

водных обитателей, уменьшается, что приводит к искажению биоразнообразия экосистемы озера [5].

Армения богата запасами минералов природных адсорбентов: цеолитов, диатомитов, перлитов, мела и др. Природные цеолиты находят все большее применение в промышленности ввиду возможности их использования в различных отраслях. Одной из важных областей их использования является производство дешевых природных сорбентов для охраны окружающей среды, в том числе для очистки воды. Цеолит очень хорошо удаляет из воды аммиак и ионы аммония, снижает жесткость и регулирует кислотность воды (стабилизирует pH), а также предотвращает рост и бесконтрольное распространение водорослей. Применение цеолита позволяет создать полностью экологическую систему фильтрации водоемов [6, 7]. Данный метод очистки широко используется во многих зарубежных странах, однако в Армении в рамках исследовательской программы по водочистке в качестве адсорбента цеолит применяется впервые.

Среди модельных растительных тест-объектов в качестве биоиндикатора загрязненности окружающей среды следует особо выделить растения *Tradescantia* (клоны 02 и 4430), использование которых позволяет оценить индукцию генетических нарушений под воздействием достаточно низких концентраций ксенобиотиков.

В качестве главного маркерного критерия теста Трад-ВТН (системы волосков тычиночных нитей (ВТН)) выступает изменение окраски соматических клеток ВТН с голубой на розовую (точковые соматические мутации). Под воздействием различных химических веществ, находящихся в водной среде, в голубых клетках ВТН могут происходить мутации, и их цвет меняется на розовый (рецессивные мутационные события (РМС)), а также на белый (бесцветные мутационные события (БМС)). Кроме того, в данном тесте учитываются различные морфологические изменения в ВТН – невыжившие (НВ) и разветвленные (РВ) волоски, а также нарушения в строении цветка – различного рода фасциации, изменения числа тычинок и лепестков венчика (уменьшение). С применением микроядерного теста (Трад-МЯ) учитываются два основных тест-критерия: процент микроядер в тетрадах и процент тетрад с микроядрами.

Целью настоящего исследования являлось биотестирование уровня генотоксичности и кластогенности водных проб оз. Севан в период цветения воды и после обработки цеолитом с применением двух биотестов (Трад-ВТН и Трад-МЯ) модельного тест-объекта *Tradescantia* (клон 02). Материалом исследования служили водные пробы оз. Севан, взятые в водосборных пунктах Личк, Лчашен, Норашен. Эти точки были выбраны в связи с тем, что именно здесь за последнее время чаще всего наблюдалось цветение воды.

Биотестирование проводилось в два этапа. На первом этапе (2020) изучали генетические эффекты в исследуемых образцах в периоды до, во время и после цветения воды (май, июль, октябрь соответственно). На вто-

ром этапе (2021) проводили тестирование тех же образцов во время цветения воды (июнь) и после обработки цеолитом.

Пробы воды и химический анализ элементов были предоставлены лабораторией гидрогеохимии ИГН НАН РА. В качестве условно фонового образца (контроля) использовали водопроводную воду. Эксперименты проводились в условиях теплицы ЕГУ. В каждом водном варианте было проанализировано 5-10 растений с учетом 20-24 тыс. ВТН. Для микроядерного теста на каждый вариант было просмотрено по 3000 тетрад.

Для выполнения поставленных задач использовались две модельные тест-системы клона 02 традесканции – система волосков тычиночных нитей (тест Трад-ВТН) и микроядерный тест (тест Трад-МЯ). Оба биотеста проводились по стандартным методикам [7, 8]. В исследуемых водных образцах определялись концентрации химических элементов (NH_4^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Cl , F , SO_4^{2-} , HCO_3^- , PO_4^{3-} , NO_3^- , NO_2^-). Все полученные результаты были статистически обработаны с применением компьютерной программы *Statgraphics Centurion 16. 2*. Проводили корреляционный анализ между частотой мутационных событий в ВТН, а также частотой встречаемости микроядер в тетрадах микроспор и концентрацией химических элементов в исследуемых водных пробах.

