

УДК 504.054

DOI 10.18413/2712-7443-2020-44-1-113-120

Аккумуляция генотоксических соединений некоторыми компонентами водных и прибрежных экосистем Воронежского водохранилища

Е.Ю. Иванова

Воронежский государственный университет,
Россия, 394018, г. Воронеж, Университетская площадь, 1
E-mail: ivanova.vsu@gmail.com

Аннотация. Рассмотрено накопление генотоксических соединений в отдельных компонентах водных и прибрежных экосистем средней зоны Воронежского водохранилища. Проведен анализ накопления мутагенных и канцерогенных компонентов в образцах, отобранных в пяти точках, приуроченных к мостам. Оценены мутагенные индексы в воде, донном грунте, водорослях водной экосистемы, а также в почве, растениях и растительных насекомых в тех же точках в прибрежной зоне. Показано, что повышенной аккумуляции ксенобиотиков в водной среде характеризуют водоросли, которые способны накапливать химические соединения как метаболическим путем, так и адсорбцией на поверхности. В наземной среде повышенная аккумуляция генотоксических соединений ожидаемо отмечена в почве. Результаты исследования могут свидетельствовать о недостаточной очистке сточных вод, поступающих в Воронежское водохранилище.

Ключевые слова: Воронежское водохранилище, биоиндикация, аккумуляция, мутагены, тест Эймса, вода, водоросли, донный грунт, почва, растения, насекомые.

Благодарности: Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проект № 17-05-00569)

Для цитирования: Иванова Е.Ю. 2020. Аккумуляция генотоксических соединений некоторыми компонентами водных и прибрежных экосистем Воронежского водохранилища. Региональные геосистемы, 44(1): 113–121. DOI 10.18413/2712-7443-2020-44-1-113-120

The accumulation of genotoxic compounds some components of the aquatic and coastal ecosystems of the Voronezh reservoir

Ekaterina Y. Ivanova

Voronezh State University,
1 University square, Voronezh, 394018, Russia
E-mail: ivanova.vsu@gmail.com

Abstract. The concept of genotoxicity (genetic activity) includes any changes in the course of genetic processes under the influence of environmental factors. Assessment of the genetic activity of the latter is carried out through genetic test systems that are created on the basis of indicator species and genetic criteria for the damaging effects of biosystems at different levels their organization. The development of this approach in bioindication and biomonitoring, in particular, the state of the aquatic environment allows the assessment of genetic the activity of components of pollution of anthropogenic nature and make predictions regarding their long-term effects. The research material was samples of water, bottom soil, and algae in individual components of the water and coastal ecosystems of the Voronezh reservoir. Genotoxic compounds were found in all studied components of aquatic and near-water ecosystems of the



Voronezh reservoir. The most active xenobiotic accumulators in the aquatic environment are algae, and in the terrestrial – soil.

Keywords: Voronezh reservoir, bioindication, accumulation, mutagens, Ames test, water, algae, bottom sediments, soil, plants, insects.

Acknowledgements: The research was carried out with the financial support of the RFBR (project no. 17-05-00569)

For citation: Ivanova E.Y. 2020. The accumulation of genotoxic compounds some components of the aquatic and coastal ecosystems of the Voronezh reservoir. Regional Geosystems, 44(1): DOI: 10.18413/2712-7443-2020-44-1-113-120

Введение

Вода Воронежского водохранилища используются для водоснабжения технической водой промышленных предприятий и орошения пригородных сельскохозяйственных земель. Кроме того, воды Воронежского водохранилища при просачивании через слои под лежащих пород пополняют подземные водоносные горизонты, которые являются источником городского водоснабжения. В то же время водохранилище становится аккумулятором опасных для гидробионтов загрязнителей, которые поступают со сточными водами промышленных предприятий Воронежа, а также городов, расположенных выше по течению, таких как Липецк, Грязи, Мичуринск, Усмань. В водохранилище поступают ливневые воды, стекающие с селитебных и промышленных зон города. В период весеннего снеготаяния также поступают талые снеговые воды, которые активно вымывают загрязнители из воздуха, а также содержат высокие концентрации противогололедных реагентов.

