



Биол. журн. Армении, 4 (61), 2009

ПРИМЕНЕНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ ТРАДЕСКАНЦИИ (КЛОН 02) И ПОЛЫНИ ГОРЬКОЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ПОЧВ И ИХ ЗАГРЯЗНЕННОСТИ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

А.Л. АТОЯНЦ¹, А.Р. СУКИАСЯН², Э.А. АГАДЖАНИЯН¹,
А.С. ВАРЖАПЕТЯН¹, Р.Э. АВАЛЯН¹, Р.М. АРУТЮНЯН³

¹ ЕГУ, биол. ф-т, лаб. общей биологии, подгруппа цитогенетики

² ГИУ Армении (Политехнический), научно-исследовательская часть

³ ЕГУ, каф. генетики и цитологии

Изучалась генотоксичность ряда образцов почв и ее связь с содержанием в них тяжелых металлов на основе применения традесканции (клон 02) и полыни горькой. У традесканции при высоком уровне загрязненности почв, особенно Zn и Mo, наблюдалось значительное повышение частоты всех изученных розовых и белых мутационных событий и микроядер. У полыни горькой не выявлено достоверной корреляции значений индекса поступления тяжелых металлов с их содержанием в соответствующих образцах почв.

Традесканция (клон 02) - полынь горькая - тяжелые металлы - мутационные события - индекс поступления

Տրադեսկանցիայի 02 կլոնի և դառը օշինդրի կիրառման հիման վրա հետազոտվել է մի շարք հողերի զենաթունաբանությունը և դրա կախվածությունը նրանցում եղած ծանր մետաղների պարունակությունից: Հողերի, հատկապես Zn-ով և Mo-ով, աղտոտվածության բարձր մակարդակի դեպքում տրադեսկանցիայի մոտ դիտվել է վարդագույն և սպիտակ մուտացիոն դեպքերի և միկրոկորիզների հաճախականության էական բարձրացում: Դառը օշինդրի մոտ ծանր մետաղների կլանման ինդեքսի տվյալների և հողերի համապատասխան նմուշներում դրանց պարունակության միջև հավաստի համապատասխանատվություն չի արձանագրվել:

Տրադեսկանցիա (02 կլոն) - դառը օշինդր - ծանր մետաղներ - մուտացիոն դեպքեր - կլանման ինդեքս

The genotoxicity of several soil samples has been studied by using plant test-systems of *Tradescantia* (clone 02) and *Wormwood*. The correlation between heavy metals concentrations in soil samples and the genotoxicity has been investigated.

In *Tradescantia*, at high levels of soil pollution, particularly with Zn and Mo, the significant increase of all analyzed pink and white mutation occurrences and micronuclei was observed. Analysis of heavy metals uptake index in Wormwood has not revealed any significant correlation in their concentration in corresponding soil samples.

Tradescantia (clone 02) – wormwood - heavy metals - mutation events - index entering

Одной из важнейших проблем экологии стало загрязнение почв тяжелыми металлами (ТМ), которые имеют свойство накапливаться и выступать в роли постоянных загрязнителей. Почва, являясь депонирующей средой, при этом выступает индикатором в экологических исследованиях. Одним из наиболее опасных и оказывающих жесткое влияние на придорожные экосистемы является автотранспортное загрязнение почв свинцом, цинком и кадмием [4]. По мере увеличения содержания ТМ в почве происходит насыщение ими растительных тканей. При высоких уровнях загрязнения почв концентрации металлов в растениях могут возрастать в десятки и сотни раз [7].

При увеличении техногенной нагрузки на окружающую среду возникает необходимость поиска тест-объектов и применения экспресс-методов для оценки уровня загрязнения ТМ. Биомониторинг загрязнения среды включает как использование растительных тест-объектов (*Tradescantia*, *Allium cepa*, *Vicia faba*), непосредственно выращиваемых в исследуемых почвах, так и региональный сбор растений-индикаторов, чувствительных к накоплению тех или иных ТМ. Комплексный анализ таких растений с применением индикаторных тест-критериев может способствовать своевременному обнаружению и прогнозу антропогенных изменений в окружающей среде.