Полученные данные биотеста Трад-ВТН на первом этапе тестирования (2020) показали достоверное увеличение количества точковых соматических мутаций (РМС), бесцветных мутаций (БМС) и НВ во всех водных образцах. Максимальный уровень на всех этапах эксперимента наблюдался в варианте водной пробы Норашен (где частота РМС достоверно превышала контроль в 5-8 раз при $p < 0.001$ (табл. 1).

Аналогичные результаты были получены при изучении данных двух основных критериев микроядерного теста: процент микроядер в тетрадах и процент тетрад с микроядрами. Наибольшая частота изученных параметров наблюдалась также в варианте Норашен, достоверно превышая контрольный уровень в 2-3. 5 раза ($p < 0.01$; $p < 0.001$) (табл. 2).

Рассматривая особенности проявления генетических эффектов в зависимости от временного периода наблюдений (до цветения воды, во время цветения и после цветения) следует отметить, что в период цветения воды (июль) водный вариант Личк также отличался не только высоким уровнем РМС (генотоксический эффект, достоверно превышающий контроль в 3 раза при $p < 0.001$), количеством НВ (тератогенный эффект, превышающий контроль в 16 раз. при $p < 0.001$), но и процентом микроядер в тетрадах и тетрад с микроядрами (кластогенный эффект, достоверно превышающий показатели контроля в 2.5 раза при $p < 0.01$).

Следует отметить, что в период цветения водный вариант Личк по данным гидрохимического анализа характеризовался более кислой средой (рН 5.9), высокой концентрацией ионов K^+ , Mg^{2+} , Cl , Na^+ , SO_4^{2-} , HCO_3^- , наличием органических и токсических веществ, что, возможно, и приводит к повышенному тератогенному эффекту. В период после цветения

(октябрь) в данном образце наблюдалось значительное снижение уровня генетических эффектов по сравнению с образцом периода цветения.

Таблица 1

Индукция генотоксических эффектов в водных образцах оз. Севан у традесканции (клон 02), I этап (2020)

Водный образец	Соматические мутации		Морфологические изменения
	рецессивные мутации РМС / 1000	бесцветные мутации БМС/1000	невыжившие волоски НВ/1000
Период до цветения воды (май)			
Личк	1.2 ± 0.23 ^{***}	5.4 ± 0.47 ^{**}	7.2 ± 0.54 ^{***}
Норашен	2.0 ± 0.32 ^{***}	6.9 ± 0.39 ^{**}	6.7 ± 0.59 ^{***}
Лчашен	1.3 ± 0.25 ^{***}	7.1 ± 0.57 ^{**}	5.8 ± 0.51 ^{***}
Контроль	0.4 ± 0.19	3.6 ± 0.58	0.4 ± 0.29
Период цветения воды (июль)			
Личк	1.3 ± 0.25 ^{***}	9.6 ± 0.68 ^{**}	6.4 ± 0.56 ^{***}
Норашен	2.2 ± 0.38 ^{***}	10.5 ± 0.84 ^{**}	5.6 ± 0.61 ^{***}
Лчашен	0.6 ± 0.24	16.4 ± 1.24 ^{**}	6.2 ± 0.77 ^{***}
Контроль	0.4 ± 0.19	3.6 ± 0.58	0.4 ± 0.29
Период после цветения воды (октябрь)			
Личк	0.7 ± 0.28 [*]	16.2 ± 1.4 ^{***}	2.1 ± 0.5 ^{***}
Норашен	3.2 ± 0.59 ^{***}	22.2 ± 1.56 ^{***}	3.3 ± 0.6 ^{***}
Лчашен	0.87 ± 0.33 ^{**}	19.6 ± 1.54 ^{***}	3.0 ± 0.61 ^{***}
Контроль	0.4 ± 0.19	3.6 ± 0.58	0.4 ± 0.29

*p<0.05, **p<0.01, *** p<0.001.

В пробах воды Норашен и Лчашен на этой стадии (после периода цветения) не выявлено значительного изменения уровней генотоксичности и кластогенности.

