

А.О. МАМЕДОВА

Бакинский государственный университет
Баку, АЗ-1048, ул. З. Халилова, 23, Республика Азербайджан

БИОИНДИКАЦИЯ КАЧЕСТВА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА ОСНОВЕ МУТАЦИОННОЙ И МОДИФИКАЦИОННОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ



Влияние средовых ксенобиотиков приводит к возрастанию частоты генных мутаций и aberrаций хромосом, а также к повышению уровня флюктуирующей билатеральной асимметрии в тест-системах *Vicia faba*, *Arabidopsis thaliana* и культивируемых в натуральных условиях растений *Ligustrum japonicum* Thund, *Olea europea* L., которые проявляются в виде случайной изменчивости индивидуального развития. В условиях модельных экспериментов установлено, что повреждение генетических структур химическими токсикантами вызывает, наряду с хромосомными мутациями, увеличение флюктуирующей асимметрии билатерально представленных признаков в листьях растений как результат нарушения регуляционных функций генетического аппарата. Флюктуирующая асимметрия является информативным и доступным тестом для количественной оценки уровня нарушений регуляционной функции генома. Показатели асимметрии билатеральных признаков листьев растений могут быть использованы как критерии для выявления степени экологического риска для генерационных и регуляционных функций генетического аппарата.

© А.О. МАМЕДОВА, 2009

Введение. Антропогенное воздействие на окружающую среду, включая ее загрязнение ксенобиотиками, вызывает множественные экологические изменения. Они различаются по своим масштабам, проявлению и возможностям их контроля. Антропогенно индуцированные изменения, возникающие на уровне экосистем, отдельных биоценозов или связанные с исчезновением представителей природной фауны и флоры, сокращением плотности генофонда отдельных видов и популяций, проявляются незамедлительно и могут эффективно регистрироваться с помощью контактных или дистанционных методов. Изменения, возникающие на клеточном и молекулярном уровнях и связанные с повреждением генетических структур, могут проявляться значительно позже, иногда в следующих поколениях [1]. В настоящее время генетические последствия загрязнения окружающей среды рассматриваются в основном с точки зрения индуцированных этими воздействиями нарушений генерационных функций генетического аппарата и регистрируются с помощью анализа уровня генных и хромосомных мутаций [2, 3]. В то же время ксенобиотики и другие средовые факторы могут быть причиной ненаследственной модификационной изменчивости. Последние хотя и не наследуются, тем не менее являются причиной многих патологий, проявляющихся в онтогенезе. В связи с этим контроль за генетическими последствиями загрязнения окружающей среды должен предусматривать контроль как мутационной, так и модификационной изменчивости [4]. Целью настоящей работы явилось изучение модификационной изменчивости растений в условиях воздействия на них ксенобиотиков в лабораторных и природных условиях.

Материал и методы. Объекты исследования — конские бобы (*Vicia faba*), пшеница (*Triticum aestivum*), резушка (*Arabidopsis thaliana*), а также декоративное растение — кустарник бирючина (*Ligustrum japonicum* Thund) и плодовое дерево — маслина (*Olea europea*). Растительные объекты были выбраны с целью охвата различных классов (однодольные и двудольные), жизненных форм (травы, кустарники, деревья) растений и с учетом возможности проведения одновременного исследования в лабораторных условиях уровней мутационной и модификационной изменчивости. В качестве мутационных характеристик использованы частота aberrаций хро-

мосом, в качестве модификационных — показатели флюктуирующей асимметрии билатерально представленных признаков растений [5].

