

ИССЛЕДОВАНИЕ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ПОЧВЫ У ПРЕДПРИЯТИЯ ООО «САРАНСКИЙ ЗАВОД КЕРАМИЧЕСКИХ ИЗДЕЛИЙ»

Маскаева Т.А.¹, Лабутина М.В.¹, Чегодаева Н.Д.¹

¹ФГБОУ ВО «Мордовский государственный педагогический институт им. М.Е. Евсевьева», Саранск, e-mail: masckaeva.tania@yandex.ru

В настоящей статье приведены результаты исследования генотоксичности почв у предприятия ООО «Саранский завод керамических изделий» с различным промышленным воздействием с помощью *Allium cepa* L. Цитогенетический анализ показал, что почва тестируемого объекта обладает выраженным мутагенным эффектом и связанным чаще всего с повреждением не одной, а нескольких хромосом одновременно; максимальный мутагенный эффект зафиксирован в южном участке зоны 2000 метров, где воздействие идет не только от предприятия, но и от железной дороги, минимальный – в южном участке зоны 1000 метров, где воздействия минимальны как от предприятия, так и от железной дороги. Почва предприятия влияет также на митотическую активность клеток апикальной меристемы *A. cepa*, понижая пролиферативную активность клеток лука, максимальное понижение зафиксировано в пробах почв, взятых с северного участка зоны 50 метров, а минимальным – с южного участка зоны 1000 метров.

Ключевые слова: мутагены, мутации, генотоксичность, всхожесть семян, митотический индекс, хромосомные aberrации.

RESEARCH OF ASSESSMENT OF DEGREE OF GENOTOXICITY OF THE SOIL AT THE LLC SARANSK PLANT OF STONEWARES ENTERPRISE

Maskaeva T.A.¹, Labutina M.V.¹, Chegodaeva N.D.¹

¹The Mordovian state teacher training institute of M. E. Evseyev, Saransk, e-mail: masckaeva.tania@yandex.ru

Results of a research of genotoxicity of soils at the LLC Saransk Plant of Stonewares enterprise with various production influence by means of *Allium cepa* L. are given in the present article. The cytogenetic analysis showed that the soil of the tested object has the expressed mutagen effect and the bound, most often, with damage not of one, but several chromosomes at the same time; the maximal mutagen effect is recorded in the southern site of a zone of 2000 meters where influence goes not only from the enterprise but also from the railroad, minimum – in the southern site of a zone of 1000 meters where influences are minimum both from the enterprise, and from the railroad. The soil of the enterprise influences also mitotic activity of cages of an apical meristem of *A. cepa*, lowering proliferative activity of cages of an onion, the maximal decrease is recorded in tests of soils of the zone of 50 meters taken from the northern site, and minimum – from the southern site of a zone of 1000 meters.

Keywords: mutagens, mutagenesis, genotoxicity, seed germination, mitotic index, chromosomal aberrations.

Экологическая проблема загрязнения почв актуальна для любого региона с антропогенной нагрузкой, в том числе и для Мордовии. В настоящее время в городе насчитывается около 60 предприятий, совершающих выбросы в атмосферу более 140 вредных веществ различных классов опасности. Химические элементы сами по себе не мутагенные, но при взаимодействии в почве могут образовывать соединения, оказывающие генотоксическое воздействие. В Республике Мордовия проблема загрязнения почв освещена в ряде работ, проведенных с использованием физико-химических показателей [4; 8]. Однако отдалённые последствия действия экотоксикантов, связанные с повреждением генетического аппарата, остаются неизученными. В настоящее время широкое распространение для оценки степени генетического риска получили методы цитогенетического мониторинга, позволяющие определить суммарную нагрузку, являющуюся интегральным показателем эффекта сложнейших комбинаций мутагенов и их модификаторов [1; 5; 7]. Данный метод

непосредственно изучает хромосомные мутации, которые, кроме того, могут служить косвенным показателем в отношении индукции генных мутаций, и их результаты сравнительно легко экстраполируются на человека. Для оценки загрязнения окружающей среды широко применяются растительные объекты, и стандартными методами биоиндикации являются *Allium*-тест, тестирование с использованием *Vicia faba*, *Grepis cappilaris* [3].

Целью настоящей работы является исследование с помощью *Allium cepa* L. генотоксичности почв у предприятия ООО «Саранский завод керамических изделий» с различным промышленным воздействием.