Следует отметить, что во время цветения (июль) во всех вариантах также наблюдался ряд морфологических изменений цветка, таких как уменьшение числа тычинок, количества лепестков венчика, а также сросшиеся тычинки и лепестки, более заметные у варианта Личк (тератогенный эффект). В изученных водных вариантах наблюдалось также достоверное увеличение количества НВ (в 14-16 раз превышающее контроль при p<0.001)

Был проведен корреляционный анализ между уровнем соматических мутаций, процентом микроядер и химическим составом изучаемых водных образцов в зависимости от временного периода.

Таблица 2

**Индукция кластогенных эффектов у традесканции (клон 02),
I этап (2020)**

Водный образец	Частота МЯ в спорогенных клетках	
	МЯ в тетрадах (%±m)	тетрады с МЯ (%±m)
Период до цветения воды (май)		
Личк	5.3 ± 0.58**	4.3 ± 0.52**
Норашен	6.8 ± 0.56**	6.0 ± 0.53***
Лчашен	6.6 ± 0.45**	5.2 ± 0.40**
Контроль	2.4 ± 0.28	1.8 ± 0.24
Период цветения воды (июль)		
Личк	6.1 ± 0.90**	5.6 ± 0.87**
Норашен	9.0 ± 1.81***	8.0 ± 0.72***
Лчашен	3.0 ± 0.38*	2.7 ± 0.36*
Контроль	2.4 ± 0.28	1.8 ± 0.24
Период после цветения воды (октябрь)		
Личк	4.8 ± 0.39**	4.4 ± 0.37**
Норашен	7.3 ± 0.52***	5.5 ± 0.45***
Лчашен	5.8 ± 0.52**	4.6 ± 0.47**
Контроль	2.4 ± 0.28	1.8 ± 0.24

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

Показана положительная достоверная корреляция между уровнем генетических параметров теста Трад-ВТН (РМС, БМС, НВ), а также маркерными критериями теста Трад-МЯ и ионами NH_4^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- ($p < 0.05$; $p < 0.01$) в изученных образцах (в период до цветения воды).

Корреляционный анализ по данным, полученным на этапах цветения и после цветения воды, показал достоверную положительную корреляцию между уровнем НВ и ионами Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , F^- , Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- ($p < 0.01$), а также между уровнем тест-критериев микроядерного теста и концентрацией вышеуказанных ионов на этапе после цветения воды ($p < 0.05$; $p < 0.01$).

Таким образом, на первом этапе биотестирования (2020) с использованием двух тест-систем традесканции на примере водного образца Личк показано, что цветение оз. Севан вызывает резкое усиление не только генотоксического (точечные мутации), но также кластогенного (процент микроядер) и тератогенного (невыжившие волоски) эффектов. Это может быть связано с повышением кислотности воды, высокой минерализацией,

а также наличием органических и токсических веществ в водной среде, подверженной процессу эвтрофикации.

На втором этапе биотестирования водных образцов в период цветения воды оз. Севан и после обработки цеолитом, проведенного в 2021 г. (водная проба Норашен была предоставлена только до обработки цеолитом, т.к. здесь не наблюдалось цветения воды), на основании данных двух биотестов традесканции (Трад-ВТН и Трад-МЯ) в период цветения (июнь) показано достоверное увеличение точковых соматических мутаций (РМС), бесцветных мутаций (БМС), НВ, а также процента МЯ и тетрад с МЯ во всех исследуемых вариантах по сравнению с фоном в зависимости от образца. Максимальное проявление РМС и НВ, а также тест-критериев микроядерного теста (процент МЯ в тетрадах и тетрад с МЯ) наблюдалось в варианте Лчашен и достоверно превысило контрольный уровень по обоим параметрам Трад-ВТН теста в 12.5 и 17 раз соответственно ($p < 0.001$) и в 3.5 раза ($p < 0.01$) по показателям Трад-МЯ теста (табл. 3).

