

УДК 575.224.044

ИЗУЧЕНИЕ МУТАГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ТРИАЗИНОВЫХ ГЕРБИЦИДОВ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИМИ ТЕСТАМИ НА СЕМЕНАХ ЯЧМЕНЯ

Бозшатаева Г.Т., Оспанова Г.С., Турабаева Г.К., Кадрбаева А.Г., Турабаева Л.К.

*Южно-Казахстанский государственный университет им. М. Ауэзова, Шымкент,
e-mail: gulzat-1976@mail.ru*

Полученные результаты свидетельствуют о достаточно высокой степени мутагенности триазиновых гербицидов пропазина, атразина и симазина. Все три препарата индуцировали структурные нарушения хромосом с частотой, статистически значимо превышающей естественный уровень мутабельности. Анализ спектра абберации хромосом при изучении спонтанного мутационного процесса в клетках корешков ячменя показал, что возникают преимущественно изолюкусные разрывы, микрофрагменты и хроматидные изменения при полном отсутствии нарушений хромосомного типа. При обработке семян ячменя триазиновыми гербицидами индуцировались все типы структурных перестроек хромосом.

Ключевые слова: абберации хромосом, метафазные пластинки, триазиновые гербициды

STUDYING OF MUTAGEN EFFECT OF TRIAZINOVY HERBICIDES BY CYTOGENETIC TESTS ON BARLEY SEEDS

Bozchataeva G.T., Ospanova G.S., Tyraabaeva G.K., Kadrbaeva A.G., Tyraabaeva L.K.

South Kazakhstan State University from M. Auezov, Shymkent, e-mail: gulzat-1976@mail.ru

The received results testify to rather high degree of a mutagenicity the triazinovykh of herbicides of propazine, атразина and simazin. All three preparations induced structural violations of chromosomes with a frequency statistically significantly exceeding natural level of a mutabilnost. The analysis of a range of an aberration of chromosomes when studying spontaneous mutational process in cages of backs of barley showed that there are mainly izolokusny gaps, microfragments and hromatidny changes at total absence of violations of chromosomal type. When processing seeds of barley by triazinovy herbicides all types of restructurings of chromosomes were induced.

Keywords: aberrations of chromosomes, metaphase plates, triazinovy herbicides

Одним из ведущих направлений в изучении мутагенной активности пестицидов является генетико-гигиенические исследования. Важной составной частью этих исследований является первичный цитогенетический скрининг, позволяющий уже на начальных этапах работы выявить пестициды – мутагены, оценить их степень потенциальной генетической опасности и дать необходимые рекомендации их использования.

Известно, что применяемые в сельском хозяйстве дозы ряда пестицидов действуют подобно мутагенам, вызывая цитотоксический и отрицательный генетический эффект [2].

Для определения мутагенного и канцерогенного потенциала химических соединений в настоящее время существуют более 120 биологических тестов.

Сравнительно с тестами на животных и микроорганизмах, растительные тест-системы отличаются наибольшей чувствительностью к пестицидам-мутагенам, реагируя на их присутствие как в соматических, так и в генеративных клетках.

Актуальность использования растительных тест-систем обусловлена тем, что культурные и дикорастущие растения в первую очередь подвергаются воздействию хи-

мических загрязнителей, пестицидов, УФ и ионизирующего облучения.

Использование растительных объектов имеет следующие преимущества, которые делают их незаменимыми: растения, как и млекопитающие – эукариоты, а потому их реакция на мутагенное воздействие сходны, благодаря тотипотентности растительной клетки через регенерацию некоторые виды растений имеют короткий жизненный цикл и поэтому могут служить удобной генетической моделью, техника эксперимента которой отличается малыми сроками, простотой и дешевизной.

Цель исследования: изучение мутагенных и цитогенетических эффектов триазиновых гербицидов.

