

Предварительные данные по изучению воздействия ионов кадмия на морфофункциональные характеристики политенных хромосом *Glyptotendipes glaucus* Mg. (Diptera, Chironomidae)

ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России, кафедра общей биологии, фармакогнозии и ботаники

Научный руководитель: д.б.н. Дурнова Н.А.

Резюме

Проанализированы результаты эксперимента по влиянию ионов кадмия различных концентраций на морфофункциональные характеристики политенных хромосом *Glyptotendipes glaucus* и проведено сравнение полученных результатов с результатами по воздействию тяжелых металлов на хромосомы *Chironomus plumosus*. Установлено, что полученные данные по *G. glaucus* согласуются с данными по *Ch. plumosus*, поэтому личинки *G. glaucus* также подходят в качестве тест-объекта для анализа влияния солей тяжелых металлов на морфофункциональные характеристики политенных хромосом.

Ключевые слова: политенные хромосомы, *Glyptotendipes glaucus*, тяжелые металлы, кадмий

Введение

Тяжелые металлы относятся к наиболее распространенным поллютантам водной и почвенной среды, по токсичности занимая второе место после пестицидов. В настоящее время существует множество методов выявления и оценки генотоксичности химических веществ. Методика определения уровней токсичности вещества предусматривает проведение токсикологических исследований на тест-организмах — представителях различных трофических звеньев экологической системы, развитие и размножение которых связано с донными грунтами. В качестве тест-объектов используют бактерии, водоросли, простейших, ракообразных, моллюсков, бентосоядных рыб, а также личинки насекомых [1]. Личинки хирономид обладают несколькими особенностями, благодаря которым они являются удобным тест-объектом для исследования генотоксичности: имеют крупные политенные хромосомы; легче, чем другие водные организмы, способны накапливать тяжелые металлы и другие вещества внутри своего тела, благодаря высокой проницаемости покровов. В связи с этим, актуально проводить оценку воздействия тяжелых металлов при использовании в качестве тест-объекта личинок хирономид, таких как *Chironomus dorsalis*, *Ch. plumosus*, *Ch. thummi*, *Ch. riparius* и др. [1, 2].

Цель: изучить влияние ионов кадмия различных концентраций на функциональную активность политенных хромосом фитотфильного вида хирономид – *Glyptotendipes glaucus*.

Материал и методы

В качестве модельного объекта был выбран *G. glaucus*, личинки которого являются более удобными для экспериментальных исследований по сравнению с видами *Chironomus*, такими как *Ch. plumosus*, использовавшимися ранее (Табл.1).

Личинок *G. glaucus*, собранных в природе, помещали в растворы нитрата кадмия трех концентраций (0,01; 0,02; 0,5 мг/л) и в дехлорированную воду (контроль). Рабочие растворы готовили непосредственно перед началом исследований разведением стандартного 1М раствора нитрата кадмия. Емкости с личинками и фиксирующим раствором хранили при пониженной температуре (+4°C). Экспозиция составила 12 часов, по окончании времени эксперимента в течение одной минуты личинок высушивали на фильтровальной бумаге, а затем фиксировали в смеси этанола, уксусной кислоты в соотношении 3:1. Из клеток слюнных желез (у каждой особи исследовалось по 10 клеток) готовили давленные препараты политенных хромосом и анализировали их с помощью микроскопа PrimoStarCarlZeiss с использованием фотокамеры AxioCamERc5s при увеличениях 16×40 и 16×100. Для анализа была использована фотокарта политенных хромосом *G. glaucus* [5].

Функциональную активность (ФА) политенных хромосом оценивали посредством вычислений: индекса компактности хромосом (CR) — отношения абсолютной длины плеча F хромосомы III к ширине её центромеры [6] [7]; коэффициента генетической активности ядрышкового организатора (NOR) — отношения максимального диаметра ядрышка к ширине интактного района 6 хромосомы IV; коэффициента генетической активности кольца Бальбиани (BRR) — отношение максимального диаметра кольца Бальбиани к ширине интактного района 6 хромосомы IV [8].

Таблица 1. Сравнение личинок *Chironomus plumosus* и *Glyptotendipes glaucus*

Характеристика	<i>Chironomus plumosus</i> (бентосный вид)	<i>Glyptotendipes glaucus</i> (фитотфильный вид)
Место обитания	Обитают на дне водоема, поэтому при проведении хронического эксперимента (месяц и более) необходимо добавление грунта к анализируемому раствору ксенобиотика [3, 4].	Заселяют прибрежно-водную растительность и любые погруженные субстраты, поэтому добавление грунта в тестируемый раствор ксенобиотика не требуется, что делает результаты эксперимента более достоверными.
Доступность для массового сбора	Доступен для массового сбора только в определенный период времени (с января по март).	Доступен для массового сбора практически круглогодично.