В тестируемый период после обработки исследуемых водных проб цеолитом наблюдалось достоверное снижение уровня изучаемых тест-маркеров по сравнению с вариантами до обработки (особенно это проявилось в варианте Лчашен). Характерно, что в вариантах Лчашен и Личк снижение генетических эффектов (точковых мутаций и процента МЯ) после обработки цеолитом происходило на одном уровне.

Таблица 3

Генотоксические и кластогенные эффекты водных образцов бассейна оз. Севан в соматических клетках традесканции (клон 02) в период цветения воды и после обработки цеолитом, II этап (2021)

Вариант водной пробы	Тест Трад-ВТН			Тест Трад-МЯ	
	(РМС/1000) ± m	(БМС/1000) ± m	(НВ/1000) ± m	МЯ в тетрадах	тетрады с МЯ
Личк, цветение	0.8 ± 0.22*	21.0 ± 1.1***	16.0 ± 0.96***	6.2 ± 0.54***	4.9 ± 0.48***
Личк, цеолит	0.6 ± 0.2*	14.4 ± 0.97***	7.9 ± 0.72***	4.8 ± 0.48***	4.0 ± 0.44***
Лчашен, цветение	2.5 ± 0.32***	33.8 ± 1.2***	6.8 ± 0.53***	8.4 ± 0.62***	6.8 ± 0.56***
Лчашен, цеолит	0.6 ± 0.24*	30.0 ± 1.6***	5.7 ± 0.86***	4.7 ± 0.47***	3.9 ± 0.44
Контроль	0.2 ± 0.14	2.7 ± 0.51	0.4 ± 0.19	2.4 ± 0.28	1.8 ± 0.24

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Рассматривая особенности проявления генетических эффектов в зависимости от временного периода наблюдений, следует отметить, что после обработки цеолитом наблюдалось достоверное снижение уровня генотоксических эффектов, особенно в варианте Лчашен, где понижение значения РМС было в 4 раза ($p < 0.01$), а маркерных критериев Трад-МЯ теста – в 2 раза ($p < 0.05$). В связи с этим, по данным биотестирования, можно говорить о положительном действии цеолита на токсичность воды оз. Севан в процессе его эвтрофикации). Корреляционный анализ по данным второго

этапа тестирования проводился в период цветения воды и показал достоверную положительную корреляцию между уровнем РМС, тест-критериями микроядерного теста и концентрацией ионов K^+ , Ca^{2+} , Cl^- , HCO_3^- ($p < 0.001$).

Таким образом, результаты тестирования показали повышение уровня генотоксических и кластогенных эффектов во время цветения воды во всех изученных водных пробах. После обработки воды цеолитом наблюдалось достоверное снижение рассмотренных генетических тест-маркеров, особенно этот эффект проявился в варианте Лчашен.

Полученные данные по биотестированию водных образцов оз. Севан в период цветения и после обработки цеолитом свидетельствуют о том, что применение цеолита в качестве природного сорбента целесообразно для снижения уровня токсичности воды оз. Севан в процессе его эвтрофикации.

Работа выполнена в рамках гранта № 1-15/T13-21 Комитета по науке МОНКС РА по теме «Исследование механизмов эвтрофирования озера Севан и разработка методов борьбы с явлениями “цветения”».

¹ Президиум НАН РА

² Ереванский государственный университет

³ Научный центр зоологии и гидроэкологии НАН РА

e-mail: roubenm@sci.am

**Член-корреспондент НАН РА Р. М. Арутюнян, Р. Э. Авалян,
А. Л. Атоянц, Э. А. Агаджанян, Б. К. Габриелян**

**Биотестирование водных проб оз. Севан в период цветения
воды и после обработки цеолитом с применением
модельного тест-объекта**

Проведено биотестирование уровня генотоксичности и кластогенности водных проб, взятых из водосборных пунктов оз. Севан (Личк, Лчашен, Норашен) в период цветения воды и после обработки цеолитом с применением тест-системы волосков тычиночных нитей (Трад-ВТН) и микроядерного теста (Трад-МЯ) модельного тест-объекта традесканции (клон 02). Показано достоверное повышение уровня генетических эффектов в водных образцах Личк и Лчашен в период цветения воды. После обработки цеолитом наблюдалось достоверное снижение уровня изученных тест-маркеров.