Материалы и методы исследования

В экспериментах были использованы воздушнo-сухие семена ячменя (*Hordeum vulgare* L.), сорта «Черниговский-5». Широкое использование семян ячменя для цитогенетических исследований объясняется прежде всего малым числом хромосом – всего 7 пар ($2n=14$). Хромосомы культурных ячменей довольно крупные, длина от 6 до 8 микрон. Две пары хромосом имеют по одному спутнику. Триазиновые гербициды атразин, пропазин и симазин использовали в виде водных растворов в концентрации 1 мг/мл. Обработка семян ячменя растворами гербицидов про-

должалась 6 часов. Контрольные семена одновременно погружали на этот же срок в дистиллированную воду. После обработки семена промывали проточной водопроводной водой в течение 30 минут, затем слегка подсушивали и проращивали в чашках Петри на фильтровальной бумаге, смоченной дистиллированной водой при $t = 25 \pm 1^\circ\text{C}$ в условиях термостата. За 3-4 часа до первой фиксации семена переносили в насыщенный водный раствор монобромнафталина.

Во всех вариантах проводили 3-4 фиксации с интервалом в 4 часа. Для фиксации брали только главные корешки, достигшие длины 7-8 мм длины. Экспериментальный материал фиксировали в смеси абсолютного спирта и ледяной уксусной кислоты (1:1). Через сутки фиксатор заменяли 70% спиртом. Окрашивание проводили водным раствором фуксинсернистой кислоты. После мацерации цитазой готовили давленные препараты. В каждом варианте опыта просматривали не менее 300 метафаз, в каждом корешке учитывали не более 50 клеток. Структурные мутации хромосом анализировали посредством метафазного метода в первом митозе меристематических клеток главных корешков на тотальных препаратах окрашенных водным раствором фуксинсернистой кислоты.

При анализе структурных мутаций хромосом учитывали не только общее количество нарушений, вызванных применяемыми в опыте соединениями, но также учитывали все типы хромосомных и хроматидных перестроек, изолюкусные разрывы и образование микрофрагментов.

Во всех случаях контролем служил естественный мутационный процесс, происходящий в семенах, не подвергшихся воздействию пестицидов.

Результаты исследования и их обсуждение

Обработка семян ячменя триазиновыми гербицидами индуцировала аберрации хромосом с частотой, достоверно превышающей естественный уровень мутирования.

Сравнительный анализ общей частоты метафаз со структурными нарушениями хромосом, индуцированными триазиновыми гербицидами, показал, что из трех

изучаемых препаратов наибольшей мутагенной активностью обладает пропазин ($14,47\% \pm 1,61\%$), наименьшей – атразин ($10,58\% \pm 1,29\%$).

Анализ спектра аберрации хромосом показал, что изучаемые триазиновые гербициды индуцируют все типы нарушений: хромосомные, хроматидные, изолюкусные разрывы и микрофрагменты (таблица).

В результате обработки семян ячменя триазиновыми гербицидами во всех вариантах опыта появлялись хромосомные перестройки, которые отсутствовали в контрольном варианте. Пропазин индуцировал структурные нарушения хромосом с частотой $1,05\% \pm 0,47\%$, которые были представлены дицентриками и центрическим кольцом. Статистически значимое увеличение выхода аберрантных клеток происходило главным образом за счет хроматидного типа, составивших $4,40 \pm 0,94$ на 100 метафаз, в контроле этот показатель был равен $0,94 \pm 0,34$ и изолюкусных разрывов в опытном варианте $7,13 \pm 1,18$, а в контроле $0,98 \pm 0,49$.

В случае атразина из 60 индуцированных структурных нарушений лишь 1 была зафиксирована как хромосомного типа, что составило $0,18 \pm 0,17$ на 100 метафаз. Доля нарушений хроматидного типа и изолюкусных разрывов примерно была равной. С наибольшей частотой, равной $4,05 \pm 0,83$ на 100 метафаз, появлялись микрофрагменты.