На качество водных ресурсов существенно влияют оседающие на дно взвешенные частицы и донные отложения. В донных отложениях часть веществ может захораниваться и исключаться из биотических круговоротов, но многие соединения могут вымываться и вновь поступать в воду, таким образом формируя вторичное загрязнение.

Одним из значимых загрязнителей экосистем являются генотоксические соединения. Этим общим названием обозначают различные по химической природе и механизму действия соединения, способные вызывать повреждения генетического аппарата клеток. Если повреждения происходят в генеративных клетках, то, как правило, вызываемый эффект мутагенный, то есть отклонения чаще наблюдаются в последующих поколениях. Если повреждаются соматические клетки, то эффект канцерогенный, то есть поврежденные клетки получают способность неконтролируемо размножаться. Для большинства мутагенных ксенобиотиков показан и канцерогенный эффект [Томилина, Комов, 2002; Протасов, 2012; Иванова, Скрипкина, 2016; Иванова 2017]. Генотоксические соединения в большинстве абсолютно чужеродны для живых систем, поэтому организмы не имеют эффективной системы детоксикации и выведения данных ксенобиотиков. Поэтому мутагенные и канцерогенные соединения активно накапливаются в живых организмах, а потому способны вызывать нежелательные эффекты даже при незначительном содержании в абиотических компонентах среды. Химическое разнообразие соединений с генотоксическим действием и низкие действующие концентрации сильно затрудняет их химическое определение в биологических тканях. Кроме того, химическими методами невозможно определить, обладает ли то или иное вещество канцерогенными и мутагенными свойствами. Поэтому ведущими методами определения генотоксических соединений является биотестирование [Бакаева 2008; Мелехова, 2008; Александрова, 2009].

Оценка аккумуляции накопления генотоксических соединений в различных компонентах водных и прибрежных экосистем Воронежского водохранилища проводится регулярно с 1990 года с периодичностью 5–7 лет. В статье приведены результаты одного из этапов последнего исследования.

Объекты и методы исследования

Для оценки генотоксической активности соединений различного происхождения и назначения (в том числе лекарственных препаратов, пищевых добавок, БАДов) в мире используются биологические методы [Ильницкий, 1979; Котелевцев, 1986; Никаноров, 2000; Смолянинов, 2007; Воронцов, Николаевская, 2011; Орлов, 2012]. Самыми простыми и эффективными являются бактериальные тесты, в которых в качестве тест-организмов используют генномодифицированные бактерии. В бактериальных клетках молекула ДНК не отделена мембраной, что облегчает доступ мутагенных соединений к генетической информации. Кроме того, бактерии способны к быстрому делению, что позволяет получать результаты действия веществ на несколько поколений потомков в течении двух-трех суток. Однако у бактерий отсутствуют ферментативные системы метаболизма ксенобиотиков, характерные для млекопитающих. Для моделирования в тестах процессов, происходящих в печени, в часть экспериментальных чашек добавляют специально подготовленные вытяжки из печени лабораторных крыс, индуцированных инъекцией стандартного промутагена. В нашем исследовании применен тест Эймса сальмонелла (микросомы).

Для оценки аккумуляции генотоксических соединений в отдельных компонентах водных и прибрежных экосистем Воронежского водохранилища летом 2017 года в десяти точках средней части были отобраны образцы воды, донного грунта и водорослей (*Chara foetida*), а также почва, высшие растения (*Achillea millefolium L.*) и насекомые (*Orthoptera*). Точки отбора проб были приурочены к основным мостам, пересекающим среднюю зону водохранилища (рис. 1).