Материалы и методы исследования

В нашем исследовании была использована почва, взятая из разных точек двухкилометровой зоны предприятия ООО «Саранский завод керамических изделий». Всего было исследовано 15 проб почв, взятых в четырех разных направлениях двухкилометровой зоны предприятия ООО «Саранский завод керамических изделий».

Южный участок

Взято было 6 проб почвы на разном расстоянии от предприятия: а) 1 точка – 50 метров. Почва глинопесчаная, растительности очень мало; б) 2 точка – 100 метров. Почва чернозем с примесью песка и глины, растительности мало; в) 3 точка – 200 метров. Почва чернозем с примесью песка, растительности мало, присутствует травянистая растительность; г) 4 точка – 500 метров. Почва здесь чернозем, растительность разнообразна, присутствуют как кустарники, так и полукустарники; д) 5 точка – 1000 метров. Почва чернозем, растительность здесь преобладает травянистая; е) 6 точка – 2000 метров. Почва чернозем, растительности очень мало.

Северный участок

Взята была одна проба почвы, это связано с доступностью: 1 точка – 50 метров. Почва чернозем, растительности очень мало, преобладает травянистая растительность.

Восточный участок

Взято было 4 пробы почвы на разном расстоянии от предприятия: а) 1 точка – 50 метров. Почва чернозем с примесью песка и глины, растительности очень мало; б) 2 точка – 100 метров. Почва чернозем с примесью песка и глины, растительность преобладает травянистая; в) 3 точка – 200 метров. Почва чернозем, растительность преобладает травянистая, присутствуют кустарники; г) 4 точка – 500 метров. Почва здесь чернозем, растительность разнообразна, присутствуют как кустарники, так и полукустарники.

Западный участок

Взято было 4 пробы почвы на разном расстоянии от предприятия: а) 1 точка – 50

метров. Почва чернозем с примесью песка и глины, растительности очень мало; б) 2 точка – 100 метров. Почва чернозем с примесью песка и глины, растительность преобладает травянистая; в) 3 точка – 200 метров. Почва чернозем, растительность преобладает травянистая, присутствуют кустарники; г) 4 точка – 500 метров. Почва здесь чернозем, растительность разнообразна, присутствуют как кустарники, так и полукустарники.

Контроль

В качестве контроля была использована почва, собранная за пределами города (рис. 3). Почва серая лесная. Растительность представлена деревьями (береза, дуб), кустарниками (ива, шиповник). Участок, с которого отбирались образцы почв, находится на расстоянии не менее 150 м от ближайших автомобильных дорог (считается, что такое расстояние исключает аэрогенное попадание тяжелых металлов в почву от основного источника загрязнения автотранспорта).

В качестве тест-объекта был взят лук репчатый (*Allium cepa* L.). Выбор объекта исследования не случаен, так как в последние годы использование растений в качестве биологических тестов химических веществ ведется в различных областях мониторинга окружающей среды.

Для определения митотической активности и анализа спектра aberrаций готовили давленные ацетокарминовые препараты по методики Паушевой [6].

В каждом препарате подсчитывали делящиеся клетки, анализировали все анафазные клетки и учитывали долю клеток с aberrациями хромосом. Анализ спектра aberrаций проводили с выделением одиночных и двойных фрагментов и мостов по классификации Бочкова Н.П. [2].

Статистическую обработку результатов проводили стандартными методами вариационной статистики. Полученные данные обрабатывали методом вариационной статистики с применением программ Stat2, Fstat.

Результаты исследований и их обсуждение

Мы исследовали фитотоксическое действие почв тестируемых пунктов на всхожесть семян модельного растения. Результаты биотестирования приведены в таблице 1. Исследования показали, что всхожесть семян *A. cepa* L. достоверно ниже контроля, то есть тестируемая почва является фитотоксичной и ингибирует развитие исследуемого тест-отклика. Наибольшее ингибирование всхожести семян репчатого лука наблюдалось во всех направлениях от предприятия в пробах почв, которые находились на расстоянии 50 м от предприятия.

Таблица 1

Результаты биотестирования почв по всхожести семян *Allium cepa* L.

Точки отбора проб почвы	Всхожесть, %
Южный участок	
50 м	20,7 ± 2,03*
100 м	25,5 ± 1,54**
200 м	26,8 ± 1,83*
500 м	40,1 ± 2,12**
1000 м	50,6 ± 1,97*
2000 м	17,1 ± 1,89**
Северный участок	
50 м	16,5 ± 2,09**
Восточный участок	
50 м	20,9 ± 2,09*
100 м	29,1 ± 2,01,*
200 м	30,6 ± 1,98**
500 м	42,4 ± 1,32*
Западный участок	
50 м	21,4 ± 2,86*
100 м	26,4 ± 2,79**
200 м	32,7 ± 2,05**
500 м	41,3 ± 1,45*
Контроль	
-	95,3 ± 0,04

Отличие от контроля достоверно при *p < 0,001, **p < 0,01, ***p < 0,05.

