным уровень выхода ревертантов.

Известно, что пестициды индуцируют мутации [2, 6]. А уровень их в воде рек Гаварагет, Арпа превышает установленные предельно допустимые концентрации [3].

Итак, можно предположить, что мутагенная активность воды этих рек зависит от степени химического загрязнения (пестициды, ядохимикаты) окружающей среды. Для предотвращения дальнейшего загрязнения хозяйством и предприятиям, сливающим отходы в реки бассейна оз. Севан, необходимо принять действенные меры.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кнабикос А., Леквичюс Р., Адоминтис Л. Биолог ж. Литвы, 4, 59—67, 1983.
2. Сайкаль П., Махор М., Эбрингер Л. XIV Ежегодн. конф. Евр. общ-ва по мутагенам внешней среды Тезисы докл. 475, 1984.
3. Салкалян Э. О., Акопян А. Г., Бунатян Ю. П. Тр. СГБС, 19, 116—119, 1984.
4. Юкнявичюс Л. К., Кнабикос А. П., Леквичюс Р. А. Тез. докл. XIV Тихоокеанск. научн. конгр. СССР, 81—82, Хабаровск, 1979.
5. Ames B. N., de F. D., Durston W. E. Proc. Natl. Acad. U.S.A., 70, 3, 781, 1973.
6. Bos R. P., Hulshof T. O., Theeuwes Z. C., Henderson P. Mutation Res., 119, 1, 21—25, 1984.
7. Brown V. W., Donnelly K. C. Bull. Environ. Contam. and Toxicol., 28, 4, 424—429, 1982.
8. Pelon W., Whitman E. F., Brasley T. W. Environm. Sci. and Technol., 11, 6, 619—623, 1977.
9. Rappic V., Latinovic M., Adamovic V. XIX Annual meeting of the European Environmental Mutagen Society, 411, 1984.
10. Sato Tarachio, Koto Kyojo Mut. Res., 2—3, 158, 1945.

Поступило 15.XI 1988 г.