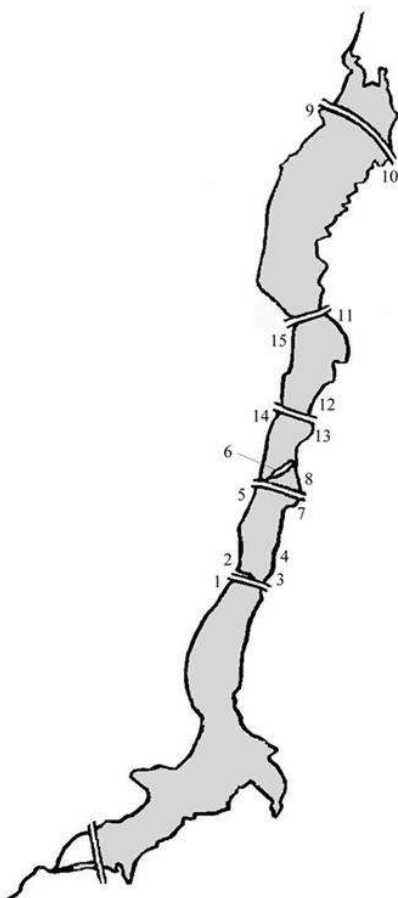


Рис. 1. Схема отбора проб на среднем участке Воронежского водохранилища
Fig. 1. Sampling scheme in the middle section of the Voronezh reservoir



Экстракцию аккумулярованных в образцах ксенобиотиков осуществляли по стандартной для данного теста методике с использованием смеси растворителей гексан-ацетон [Метелев, 1971; Ames et al., 1975; Крайнюкова, 1988; Иванова и др., 2001]. После их выпаривания осадок растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО), который не оказывает токсического действия на тестерные штаммы.

Подготовленные экстракты проб исследовали в тесте Эймса сальмонеллы (микросомы) на двух штаммах сальмонеллы TA 98 и TA 100, учитывающих, соответственно, мутации типа сдвига рамки считывания и замены оснований [Фонштейн, 1977; Ames et al., 1975; Ильницкий и др., 1993; Майстренко и др., 1996; Руководство по определению..., 2002; Филенко, 2007].

Результаты экспериментов приведены в виде мутагенных индексов (МИ), отражающих отношение числа колоний ревертантов сальмонеллы, выросших в присутствии экстрактов из исследованных образцов, к количеству колоний в чашках с растворителем (ДМСО). Кроме этого, в качестве контроля использовали дистиллированную воду. Мутагенный эффект считали значимым для МИ не ниже 2.

Результаты и их обсуждение

Генотоксическая активность в данном эксперименте была обнаружена в экстрактах всех видов отобранных образцов [Иванова, 2001; 2017]. Наиболее часто мутагенная активность выявлялась на штамме сальмонеллы TA 98, учитывающем мутации типа сдвига рамки считывания. В околородных экосистемах (рис. 2) наиболее часто мутагенный эффект в тесте Эймса проявляли экстракты почвы (33,3 % от всех исследованных проб).