Обработка семян ячменя раствором симазина также индуцировала все типы аберрации хромосом. Увеличение уровня аберрантных клеток происходило главным образом за счет изолюкусных разрывов и хроматидных концевых делеций, которые соответственно составили $6,30 \pm 1,13$ и $3,25 \pm 0,83$ на 100 метафаз [1].

Спектр структурных нарушений хромосом индуцированных в семенах ячменя триазиновыми гербицидами

Варианты обработки	Количество метафаз	Всего перестроек	В том числе							
			Хромосомные		Хроматидные		Изолюкусные разрывы		Микрофрагменты	
			Число	На 100 метафаз	Число	На 100 метафаз	Число	На 100 метафаз	Число	На 100 метафаз
Контроль	410	13	-	-	2	$0,49 \pm 0,34$	4	$0,98 \pm 0,49$	7	$1,71 \pm 0,64$
Пропазин	477	69	5	$1,05 \pm 0,47$	21	$4,40 \pm 0,94$	34	$7,13 \pm 1,18$	9	$1,89 \pm 0,62$
Атразин	567	60	1	$0,18 \pm 0,17$	17	$3,00 \pm 0,72$	19	$3,35 \pm 0,76$	23	$4,05 \pm 0,83$
Симазин	460	54	3	$0,65 \pm 0,37$	15	$3,26 \pm 0,83$	29	$6,30 \pm 1,13$	7	$1,53 \pm 0,57$

Анализ полученных результатов свидетельствуют о достаточно высокой степени мутагенности триазиновых гербицидов пропазина, атразина и симазина. Все три препарата индуцировали структурные на-

рушения хромосом с частотой, статистически значимо превышающей естественный уровень мутабельности.

Анализ спектра аберрации хромосом при изучении спонтанного мутационного

процесса в клетках корешков ячменя показал, что возникают преимущественно изолюкусные разрывы, микрофрагменты и хроматидные изменения при полном отсутствии нарушений хромосомного типа.

При обработке семян ячменя триазиновыми гербицидами индуцировались все типы структурных перестроек хромосом.

Пропазин в использованной концентрации увеличивал выход аберрантных клеток главным образом за счет изолюкусных разрывов и хроматидных изменений. Кроме того, в данном варианте опыта появляются нарушения хромосомного типа, отсутствующие в контрольном варианте.

При использовании атразина наблюдалась аналогичная картина. Увеличение общей частоты хромосомных аберрации происходило за счет увеличения в равной степени выхода структурных перестроек хроматидного типа, изолюкусных разрывов и микрофрагментов. Наблюдались единичные случаи возникновения нарушений хромосомного типа.

Симазин повысил общую частоту мутирования по сравнению с контролем, главным образом, за счет повышения частоты изолюкусных разрывов и нарушений хроматидного типа. Также как и в случае с пропазином и атразином с наименьшей частотой

появлялись структурные аберрации хромосомного типа.

Таким образом, данные цитогенетических исследований, в которых обработка воздушно-сухих семян ячменя триазиновыми гербицидами индуцировала высокую частоту хромосомных нарушений, достоверно превышающую спонтанный уровень мутирования, подтверждают результаты экспериментов полученных нами ранее в тестах микроорганизмы/растения.

Выводы. По результатам проведенных исследований были сделаны следующие выводы:

Триазиновые гербициды пропазин, атразин и симазин в концентрации 1 мг/мл индуцировали в клетках корневой зародышевой меристемы ячменя структурные перестройки хромосом с частотой, достоверно превышающей спонтанный уровень мутирования.

Спектр структурных нарушений хромосом, индуцированных пропазином, атразином и симазином, был представлен всеми типами перестроек.

Список литературы

1. Бозшатаева Г.Т., Колумбаева С.Ж., Шигаева М.Х. Мутагенное действие триазиновых гербицидов на семена ячменя // Вестник КазГУ. Сер.биол. 2000. № 4. С.75-82.
2. Кесельман М.Л. Свободнорадикальные механизмы пестицидной интоксикации в эколого-гигиенических исследованиях. – М., 2007. – 298 с.