**Թղթակից անդամ ՀՀ ԳԱԱ Ռ. Մ. Հարությունյան, Ռ. Ե. Ավայան,
Ա. Լ. Աթոյանց, Է. Ա. Աղաջանյան, Բ. Կ. Գաբրիելյան**

**Սևանա լճից ջրի նմուշների կենսաթեստավորում ջրի ծաղկման ժամանակ
և ցեոլիտով մշակումից հետո մոդելային թեստ օբյեկտի կիրառմամբ**

Սևանա լճի ջրի ավազանից վերցված ջրի նմուշների գենոտոքսիկոլոգիայի և կլաստոգենության մակարդակի կենսաթեստավորում (Լիճք, Լճաշեն, Նորաշեն) ջրի ծաղկման ժամանակ և ցեոլիտով մշակումից հետո օգտագործելով Տրադեսկանցիա

(կլոն 02) թեստ օբյեկտի առէջաթելերի մազիկների (Տրադ-ՍՍ) և միկրոկորիզների (Տրադ-ՄԿ) թեստ-համակարգերի կիրառմամբ: Ցույց է տրվել ջրի ծաղկման շրջանում Լիճքի և Լճաշենի ջրի նմուշներում գենետիկական էֆեկտների մակարդակի հավաստի բարձրացում: Ցեղիտով մշակումից հետո նկատվել է ուսումնասիրված թեստ-մարկերների մակարդակի հավաստի նվազում:

**Corresponding member NAS RA R. M. Aroutiounian, R. E. Avalyan,
A. L. Atoyants, E. A. Agajhanyan, B. K. Gabrielyan**

Biotesting of Water Samples from Lake Sevan during Water Bloom and after Treatment with Zeolite Using a Model Test Object

With the application of Trad-SHM (stamen hairs) and Trad-MN (micronuclei in tetrads of microspores) tests of Tradescantia (clone 02) model test object biotesting was carried out on genotoxicity and clastogenicity level of lake Sevan water samples, taken from water points Lichk, Lchashen, Norashen in the period of water blooming and after treatment of samples with zeolite powder. The increase of genetic effects level in the water samples in points of Lichk and Lchashen in the period of water bloom was revealed. The significantly decrease in the level of the test markers studied was observed after treatment with zeolite.

Литература

1. *Матишов Г. Г., Селютин В. В., Месропян К. Э. и др.* – Вестник Южного научного центра. 2016. Т.12. № 2. С.43-52.
2. *Zhukova A. A., Mastitsky S. E.* – 2014. Minsk BSU. 112 p. ISBN 978-985-566-014-0
3. *Hambaryan L. R., Stepanyan L. G., Mikaelyan Q. G.* – Proceeding of the Yerevan State University. 2020. V. 54 (2). P. 168-176. doi:10.31951/2658-3518-2
4. *Hambaryan L., Khachikyan T., Ghukasyan E.* – Limnology and Freshwater Biology. 2020. № 4. P. 662-664.
5. *Gevorgyan G., Rinke R., Schultze M. et al.* – J. Hydrobiology. 2020. P. 1-12. doi: 10.1002/iroh.202002060
6. *Shaobin Wang, Yuelian Peng* – Chemical Engineering Journal. 2010. V. 156(1). P. 11-24. doi:10.1016/j.cej.2009.10.029
7. *Багров В. В., Камрукова А. С., Кострица В. Н. и др.* – Журн. «Вода Magazine» 2017. № 6 (118).
8. *Ma T. H., Cabrera G. L., Cebulka-Wasilevska A. et al.* – Mutation Research. 1994(a). V. 310. № 2. P. 211–220. doi: 0027-5107/94//S07.00
9. *Ma T. H., Cabrera G. L., Chen R. et al.* – Mutation Research. 1994(b). V. 310. № 2. P. 220–230. doi: 0027-5107/94//S07.00