В южном участке наибольшее ингибирование всхожести семян наблюдалось в пробах почв, взятых на расстоянии 50 и 2000 метров и составило 78,3 и 82,1% соответственно, а наименьшее – в пробе почвы, взятой на расстоянии 1000 метров, и составило 46,9%. Уменьшение всхожести семян в пробе почвы, взятой на расстоянии 2000 метров от завода, можно объяснить близостью железной дороги. В северном участке ингибирование всхожести семян составило 82,7%. На данном участке наблюдается наибольшее ингибирование всхожести семян, это можно объяснить близостью автодороги. В восточном и западном участках наибольшее ингибирование всхожести семян наблюдалось в пробе, взятой на расстоянии 50 метров от завода, а наименьшее на расстоянии 500 метров. В восточном участке ингибирование всхожести семян *A. сера* L. в пробе почвы 500 метров составило 55,5%, а в 50 метров – 78,1%. В западном участке ингибирование всхожести семян в пробе почвы 500 метров составило 56,7%, а в 50 метров – 77,5%.

Мы также определяли митотическую активность пролиферативных клеток корешков проростков *A. сера*, выросших на почве, взятой у предприятия ООО «Саранский завод керамических изделий». Результаты исследования представлены в таблице 2.

Таблица 2

Митотическая активность меристематических клеток корешков
проростков *Allium сера* L.

Точки отбора проб почв	Митотический индекс, %
Южный участок	
50 м	9,86 ± 0,97*
100 м	11,33 ± 0,75**
200 м	12,53 ± 1,99*
500 м	15,06 ± 0,86*
1000 м	18,73 ± 0,72*
2000 м	9,1 ± 0,76*
Северный участок	
50 м	8,6 ± 0,41**
Восточный участок	
50 м	9,3 ± 0,55*
100 м	11,8 ± 0,81*
200 м	13,16 ± 0,91*
500 м	17,1 ± 0,21**
Западный участок	
50 м	9,76 ± 0,63*
100 м	11,46 ± 0,45*
200 м	13,4 ± 0,32*
500 м	17,6 ± 0,33**
Контроль	
	20,5 ± 0,26

Отличие от контроля достоверно при *p<0,001, **p<0,01, ***p<0,05.

В южном участке максимальный процент ингибирования митотической активности был зафиксирован в корешках проростков, выросших на почве, взятой на расстоянии 50 и 2000 метров, и составил 51,9 и 55,6% соответственно, а наименьший – в пробе почвы, взятой на расстоянии 1000 метров, и составил 8,6%. Уменьшение митотического индекса в пробе почвы, взятой на расстоянии 2000 метров от завода, можно объяснить близостью железной дороги.

В северном участке ингибирование митотической активности клеток проростков *A. сера* L. составило 58,1%. На данном участке наблюдается наибольшее ингибирование митотического индекса, это можно объяснить близостью автодороги.