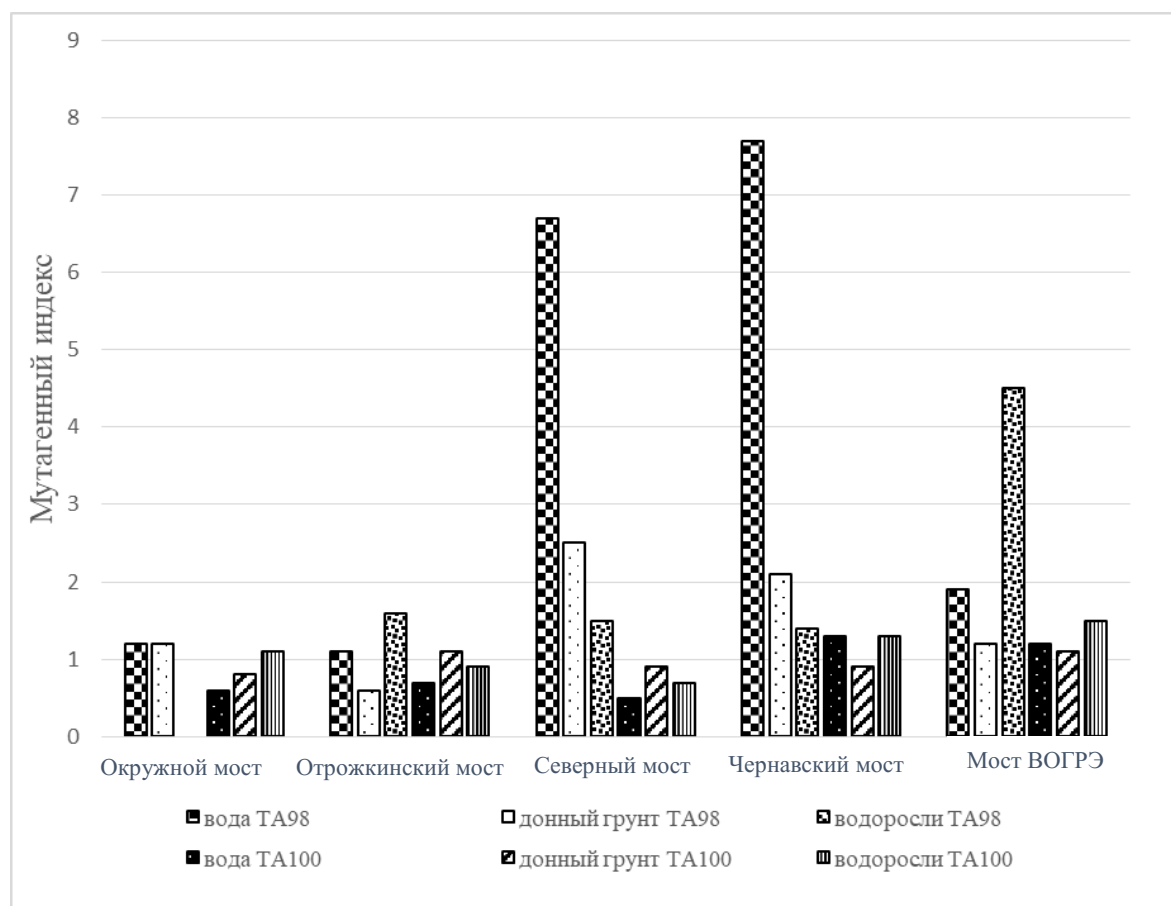


Рис. 2. Прямая мутагенная активность экстрактов отдельных компонентов прибрежных экосистем в тесте Эймса на штаммах сальмонеллы TA 98 и TA 100
 Fig. 2. Direct mutagenic activity of extracts of individual components of coastal ecosystems in the Ames test on strains of Salmonella TA 98 and TA 100

Подобные результаты можно объяснить высокой аккумулирующей способностью почвы по отношению ко всем видам загрязнителей. Почва способна не только активно накапливать ксенобиотики, но и препятствовать их дальнейшей миграции. Подобные свойства почвы выявлены и в нашем исследовании: только в половине экстрактов растений, собранных на загрязненных почвах, удалось выявить мутагенную активность. Причем мутагенные индексы экстрактов растений были ниже, чем мутагенные индексы экстрактов почвы в тех же точках. Можно предположить, что значительная часть генотоксических соединений, аккумулированных почвой, находится в форме соединений, недоступных для усвоения растениями. Травоядные насекомые являются следующим звеном в пищевой цепи, и можно было предположить, что исследование их экстрактов позволит выявить накопление мутагенных соединений в изучаемых экосистемах. Однако в нашем исследовании не удалось обнаружить подобной закономерности. Лишь 8 % всех исследованных экстрактов травоядных насекомых обнаружили мутагенный эффект в тесте Эймса. Причем обнаруженное накопление генотоксических соединений тканями травоядных насекомых (ВОГРЭС) не соответствует накоплению тех же соединений растениями (Чернавский и Северный мосты). Возможно, обнаруженные соединения относятся к различным классам и по разному метаболизируются ферментными детоксицирующими системами растений и насекомых. В водных экосистемах характер накопления генотоксических соединений отличался от наземной среды (табл., рис. 3).