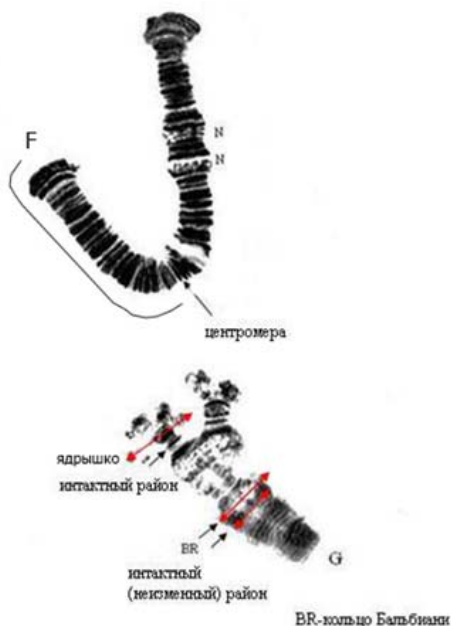


Рисунок 1. Политенные хромосомы III и IV в кариотипе *G. glaucus* [5]

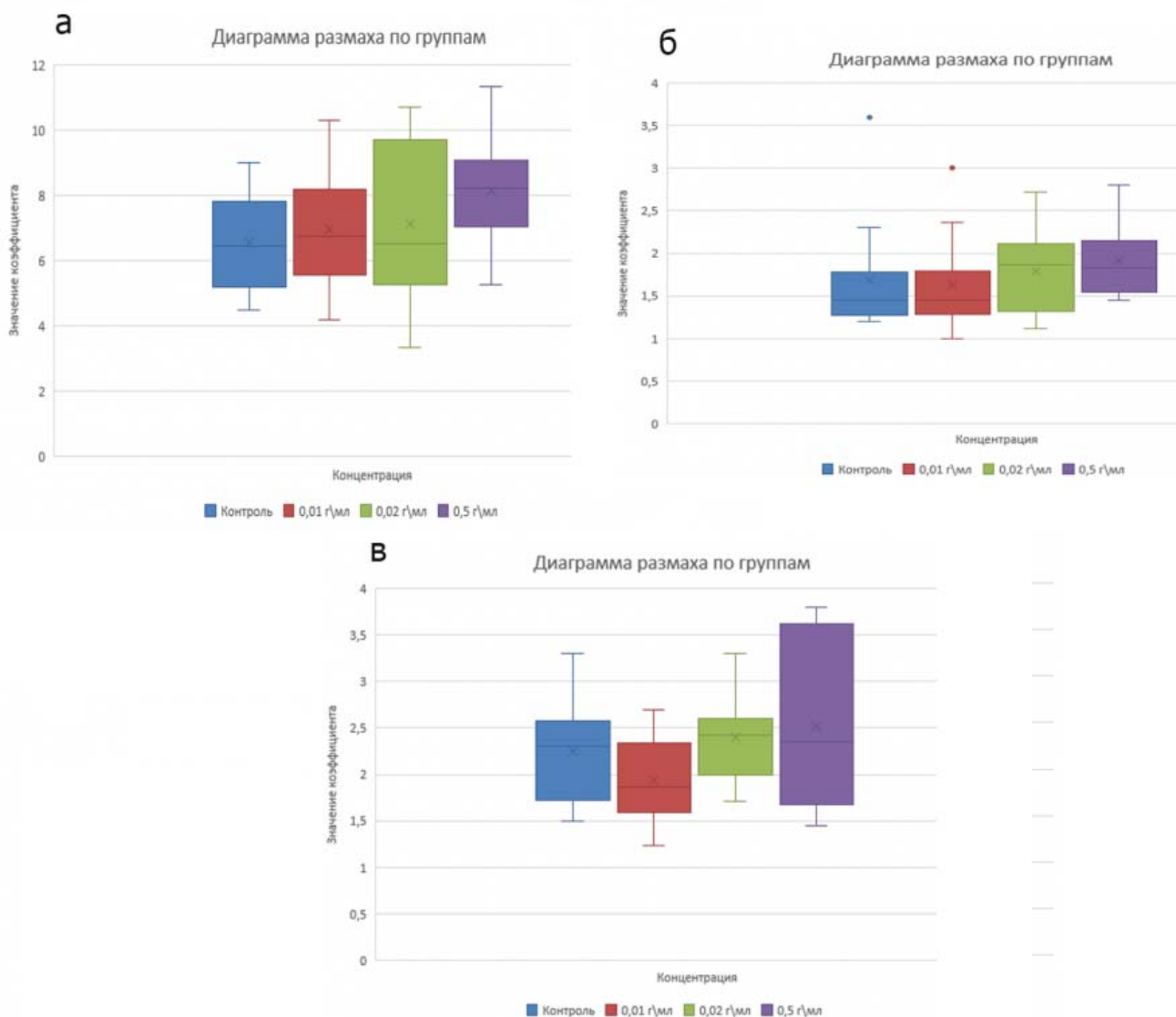


Рисунок 2. Распределение значений CR (а), распределение значений BRR (б), распределение значений NOR (в) при воздействии раствора $Cd(NO_3)_2$ в разных концентрациях

Результаты и обсуждение

При увеличении концентраций раствора $Cd(NO_3)_2$ по сравнению с контролем происходили незначительные изменения морфофункциональных характеристик политенных хромосом *G. glaucus*.