Целью данной работы явилось изучение уровня загрязнения и генотоксичности почв ТМ с применением двух растительных тест-объектов: традесканции (*Tradescantia clone 02*), которая является биоиндикатором генотоксичности воздуха, воды и почвы, и полыни горькой *Artemisia absinthium* L., способной аккумулировать ТМ [2].

Материал и методика. Объектом исследования послужили образцы почв из четырех пунктов: 1. г. Ереван (ботанический сад); 2. с. Фонтан (недалеко от г. Раздан); 3. г. Севан; 4. г. Степанакерт (северо-восточная пригородная часть). В качестве условно-фоновой (контрольной) пункта использовалась почва теплицы ЕГУ. С исследуемых участков образцы почв были отобраны с глубины до 10 см.

Для выявления мутагенной и кластогенной активности изучаемых образцов почв нами был применен чувствительный тест-объект – гетерозиготный по окраске цветка клон 02 традесканции. Данный объект широко используется для выявления как соматических генных мутаций – рецессивных (розовых – РМС) и генетически неопределенных (белых – БМС) мутационных событий в волосках тычиночных нитей традесканции (ВТН) [8], так и для нарушений процесса микроспорогенеза в тетрадах микроспор с образованием микроядер (МЯ) [9].

С применением теста Трад-ВТН проводили исследование мутагенной активности почв исследуемых пунктов, в образцах которых непосредственно выращивали индикаторные растения. Расчеты мутационных событий (РМС и БМС) в волосках, а также некоторых морфологических изменений цветка (карликовые или невыжившие волоски, ветвление волосков, изменение числа как тычинок, так и лепестков цветка), вели в среднем на 1000 волосков [8]. Для каждой пробы анализировали 14-17 тыс. ВТН традесканции.

Для применения теста Трад-МЯ фиксировали цветочные бутоны в ацеталголе (3:1). Затем готовили временные ацетокарминовые препараты и анализировали тетрады микроспор в среднем по 100 тетрад по общепринятой методике [9]. Для каждого варианта рассматривали по 3000 тетрад.

В качестве растения-индикатора также была использована полынь горькая *□Artemisia absinthium L.□*. Сбор исследуемого материала осуществляли согласно ранее разработанной и апробированной модели по заданным критериям: незначительно нарушенная естественная флора с достаточно равномерным насыщением, известная геохимическая и геологическая изученность региона, определенное отдаление от крупных промышленных центров. Отбор образцов почвы и надземных частей растений осуществляли с учетом среднего значения измеряемых величин на единицу площади сбора [6]. В образцах растений полыни и соответствующих почв были определены концентрации некоторых ТМ (Cu, Zn, Pb, Cr, Mo, Ag) методом атомно-адсорбционной спектроскопии [1]. Для количественного сравнения поступления металлов в образцы растений и почв был использован индекс поступления:

$$C=Cp/Cn,$$

где *Cp* – концентрация металла в растении, *Cn* – концентрация металла в почве. Содержание ТМ рассчитывали в мг/кг сухого веса.

Статистическую обработку результатов экспериментов проводили по общепринятой методике. Для каждого варианта эксперимента рассчитывали выборочную среднюю и ее ошибку [3].

Результаты и обсуждение. Проведенные исследования выявили, что все изученные образцы почв вызывают достоверное повышение частоты РМС по сравнению с контрольным вариантом (табл.1). Наименьший уровень частоты РМС наблюдался в образце №3, превышающий контроль в 3,8 раза. Далее следуют образцы №1 и №4 (превышение в 4,8 и 5,6 раз соответственно). Наивысший уровень частоты мутаций показал образец №2, превышающий контроль в 7,5 раза. По всей вероятности, высокий уровень частоты РМС в образцах №2 и №4 можно объяснить высоким содержанием некоторых ТМ (Cu, Zn, Pb, Mo) в почве (табл.1). Несколько иная картина наблюдалась при анализе БМС. Максимальный уровень, превышающий контроль в 1,5 и 1,3 раз соответственно, выявлен в образцах №1 и №2 (табл.2).