Прямая мутагенная активность экстрактов исследованных компонентов экосистем в различных зонах средней части Воронежского водохранилища
Direct mutagenic activity of extracts of studied components of ecosystems in different zones of the middle part of the Voronezh reservoir.

Мосты, Тестерные штаммы	Вода	Донный грунт	Водоросли	Почва	Растения	Насекомые	Доля проб, проявивших мутагенный эффект к общему числу проб, %
Окружной мост							8,3
ТА98	1,2	0,9	3,3	1,2	1,1	1,8	16,6
ТА 100	0,8	0,7	0,8	0,6	0,8	1,1	0
Отрожкинский мост							16,6
ТА98	0,7	0,5	6,9	1,1	0,5	1,6	16,6
ТА 100	2,2	0,6	0,8	0,7	1,1	0,9	16,6
Северный мост							41,6
ТА98	1,3	1,4	2,1	6,7	2,4	1,5	50
ТА 100	3,6	0,6	4,3	0,5	0,9	0,7	33,3
Чернавский мост							33,3
ТА98	0,7	3,3	2,1	7,7	2,1	1,4	66,6
ТА 100	0,5	0,6	0,7	1,4	0,9	1,3	0
Мост ВОГРЭС							41,6
ТА98	0,9	3,8	4,4	2,0	1/2	4,5	66,6
ТА 100	0,7	0,7	2,5	1,2	1,1	1,5	16,6

В экстрактах воды были обнаружены генотоксические соединения, проявляющие прямой мутагенный эффект на штамме сальмонеллы ТА 100, выявляющем мутации типа замены оснований. Подобные соединения обнаружены в районе Отрожкинского и Северного мостов. Донный грунт, традиционно считающийся сильным накопителем загрязнений, в нашем исследовании не проявил значительной аккумуляции ксенобиотиков. Только в 16 % всех исследованных экстрактов донного грунта удалось выявить мутагенный

эффект на штамме ТА 98. Такую слабую аккумуляцию можно объяснить тем, что донный грунт в исследованных точках представлен песком, из которого ксенобиотики легко вымываются.