1. Значение коэффициента CR: при концентрации 0.01 мг/л от 4,2 до 10,3 ($\pm 6,953$); при концентрации 0.02 мг/л от 3,33 до 10,7 ($\pm 7,126$); при концентрации 0.5 мг/л от 5,26 до 11,33 ($\pm 8,144$). Возрастание значений CR (рис. 2 а), наблюдаемое в ходе эксперимента, свидетельствует об увеличении длины плеча F хромосомы III под влияние ионов кадмия.
2. Значения коэффициента BRR: при концентрации 0.01 мг/л от 1,0 до 3,0 ($\pm 1,624$); при концентрации 0.02 мг/л от 1,12 до 2,72 ($\pm 1,798$); при концентрации 0.5 мг/л от 5,26 до 11,33 ($\pm 8,144$). Наблюдалось увеличение средних значений BRR (рис. 2 б), что может свидетельствовать об увеличении диаметра кольца Бальбиани.
3. Значения коэффициента NOR: при концентрации 0.01 мг/л варьировали от 1,24 до 2,7 ($\pm 1,939$); при концентрации 0.02 мг/л варьировали от 1,71 до 3,3 ($\pm 2,399$); при концентрации 0.5 мг/л варьировали от 1,45 до 3,8 ($\pm 2,512$). Наблюдалось увеличение средних значений NOR (рис. 2 в), что может свидетельствовать об увеличении диаметра ядрышка.

В целом произошло незначительное уменьшение компактности ПХ и увеличение ФА хромосом, что может указывать на генотоксичность раствора нитрата кадмия. Согласно динамике биоаккумуляции личинками хирономид металлов, наименьшая компактность наблюдалась при максимальном уровне содержания ионов металлов в тканях.

Заключение

Сравнение результатов влияния тяжелых металлов на *Ch. plumosus* и *G. glaucus* показало, что эти данные согласуются, поэтому можно сделать вывод о том, что личинки *G. glaucus* также подходят в качестве тест-объекта для анализа влияния солей тяжелых металлов на морфофункциональные характеристики политенных хромосом. Однако по сбору в живой природе и постановке эксперимента этот фитофильный вид более удобен для использования в качестве тест-объекта по сравнению с бентосным *Ch. plumosus*.

Литература

1. Михайлова Л. В., Князева Т. С. Временное методическое руководство по нормированию уровней содержания химических веществ в донных отложениях поверхностных водных объектов (на примере нефти). // НИА - Природа. Москва, 2002. 4 с.
2. Белоногова Ю.В. Экологические последствия влияния тяжелых металлов на гидробионтов.: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Волгоград, 1999. 23 с.
3. Беянина С.И., Кузьмина К.А., Сигарева Л.Е. Гигантские хромосомы хирономид как тест-объект для оценки токсических эффектов пестицидов на гидробионтов // «Оценка и классификация качества поверхностных вод для водопользования»: Тез. сообщ. Всес. конф. Харьков, 1979. С. 103.
4. Федорова И.А., Полуконова Н.В. Оптимизация методов анализа токсикологических и цитогенетических эффектов лекарственных препаратов на *Chironomus* (Diptera) in vivo в остром эксперименте. Материалы II Международной научно-практической конференции «экология биосистем: проблемы изучения, идентификации и прогнозирования». 25-30 августа 2009. Астрахань. 2009. С. 67-74.
5. Беянина С.И., Дурнова Н.А. Морфология и хромосомы фитофильного *Glyptotendipes glaucus* (Diptera, Chironomidae) из водоемов Саратовской области. II. Кариотипический анализ // Зоологический журн. Т.77, №2. 1998. С. 243-251.
6. Ильинская Н.Б. Характеристика политенных хромосом различной степени компактности у личинок природной популяции хирономуса // Цитология. 1984. Т. 26. № 5. С. 543-551.
7. Ильинская Н. Б. Согласованность изменений компактности политенных хромосом и их плеч в клетках слюнных желез при акклимации личинок мотыля к различным температурам // Цитология. 1990. Т. 32. № 10. С. 993- 1001.
8. Фёдорова И. А., Полуконова Н. В. Цитогенетические эффекты холинотропных препаратов при комбинированном действии на личинок *Chironomus plumosus* (Diptera) in vivo // Цитология, 2009. Том 51, № 10. С. 849 – 855.