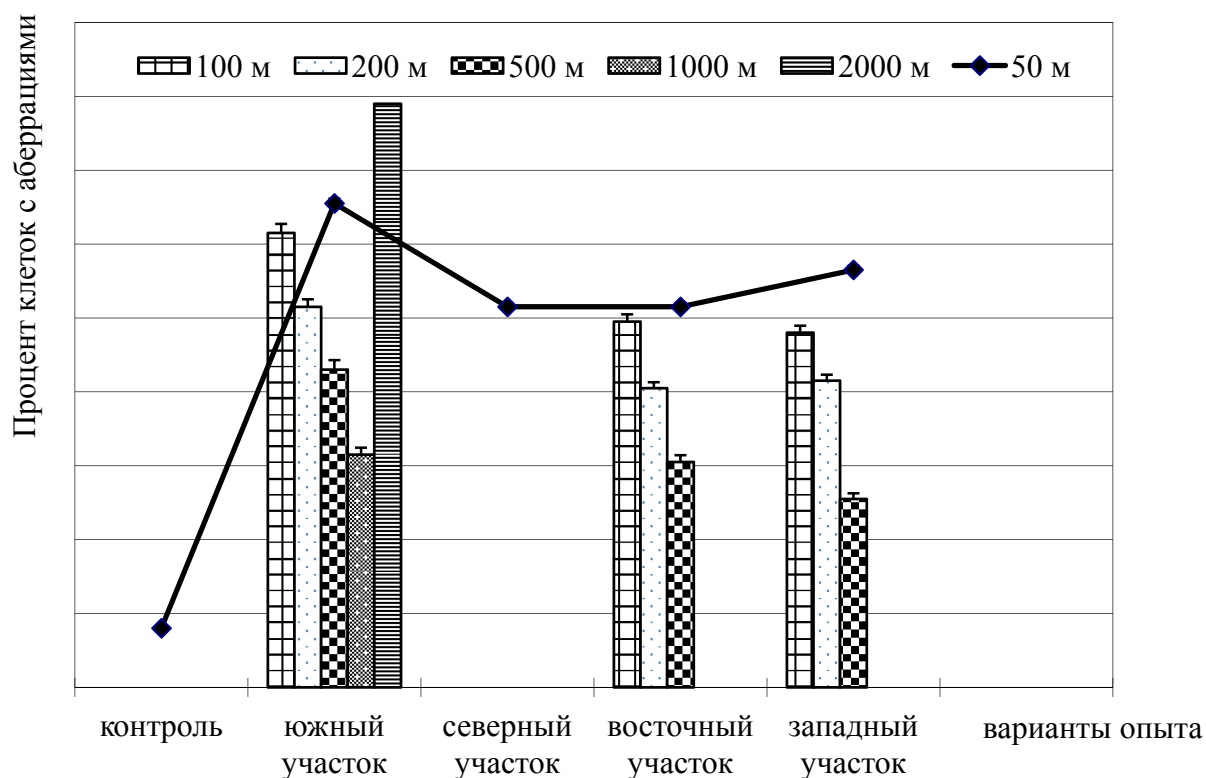
На южном участке в пробе почвы, взятой на расстоянии 2000 метров, и на северном участке в пробах почвы, взятых на расстоянии 50 метров, в условиях стресса происходило снижение доли клеток на стадии профазы и рост доли клеток на стадии метафазы и анафазы-телофазы митоз.

На восточном и западном участках максимальный процент ингибирования митотической активности клеток наблюдался в пробах, взятых на расстоянии 50 метров от завода, а наименьший – на расстоянии 500 метров. В восточном участке ингибирование митотического индекса клеток *A. сера* L. в пробе почвы 500 метров составило 16,5%, а в

пробе 50 метров – 54,6%. В западном участке ингибирование митотической активности клеток в пробе почвы 500 метров составило 14,1%, а в 50 метров – 52,4%.

Как видно из представленных данных, распределение митотоксической активности неравномерно. Наибольшая активность митотоксикантов приурочена к северному участку в пробах почв, взятых на расстоянии 50 метров от предприятия, и к южному участку в пробах почв, взятых на расстоянии 2000 метров, где влияние идет не только от предприятия, но и от дорог. Наименьшая активность митотоксикантов наблюдалась в пробах почв, взятых в южном участке на расстоянии от завода 1000 метров.

Цитологический анализ хромосомных aberrаций является одной из надежных методик оценки и идентификации факта мутагенного воздействия. Известно, что ксенобиотики, вызывающие метафазные блоки, обладают мутагенной активностью. Мы предположили, что антропогенные ксенобиотики в исследуемых образцах почв также мутагенны. Проведенный анаелофазный анализ показал, что все почвы индуцировали хромосомные aberrации в клетках корневой меристемы тест-объекта (рисунок).



Зависимость частоты возникновения хромосомных aberrаций в клетках корневой меристемы A. сера L. от расстояния от предприятия

Из рисунка видно, что наибольшая частота встречаемости aberrаций наблюдалась во всех направлениях, кроме южного от предприятия в пробах почв, которые находились на расстоянии 50 метров от завода. Чем дальше брали пробы почв от предприятия, тем меньше

наблюдалась частота возникновения хромосомных aberrаций.

В южном участке максимальный процент частоты хромосомных aberrаций был зафиксирован в пробах почвы, взятых на расстоянии 2000 метров от предприятия, и составил $15,8 \pm 0,66\%$, а минимальный - на расстоянии 1000 метров и составил $6,3 \pm 0,02\%$.

В северном участке процент встречаемости хромосомных aberrаций в пробе почвы, взятой на расстоянии 50 метров от завода, составил $10,3 \pm 0,44\%$.