Индуктор мутационной и модификационной изменчивости в лабораторных условиях — классический мутаген нитрозогуанидин (НГ, 2 мМ). Семена обрабатывали в течение 4 ч с последующей 30-минутной отмывкой под проточной водой. Пестицид гранозан (Г), мутагенное действие которого известно [6], применялся путем опудривания семян в дозе, превышающей нормальную в 2 раза (из расчета 4 кг на 1 т, нормальная — 2 кг на 1 т). Методы анализа: 1) оценка частоты и спектра структурных aberrаций хромосом в анафазных клетках [7]; 2) анализ частоты хлорофильных мутаций у арабидопсиса с использованием эмбрион-теста Мюллера [8]; 3) анализ флюктуирующей асимметрии на основании исследования билатерально представленных количественных признаков листьев растений [9]. Измерение левой и правой половин листьев растений [10] проводили под лупой МБС-9. В качестве показателя флюктуирующей асимметрии использовали среднюю величину различий фенотипического эффекта признака между сторонами, а также величину дисперсии флюктуирующей асимметрии. Расчет коэффициента асимметрии осуществляли по формуле [11].

Результаты исследований и их обсуждение.

Результаты изучения влияния ксенобиотиков на мутационную и модификационную изменчивость растений в лабораторных исследованиях представлены в табл. 1, из которой видно, что классический мутаген НГ и гранозан, использованный в качестве модельного среднего ксенобиотика сельскохозяйственного происхождения, увеличивают уровень aberrаций хромосом у лабораторных растительных тест-объектов. Выбор гранозана был обусловлен тем, что этот препарат может оказывать влияние как на культурные сорта, так и на природную растительность [12], при этом воздействие вызывает не только генные мутации и aberrации хромосом, но также повышает изменчивость за счет активации рекомбинационных процессов [13]. Из табл. 1 видно, что у исследуемых видов растений возрастает также асимметрия билатерально представленных признаков листьев растений. Таким образом, воздействие ксенобиотиков в лабораторных условиях приводит к возрастанию модификационных изменений, играющих важную роль в онтогенезе. Обращает на себя внимание то обстоятельство, что степень чувствительности к воздействию ксенобиотиков на уровне aberrаций хромосом и билатеральной асимметрии примерно одинакова. В условиях эксперимента уровни индуцированных

Таблица 1

Влияние нитрозогуанидина (НГ) и гранозана (Г) на частоту aberrаций хромосом, хлорофильных мутаций и флюктуирующей асимметрии листьев *Vicia faba*, *Triticum aestivum*, *Arabidopsis thaliana*

Объект и вариант опыта	Изучено клеток	Мутации, %		P	Количество листьев, стручков	Асимметрия		P
		n	M ± m			X ± S _x	σ ² _d	
<i>V. faba</i> *								
контроль	992	140	14,11 ± 1,10	—	150	1,16 ± 0,07	0,74	—
НГ	1079	323	29,93 ± 1,39	<0,001	143	2,22 ± 0,15	3,15	<0,001
Г	1101	297	26,97 ± 1,33	<0,001	178	2,13 ± 0,08	1,44	<0,001
<i>T. aestivum</i> *								
контроль	854	47	5,63 ± 0,79	—	140	0,19 ± 0,02	0,05	—
НГ	1115	147	13,18 ± 1,01	<0,001	122	0,40 ± 0,04	0,19	<0,001
Г	1044	148	14,17 ± 1,07	<0,001	132	0,15 ± 0,01	0,01	<0,001
<i>A. thaliana</i> **								
контроль	492	1	0,2 ± 0,04	—	104	0,25 ± 0,02	0,04	—
НГ	251	80	31,8 ± 2,93	<0,001	100	0,44 ± 0,03	0,09	<0,01
Г	232	39	16,8 ± 2,45	<0,001	170	0,30 ± 0,01	0,06	<0,01

* Клетки с aberrациями хромосом. ** Хлорофильные мутации.

аббераций хромосом и модификаций, в том числе и величина билатеральной асимметрии, возрастают примерно в одинаковой степени (табл. 1). Следует отметить, что двукратное возрастание асимметрии было максимальным, наблюдаемым в этих экспериментах. Полученные результаты свидетельствуют о наличии положительных корреляционных связей между нарушениями генерационных и регуляторных функций при действии мутагенного фактора НГ и пестицида Г, что подтверждено в экспериментальных моделях с анализом частоты аббераций хромосом на *Vicia faba*, *Triticum aestivum*, хлорофильных мутаций у *Arabidopsis thaliana* и флюктуирующей асимметрии у этих же объектов. Параллелизм в изменении показателей мутационной изменчивости и флюктуирующей асимметрии как формы модификационной изменчивости свидетельствует в пользу представлений об общности механизмов мутаций и модификаций [14].