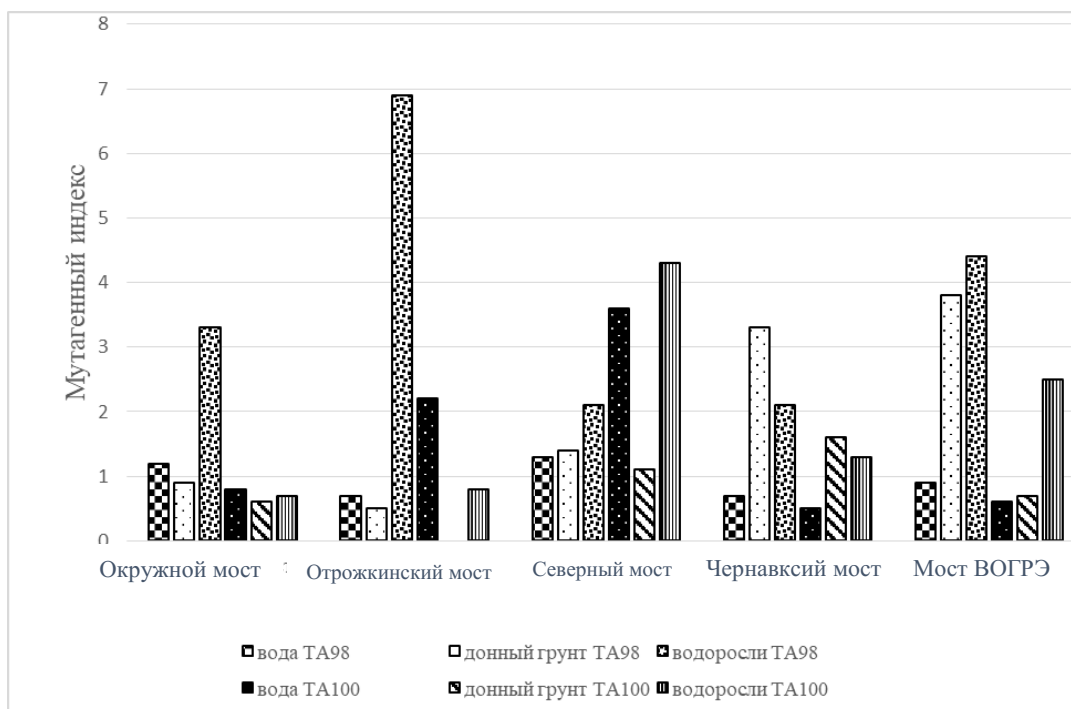


Рис. 3 Прямая мутагенная активность экстрактов отдельных компонентов водных экосистем в тесте Эймса на штаммах сальмонеллы ТА 98 и ТА 100

Fig. 3 Direct mutagenic activity of extracts of individual components of aquatic ecosystems in the Ames test on strains of Salmonella TA 98 and TA 100

Наиболее значительное накопление мутагенных соединений обнаружено в нашем исследовании в водорослях рода Chara. В 58 % исследованных экстрактов обнаружены генотоксические соединения, выявляющие мутагенный эффект на обоих тестерных штаммах сальмонеллы. Причем ксенобиотики, вызывающие мутации типа замены оснований (штамм ТА 98), выявлены во всех точках исследования. В районах Северного моста и моста ВОГРЭС в экстрактах присутствуют мутагенные соединения, вызывающие мутации обоих тестерных штаммов. Если рассмотреть результаты, расположив точки отбора проб по течению Воронежского водохранилища от верхних к нижним, то можно отметить возрастание генотоксического загрязнения. В районе Окружного моста только около 8 % исследованных проб обнаруживают мутагенный эффект на обоих тестерных штаммах сальмонеллы, а в районах Северного моста и моста ВОГРЭС доля положительных проб – 41,6 %. Интересно, что в районе Чернавского моста наблюдается уменьшение доли мутагенных экстрактов к общему числу исследованных (20,8 %). Можно предположить, что мутагенные ксенобиотики не просто накапливаются по направлению стока водохранилища, но и поступают в этих точках в некотором дополнительном количестве, что регистрируется в тесте Эймса.

Выводы

Методы биотестирования позволяют определить не только содержание отдельных ксенобиотиков, но и синергические эффекты, а также результаты трансформации соединений под действием различных факторов среды. В результате проведенного исследования показано, что генотоксические соединения обнаружены во всех изученных компонентах водных и околоводных экосистем Воронежского водохранилища. Наиболее активными аккумуляторами ксенобиотиков в водной среде являются водоросли, а в наземной – почва. Частота обнаружения мутагенного эффекта в различных компонентах экосистем возрастает по направлению стока водохранилища. Наибольшее количество экстрактов,

которые выявляют мутагенную активность, зафиксировано в районе Северного моста и моста ВОГРЭС. Результаты нашего исследования могут свидетельствовать о недостаточной очистке сточных вод. Кроме того, в водохранилище поступают стоки ливневой канализации, которая вовсе не подвергается очистке. В условиях возрастания количества автомобилей учащается использования противогололедных реагентов, которые, в свою очередь, попадают в ливневые стоки и становятся значительными источниками загрязнения.

Накопление в экосистеме Воронежского водохранилища генотоксических соединений может привести к большому сокращению видового разнообразия в результате возникновения неблагоприятных мутаций и канцерогенеза гидробионтов.