Ранее, при изучении растворов солей и окислов ТМ, нами было показано, что с повышением концентрации ионов металлов (Cu^{+2} , Zn^{+2} , Cr^{+3} , Cr^{+6} , Pb^{+2}) у традесканции достоверно увеличивается в несколько раз частота РМС и БМС по сравнению со спонтанным уровнем [5].

Помимо описанных мутационных нарушений, у обработанных растений были выявлены также различные типы морфологических изменений: часто встречались карликовые и разветвленные волоски. Наивысший уровень карликовых или невыживших волосков наблюдался также, как и при определении РМС, в образце №2, где частота их достигала $3.78\% \pm 0.47$ (контроль – $1.44\% \pm 0.31$), а наименьший – в образце №1 ($1.86\% \pm 0.36$).

По всей вероятности, повышение частоты РМС и БМС, а также морфологических изменений в образце №2 может быть обусловлено генотоксическим эффектом цинка и молибдена (Zn и Mo) при их избыточном содержании в данном почвенном образце на морфогенетические процессы у традесканции.

Анализ действия изучаемых образцов почв на процесс микроспорогенеза у клона 02 традесканции показал, что при мейотическом делении количество тетрад с микроядрами достигает 9.6-16.1 % (по сравне-

нию с контролем), а количество микроядер в тетрадах – 11.9 -21.3 % (табл.2). С большей частотой микроядра формировались в образцах №1 и №2, превосходя контрольный уровень в 6-7 раз. Наблюдалась высокая частота тетрад с одиночными микроядрами. С увеличением числа формирующихся МЯ в одной тетраде частота проявления таких клеток уменьшалась (в случае 3, 4, 5 МЯ – она достигала 13.3 - 1.3% соответственно).

Таким образом, при высоком уровне загрязнения почв ТМ (в особенности Zn и Mo в образцах №1 и №2) наблюдалось как значительное повышение частоты всех изученных мутационных событий (РМС и БМС) и морфологических изменений, так и увеличение процента МЯ (особенно одиночных) в спорогенных клетках традесканции.

Таблица 1. Содержание некоторых тяжелых металлов (ТМ) в пробах почв, мг/кг

Варианты	Cu	Zn	Pb	Cr	Mo	Ag
1. Ереван	4.2	64.2	0.7	6.5	3.6	0.04
2. Фонтан	3.5	65.3	0.14	4.3	3.6	0.05
3. Севан	1.9	63.4	0.6	6.2	3.1	0.2
4. Степанакерт	6.9	72.2	0.38	6.2	2.1	0.04
5. Контроль	2.9	65.2	0.2	4.2	1.9	0.02

Таблица 2. Индукция мутационных событий в клоне 02 традесканции исследуемыми образцами почв

Варианты	Частота мутаций в соматических клетках, генные мутации		Частота мутаций в спорогенных клетках, образование тетрад	
	РМС/1000±m	БМС/1000±m	Тетрады с МЯ, %±m	МЯ в тетрадах, %±m
№1, Ереван	0.96±0.26**	5.44±0.61**	9.60±0.54	11.9±0.59***
№2, Фонтан	1.51±0.3***	4.82±0.53	16.1±0.67	21.3±0.75***
№3, Севан	0.76±0.22*	2.53±0.4	12.9±0.61	17.2±0.69***
№4, Степанакерт	1.13±0.24***	3.39±0.47	12.3±0.60	20.4±0.74***
Контроль	0.20±0.11	3.59±0.48	2.20±0.27	2.8±0.30

* – p<0.05

** – p<0.01

*** – p<0.001

Следующим этапом исследований явился сравнительный анализ накопления тяжелых металлов полыни горькой *Artemisia absinthium* L., непосредственно растущей в пунктах исследования, и содержанием ТМ в образцах почв.