Из полученных результатов следует, что мониторинг степени асимметрии билатеральных признаков может быть использован в качестве индикатора качества окружающей среды и оценки степени риска для регуляторных функций генетического аппарата. Связь между возрастанием мутационных и модификационных характеристик у растений в условиях воздействия на них ксенобиотиков, в том числе средовых, свидетельствует также об универсальности этого теста для оценки общего генетического риска.

С целью проверки возможности биоиндикации качества окружающей среды на основе теста флюктуирующей асимметрии билатерально представленных признаков были проведены исследования на растениях, произрастающих в условиях различного уровня загрязнения воздушного бассейна и почвы. Анализировали растения с территорий, различающихся в соответствии с данными экологического мониторинга степенью загрязнения среды [15] и условно отнесенных к оптимальным (содержание ксенобиотиков в допустимых концентрациях, ПДК), а также к участкам экологического (превышение ПДК по некоторым параметрам) и высокого экологического риска (более чем двукратное превышение ПДК), обусловленного близостью промышленных предприятий и интенсивностью движения транспорта. Как видно

Таблица 2
Влияние экологических условий на средние показатели фенотипической изменчивости и билатеральной разницы в растениях *Ligustrum japonicum* Thund. и *Olea europea*

Условия проведения эксперимента	Количество проанализированных листьев	$M \pm m$	σ^2_d
<i>Ligustrum japonicum</i> Thund.			
экологический оптимум	200	0,70 ± 0,15	0,41
экологический риск	178	0,85 ± 0,16	0,85
высокий экологический риск	250	1,31 ± 0,25	16,7
<i>Olea europea</i>			
экологический оптимум	214	0,41 ± 0,02	0,11
экологический риск	210	0,59 ± 0,02	0,17
высокий экологический риск	218	0,88 ± 0,03	0,28
P < 0,01			

из данных, представленных в табл. 2, различные экологические условия оказывают существенное влияние на средние показатели фенотипической изменчивости у бюричины и маслины, способствуя повышению уровня флюктуирующей асимметрии. Различия в асимметрии возрастали с изменением степени загрязнения. В условиях высокого экологического риска возрастание этого показателя модификационной изменчивости достигало двукратного уровня. Нарушения, вызванные относительно более низким уровнем загрязнения, выражены в меньшей степени, но также были статистически достоверными (табл. 2). Таким образом, исследования, проведенные в натуральных условиях, также подтвердили тот факт, что показатель асимметрии билатерально представленных признаков может быть использован для биоиндикации качества окружающей среды и оценки степени экологического генетического риска.

Выводы. Установлена взаимосвязь между индуцированной наследственной и ненаследственной изменчивостью растений, оцениваемых по показателям аббераций хромосом у бобов *Vicia faba*, пшеницы *Triticum aestivum*, резушки *Arabidopsis thaliana*, и величиной флюктуирующей асимметрии билатеральных при-

знаков. Виявлено, що в умовах інтенсифікації забруднення оточуючої середовища показателі фенотипічної змінливості білатерально представлених ознак у *Ligustrum japonicum* Thund. і *Olea europaea*. Експериментально встановлено, що показателі флюктуючої змінливості білатеральних ознак листків рослин можуть служити індикаторами забруднення оточуючої середовища.

А.О. Мамедова

BIOINDICATION OF ENVIRONMENTAL QUALITY BASING ON PLANT MUTATIONAL AND MODIFICATION VARIABILITY

The level of mutations (aberrations of chromosomes, gene mutations) and modifications (bilateral asymmetry of the leaves) induced with NG (N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine) and granozane, as well as with environmental pollutants have been studied on *Vicia faba*, *Triticum aestivum*, *Arabidopsis thaliana*, *Ligustrum japonicum*, *Olea europaea*. The tested xenobiotic increased the level of mutations and modifications. The bilateral asymmetry is suggested as a test for environmental quality assessment.