В восточном участке максимальный процент частоты хромосомных aberrаций был зафиксирован в пробе почвы, взятой на расстоянии 50 метров, и составил $10,3 \pm 0,33\%$, а минимальный на расстоянии 500 м - $6,1 \pm 0,37\%$.

В западном участке наибольшее количество хромосомных aberrаций было зафиксировано в пробе почвы, взятой на расстоянии 50 метров, и составило $11,3 \pm 0,56\%$, а минимальное на расстоянии 500 метров - $5,1 \pm 0,74\%$.

Во всех анализируемых препаратах встречались анателофазы со следующими aberrациями: простые и двойные «мосты», «отставания» и фрагментированные хромосомы. Aberrации хромосомного типа отражают воздействие генотоксикантов, когда клетка находится на стадии G₁; aberrации хроматидного типа происходят, когда клетка находится на стадии S и G₂.

Заключение

Необходимо усиление биомониторинга – контроля за состоянием окружающей среды с помощью биологических систем. В качестве профилактических мер следует использовать развитие «безотходных» технологий, ограничение производства веществ с мутагенным действием, усиление всех видов контроля за состоянием потенциально опасных предприятий: химические и микробиологические производства, научно-промышленные установки биотехнологического характера.

Проанализировав исходные данные, можно сделать некоторые обобщения.

1. Цитогенетический анализ показал, что почва тестируемого объекта обладает токсическим воздействием на всхожесть семян *A. сера*: максимальным в пробах почв, взятых из южного участка зоны 2000 метров, а минимальным – из южного участка зоны 1000 метров.

2. Почва предприятия влияет на митотическую активность клеток апикальной меристемы *A. сера*, понижая пролиферативную активность клеток лука: максимальное понижение зафиксировано в пробах почв, взятых из северного участка зоны 50 метров, а минимальное – из южного участка зоны 1000 метров.

3. Цитогенетический анализ на растительном тест-объекте показал, что почва у предприятия ООО «Саранский завод керамических изделий» обладает выраженным

мутагенным эффектом и связанным чаще всего с повреждением не одной, а нескольких хромосом одновременно; максимальный мутагенный эффект зафиксирован в южном участке зоны 2000 метров, где воздействие идет не только от предприятия, но и от железной дороги, минимальный – в южном участке зоны 1000 метров, где воздействия минимальны как от предприятия, так и от железной дороги.

По полученным результатам можно дать следующие практические рекомендации.

1. В мониторинге почв рекомендуется использовать наряду с другими методами цитогенетический метод анализа, дающий прямую оценку суммарного токсического и генотоксического загрязнения почвы.

2. При анализе генотоксического воздействия почвы на объекты природы следует использовать одновременно несколько взаимодополняющих критериев для повышения объективности оценки.

3. В связи с повышенным содержанием тяжелых металлов в зоне предприятия провести компенсационное оздоровление почв путем озеленения.

Список литературы

1. Багдасарян А.С. Биотестирование почв техногенных зон городских территорий с использованием растительных организмов: дис. ... канд. биол. наук. – Ставрополь, 2005. – С. 3-4.
2. Бочков Н.П. Клиническая генетика: учебник. – М.: ГЭОТАР-МЕДИА, 2006. – 480 с.
3. Иванов Д.Е. Цитогенетические тесты в экологическом мониторинге опасных промышленных объектов // Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Проблемы региональной экологии в условиях устойчивого развития». – Киров: Аверс, 2008. – С. 422–423.
4. Мазанко М.С. Влияние сочетанного химического и электромагнитного загрязнения на биологические свойства почв: монография / М.С. Мазанко, С.И. Колесников, Т.В. Денисова [и др.]. – Ростов-н/Д : Изд-во Южного федерального университета, 2013. – 174 с.
5. Марченко Н.В. Пространственно–временная оценка генотоксического воздействия загрязнения вод природных и искусственных водоёмов нижней Волги: дис. ... канд. биол. наук. – Астрахань, 2007. – С. 3-5.
6. Маскаева Т.А. Цитогенетическое влияние пестицидов на *Hordeum vulgare* L. и *Pisum sativum* L. / Т.А. Маскаева, М.В. Лабутина, Н.Д. Чегодаева // Успехи современной науки. – 2016. – № 10. – С. 108-112.

7. Миронов Г.С. Анализ генотоксичности придорожных почв Самарской области // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2010. – № 1 (4). – С. 1039-1041.
8. Ямашкин А.А. Географический атлас Республики Мордовия. – Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2012. – 204 с.