Список литературы

1. Александрова В.В. 2009. Применение метода биотестирования в анализе токсичности природных и сточных вод. Нижневартовск, Изд-во Нижневарт. гуманит. ун-та, 94 с.
2. Бакаева Е.Н. 2008. Оценка токсичности вод методом биотестирования: вопросы методического обеспечения. Материалы конференции Экология. Экономика. Информатика. Ростов-на-Дону, Изд-во «ЦВВР»: 93–95.
3. Воронцов А.И., Николаевская Н.Г. 2011. Вопросы экологии и охраны водной среды. М., Инфра-М, 98 с.
4. Иванова Е.Ю. 2017. Мониторинг генотоксического загрязнения Воронежского водохранилища. Германия, LAP, 60 с.
5. Иванова Е.Ю., Скрипкина А.В. 2016. Оценка химических и токсикологических свойств воды участка реки Хопёр. Вестник Воронежского гос. ун-та. Серия География. Геоэкология, 2: 67–72.
6. Иванова Е.Ю., Родионова М.В., Родионов В.В. 2001. Аккумуляции генотоксических соединений некоторыми компонентами водных и околоводных биогеоценозов Воронежского водохранилища. Сборник «Труды молодых ученых ВГУ», 3: 245–252.
7. Ильницкий А.П. 1979. О распределении канцерогенных углеводородов в пресноводных водоемах. М., Наука, 236 с.
8. Ильницкий А.П., Королев А.А., Худoley В.В. 1993. Канцерогенные вещества в водной среде. М., Наука, 219 с.
9. Котелевцев С.В. 1986. Эколого-токсикологический анализ на основе биологических мембран. М., МГУ. 68 с.
10. Крайнюкова А.Н. 1988. Биотестирование в охране вод от загрязнения. Методы биотестирования вод. Черноголовка: 4–14.
11. Майстренко В.Н., Хамитов Р.З., Будников Г.К. 1996. Экологический мониторинг суперэкоотоксикантов. М., Химия, 320 с.
12. Мелехова О.П. 2008. Биологический контроль окружающей среды. Биоиндикация и биотестирование. М., Издательство Академия. 288 с.
13. Метелев В.В. 1971. Водная токсикология. М., Пищевая промышленность, 248 с.
14. Никаноров А.М. 2000. Мониторинг качества вод: оценка токсичности. Санкт-Петербург, Гидрометеоиздат, 156 с.
15. Орлов Д.С. 2012. Экология и охрана гидросферы при химическом загрязнении. М., Высшая школа, 167 с.
16. Протасов В.Ф. 2012. Экология, здоровье и охрана водной среды в России. М., Финансы и статистика, 289 с.
17. Руководство по определению методов биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов. М., РЭФИА, НИА-Природа, 2002, 36 с.
18. Смольянинов В.М. 2007. Эколого – гидрологическая оценка состояния речных водосборов Воронежской области. Воронеж, Истоки, 98 с.
19. Томилина И.И., Комов В.Т. 2002. Донные отложения как объект токсикологических исследований (обзор). Биология внутренних вод, 2: 20–26.
20. Филенко О.Ф. 2007. Биологические методы в контроле качества окружающей среды. Экологические приборы и системы, 6: 18–20.
21. Фонштейн Л.М. 1977. Тест-система оценки мутагенной активности загрязнителей атмосферы на *Salmonella*. М., Изд-во МГУ, 107 с.
22. Ames B.N., McCann J., Yamasaki E. 1975. Method for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella/mammalian* microsomes mutagenicity test. Mutation Research. Environmental Mutagenesis and Related Subjects, 31: 347–364.