А.О. Мамедова

БІОІНДИКАЦІЯ ЯКОСТІ ОТОЧУЮЧОГО СЕРЕДОВИЩА НА ОСНОВІ МУТАЦІЙНОЇ ТА МОДИФІКАЦІЙНОЇ МІНЛИВОСТІ РОСЛИН

Вплив ксенобіотиків середовища призводить до зростання частоти генних мутацій та аберацій хромосом, а також до підвищення рівня флюктуючої білатеральної асиметрії в тест-системах *Vicia faba*, *Arabidopsis thaliana*, а також рослин *Ligustrum japonicum* Thund, *Olea europaea* L., що культивуються в природних умовах. Цей вплив проявляється у вигляді випадкової мінливості індивідуального розвитку. В умовах модельних експериментів встановлено, що пошкодження генетичних структур хімічними токсикантами викликає, нарівні з хромосомними мутаціями, збільшення флюктуючої асиметрії білатерально представлених ознак в листі рослин як результат порушення регуляційних функцій генетичного апарату. Флюктуюча асиметрія є інформативним та доступним тестом для кількісної оцінки рівня порушень регуляційної функції генома. Показники асиметрії білатеральних ознак листя рослин можуть бути використані як критерій для виявлення ступеня екологічного ризику для генераційних та регуляційних функцій генетичного апарату.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Alekperov U.K. Genoprotective compounds and environmental quality management // Proc. EuroMAB UNESCO. – Rome, 2002. – P. 86–87.
2. Бочков Н.П., Чеботарев А.Н. Наследственность и мутагены внешней среды. – М.: Медицина, 1989. – 270 с.
3. Агабейли Р.А., Мамедова Н.Р. Генотоксиканты среды: риск, оценка и управление. – Баку: Елм, 2006. – 169 с.
4. Alekperov U.K. Compositional antimutagens as inhibitors of generational and regulational damages induced by multiple genotoxicants // Bull. Gen. Soc. Can. – 1994. – 25, № 1. – P. 51.
5. Алекперов У.К., Мамедова А.О., Гашимова У.Ф. и др. Антимутагенная модификация аббераций хромосом и флюктуяющей асимметрии // Докл. РАН. – 1992. – 365, № 3. – С. 602–605.
6. Логвиненко В.Ф. Мутагенные свойства гранозана // Молекулярные механизмы генетических процессов. Мутагенез и репарация. – М.: Наука, 1976. – С. 300–304.
7. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Колос, 1980. – 304 с.
8. Muller A. Embryonen test zum nachweis rezessiver letalfaktoren bei *Arabidopsis thaliana* // Biol. Zbl. – 1963. – 82, № 2. – P. 134–163.
9. Захаров В.М. Асимметрия у животных. – М.: Наука, 1987. – 212 с.
10. Sakai K.I., Shimamoto Y. Developmental instability in leaves and flowers on *Nicotiana tabacum* // Genet./US/ Res. – 1965. – 51, № 5. – P. 801–803.
11. Лакин Т.Ф. Биометрия. – М.: Высш. шк., 1990. – С. 43–45.
12. Тавил М.В., Шкварников П.К. О перестройках хромосом, индуцированных разными мутагенными факторами у мягкой пшеницы. Сообщ. 1 // Цитология и генетика. – 1980. – 14, № 1. – С. 28–32.
13. Королева Н.С., Касьяненко А.Г., Гальперина М.И. Генетические эффекты пестицидов на мицелиальные грибы рода *Verticillium* // Изв. АН Тадж ССР, отд. биол. наук. – Душанбе, 1988. – 187 с. (Деп. в ВИНТИ 27.01.88, № 787–888).
14. Инге-Вечтомов С.Г. Наследственная и ненаследственная изменчивость как функция генетического материала // Эволюционная генетика. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. – С. 2–34.
15. Environment in Azerbaijan // State Statistical Committee of the Republic of Azerbaijan. – Baku, 2007. – 285 p.

Поступила 26.02.08