Известно, что наземные органы растений с разной интенсивностью аккумулируют микроэлементы из почвы. При поступлении ТМ в корни растений происходит как передвижение ионов, так и их поглощение. Химические элементы, относящиеся к ряду ТМ, распределяются неравномерно с учетом концентрирующей способности самих растений [2].

В результате анализа имеющихся данных выявлено, что значение индекса поступления *C* меди у всех образцов растений колеблется в пределах единицы, кроме образца №2, у которого содержание металла в растении ниже, чем в почве.

При накоплении цинка наблюдается торможение его поглощения растениями. Для всех образцов отмечено почти десятикратное низкое значение концентрации металла в растениях по сравнению с почвами. При этом величина коэффициента *C* в этом случае меньше единицы.

Повышенное содержание свинца наблюдается во всех надземных частях растений по сравнению с соответствующими почвами (за исключением образца №1).

Поступление хрома в растения происходит независимо от его содержания в почве. У образцов № 1, 3, 4 с почти одинаковым содержанием металла в почве наблюдаются весьма отличные друг от друга значения *Ср*.

При низких концентрациях молибдена в почве содержание его в надземных частях растения во много раз выше (особенно у образцов №1 и №4), что позволяет предположить о способности растений полыни аккумулировать молибден.

Содержание серебра в образцах почв и растений почти одинаковое, т.е. индекс поступления серебра равен единице.

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о неоднозначности реакций полыни горькой на содержание ТМ в исследуемых образцах почв. Анализ полученных значений индекса поступления ряда металлов из почвы в фитомассу полыни показал, что медь, свинец и молибден активно аккумулируются в вегетативных частях растения в зависимости от их концентрации в почвенных образцах. При выявлении интенсивности поглощения ТМ растениями полыни из почвы по величине индекса поступления, металлы можно расположить в следующий ряд: $Mo < Pb < Ag < Cu < Cr < Zn$.

Обобщая полученные результаты, можно заключить, что используемые для биомониторинга загрязнения почв тяжелыми металлами тест-объекты *Tradescantia clone 02* и *Artemisia absinthium* L. проявляют специфическую реакцию на содержание ТМ в исследуемых образцах почв и могут быть использованы для адекватной оценки интенсивности техногенной нагрузки. Полученные данные могут быть также использованы для разработки экспресс-методов почвенного мониторинга придорожных экосистем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Архипчук В.Д., Клименко С.Г., Медвинская Н.А., Алферов Л.Н. Лаб. дело, 9, с.23-25, 1983.
2. Гончаров Т.А. Энциклопедия лекарственных растений. М., 2, с.510-518, 2004.
3. Гроссман С. И., Тернер Дж. Математика для биологов. Высш. шк., 383 с., 1983.
4. Ермохин Ю.И., Пархоменко Н.А. IV респуб. молодежная науч. конференция, Ереван, 171-176, 2003.
5. Матевосян М.Б., Погосян В.С., Агаджанян Э.А., Атоянц А.Л., Арутюнян Р.М. Ученые записки ЕГУ, 1, 103-107, 2006.
6. Тадевосян А.В., Амбарцумян А.Ф., Киракосян А.А., Сукиасян А.Р., Шамиян А.Г. Известия НАНА и ГИУА, Серия техн. наук 3, с. 402-406, 2008.
7. Черных Н.А., Милащенко Н.З., Ладонин В.Ф. Экологические аспекты загрязнения почв тяжелыми металлами. М., Агроконсалт, 176 с., 1999.
8. Ma T.H., Cabrera G.L., Cebulska-Wasilewska A., Chen R., Loarea F., Vanderberg A.L., Salamone M.F. *Mutat. Res.*, 310, p.211-220. 1994a.
9. Ma T.H., Cabrera G.L., Chen R., Gill B.S., Sandhu S.S., Vanderberg A.L., Salamone M.F. *Mutat. Res.*, 310, p.220-230, 1994b.

Поступила 18.07.2009.