References

1. Alexandrova V.V. 2009. Application of the method of biotesting in the analysis of toxicity of natural and wastewater. Nizhnevartovsk, publishing house of Signiert. gumanit. Univ, 94 p. (in Russian)
2. Bakaeva E.N. 2008. Assessment of water toxicity by biotesting: issues of methodological support. Materials of the conference Ecology. Economy. Informatics. Rostov-on-don, Publishing house "CVVR": 93–95. (in Russian)
3. Vorontsov A.I., Nikolaev N.G. 2011. Issues of ecology and protection of the aquatic environment. Moscow, Infra-M, 98 p. (in Russian)
4. Ivanova E.Yu. 2017. Monitoring of genotoxic pollution of the Voronezh reservoir. Germany, LAP, 60 p. (in Russian)
5. Ivanova E.Yu., Skripkina A.V. 2016. Assessment of chemical and Toxicological properties of the water section of the river hopper. Bulletin of the Voronezh state University. Series Geography. Geocology, 2: 67–72. (in Russian)
6. Ivanova E.Yu., Rodionova M.V., Rodionov V.V. 2001. The accumulation of genotoxic compounds some components of aquatic and semi-aquatic ecosystems of the reservoir. Collection "Works of young scientists of VSU", 3: 245–252. (in Russian)
7. Ilnitsky A.P. 1979. O raspredelenii kantserogennykh uglevodorodov v presnovodnykh vodoyemakh [On the distribution of carcinogenic hydrocarbons in freshwater]. Moscow, Science, 236 p.
8. Ilnitsky A.P., Korolev A.A., Khudoley V.V. 1993. Kantserogennyye veshchestva v vodnoy srede [Carcinogenic substances in the aquatic environment]. Moscow, Science, 219 p.
9. Kotelevtsev S.V. 1986. Ekologo-toksikologicheskiy analiz na osnove biologicheskikh membran [Ecological and Toxicological analysis based on biological membranes]. Moscow, Moscow state University, 68 p.
10. Krainyukova A.N. 1988. Biotesting in the protection of water from pollution. Methods of biotesting water. Chernogolovka: 4–14. (in Russian)
11. Maistrenko V.N., Khamitov R.Z., Budnikov G.K. 1996. Ekologicheskiy monitoring superekotoksikantov [Ecological monitoring of superecotoxicants]. Moscow, Chemistry, 320 p.
12. Melekhova O.P. 2008. Biological control of the environment. Bioindication and biotesting. Moscow, Publishing house Academy, 288 p. (in Russian)
13. Metelev V.V. 1971. Vodnaya toksikologiya [Aquatic toxicology]. Moscow, Food industry, 248 p.
14. Nikanorov A.M. 2000. Monitoring of water quality: evaluation of the toxicity. Saint-Petersburg, Gidrometeoizdat, 156 p.
15. Orlov D.S. 2012. Ecology and protection of the hydrosphere in chemical pollution. Moscow, Higher school, 167 p. (in Russian)
16. Protasov V.F. 2012. Ecology, health and protection of the aquatic environment in Russia. M., Finance and statistics, 289 p. (in Russian)
17. Guidelines for determining methods of biotesting toxicity of water, sediments, pollutants and drilling fluids. Moscow, REFIA, NIA-Nature, 2002, 36 p. (in Russian)
18. Smolyaninov V.M. 2007. Ecological and hydrological assessment of the river catchments of the Voronezh region. Voronezh, Sources, 98 p. (in Russian)
19. Tomilina I.I., Komov V.T. 2002. Sediments as an object of Toxicological studies (review). Biology of internal waters, 2: 20–26. (in Russian)
20. Filenko O.F. 2007. The Biological methods in the control of environmental quality. Environmental instruments and systems, 6: 18–20. (in Russian)
21. Fonstein L.M. 1977. Test-system of evaluation of mutagenic activity of atmospheric pollutants on Salmonella. Moscow, Moscow state University Publ., 107 p.
22. Ames B.N., McCann J., Yamasaki E. 1975. Method for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian microsomes mutagenicity test. Mutation Research. Environmental Mutagenesis and Related Subjects, 31: 347–364.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ

Иванова Е.Ю., кандидат биологических наук, доцент кафедры геоэкологии и МОС факультета Географии, Геоэкологии и Туризма Воронежского государственного университета, г. Воронеж, России

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Ekaterina Yu Ivanova., candidate of biological Sciences, associate Professor of the Department of Geocology and MOS of the faculty of Geography, Geocology and Tourism of Voronezh state University, Voronezh, Russia