

УДК 575.224.23:599.323.4

С.Ж. Колумбаева, Д.А. Бегимбетова, А.В. Ловинская, А.М. Калимагамбетов
**Хромосомная нестабильность у грызунов с загрязненных фенилпиразолами
территорий Южно-Казахстанской области**

Казахский национальный университет им. аль-Фараби,
Научно-исследовательский институт проблем экологии, Казахстан, г. Алматы,
E-mail: S_kolumb@mail.ru

Аннотация. Установлена цитогенетическая нестабильность для *Citellus fulvus* в загрязненных фенилпиразолами биотопах, проявляющаяся в повышении частоты структурных и геномных мутаций. В спектре структурных нарушений хромосом преобладают перестройки хроматидного типа, что свидетельствует о наличии в окружающей среде мутагенного фактора химической природы.

Ключевые слова: *Citellus fulvus*, фенилпиразол, хромосомы, мутация.

В связи с интенсивным развитием сельского хозяйства возрастает потребность в производстве и применении новых классов пестицидов, которые в большинстве своем действуют подобно мутагенам [1, 2]. Применение пестицидов приводит к истреблению не только целевых, но и многих других полезных видов насекомых. Кроме того, это приводит к возникновению устойчивых к пестицидам популяций видов-вредителей и негативному действию на генетический аппарат живых организмов [3, 4]. Однако применение пестицидов неизбежно, так как обусловлено экономической необходимостью.

В Казахстане в последние годы широко используют для борьбы с саранчовыми и другими вредителями инсектициды нового поколения, относящиеся к классу фенилпиразолов, основным действующим веществом которых является фипронил [5]. Установлено, что в природной среде и в организме млекопитающих фипронил подвергается биотрансформации с образованием метаболитов, обладающих большей токсичностью и стойкостью, чем исходное вещество [6]. Было установлено, что фипронил и его метаболит фипронил-сульфон обладают выраженными токсическими и генотоксическими свойствами, проявляющимися в достоверном увеличении частоты структурных и геномных мутаций у лабо-

раторных животных [7, 8]. В связи с этим нами было проведено цитогенетическое исследование одного из представителей фоновых видов грызунов суслика желтого (*Citellus fulvus*), отловленного в Южно-Казахстанской области (ЮКО) на сельскохозяйственных угодьях, обрабатываемых инсектицидами на основе фипронила.

Материалы и методы исследований

Объектом исследования явился суслик желтый (*Citellus fulvus*). Отлов животных проводили в трех районах ЮКО: Арысском, Шардаринском и Казыгуртском (зона условного контроля). В каждом районе было отловлено по 5 животных-самцов. Забой подопытных животных производили под нембуталовым наркозом. У животных после забоя забирали костный мозг из бедренной кости и готовили цитологические препараты по общепринятой методике [9]. Препараты окрашивали азурэозином по Романовскому-Гимзе. Цитогенетический анализ осуществляли с помощью метафазного метода, определяли общую частоту и спектр хромосомных aberrаций. Метафазные пластинки анализировали и фотографировали в световом микроскопе Axioskop-40 (Zeiss).

Статистическую обработку результатов наблюдений проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента [10].

Результаты исследований и их обсуждение

Результаты цитогенетического исследования *Citellus fulvus* представлены в таблице 1. Частота аберрантных и полиплоидных клеток у суслика желтого из Казыгуртского района (зона условного контроля) соответственно составили 2.44% и 0.19%, а число хромосомных aberrаций на 100 метафаз – 2.62. Спектр хромосомных перестроек был представлен нарушениями как хромосомного (парные концевые делеции), так и хроматидного (одиночные концевые делеции и точечные фрагменты) типов. Полученные результаты согласуются с данными по фоновому уровню аберрантных клеток (около 2-3%), установленному для популяций мелких млекопитающих из условно чистых районов [11, 12].

При сравнительном анализе изучаемых показателей у животных из зоны условного контроля и загрязненных биотопов Арысского района было выявлено достоверное превышение частоты структурных и геномных мутаций у животных в загрязненных фипронилом биотопах. Частота аберрантных клеток костного мозга у сусликов из Арысского района в 2.5 раза ($p < 0.05$) превышала этот показатель у животных из зоны условного контроля. У этих же животных было выше число хромосомных aberrаций в 2.7 раза ($p < 0.01$) на 100 метафаз. Наряду с увеличением частоты хромосомных aberrаций наблюдалось достоверное превышение и уровня полиплоидии в 7.7 раза ($p < 0.01$). Спектр структурных нарушений хромосом также был представлен перестройками хромосомного и хроматидного типов.

Таблица 1

Частота и спектр структурных нарушений хромосом в клетках костного мозга *Citellus fulvus* из биотопов Южно-Казахстанской области, подверженных воздействию инсектицидов на основе фипронила

Место отлова	Изуче-но Мета-фаз	Частота аберрантных клеток ($M \pm m\%$)	Число хромосомных aberrаций на 100 метафаз			Полиплоид- ные клетки
			Всего aberrаций	хромосомного типа	хроматидного типа	
Казыгуртский район (контроль)	1028	2.44 \pm 0.49	2.62 \pm 0.41	0.29 \pm 0.12	2.33 \pm 0.45	0.19 \pm 0.12
Арысский район	814	6.18 \pm 1.03*	7.20 \pm 1.14**	0.76 \pm 0.25	6.44 \pm 0.31***	1.47 \pm 0.30**
Шардаринский район	921	7.25 \pm 1.18**	8.47 \pm 1.32**	0.82 \pm 0.40	7.65 \pm 1.04**	1.68 \pm 0.49*

Примечание: * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$; *** – $p < 0.001$ в сравнении с контрольными значениями

Аналогичная картина хромосомной нестабильности наблюдалась и у животных, отловленных в Шардаринском районе. Общая частота аберрантных клеток превысила показатели контрольной группы в 3.0 раза ($p < 0.01$), а число хромосомных aberrаций на 100 просмотренных метафаз – в 3.2 раза ($p < 0.01$). Уровень полиплоидных метафаз был в 8.8 раза ($p < 0.05$) выше по сравнению с животными из контрольной зоны. Спектр структурных перестроек хромосом также был представлен нарушениями хромосомного и хроматидного типов. При сравнительном анализе спектра хромосомных aberrаций у животных из загрязненных биотопов и зоны условного контроля было установлено достоверное увеличение частоты аберрантных клеток и числа хромосомных aberrаций на 100 метафаз. Структурные нарушения происходили за счет перестроек

хроматидного типа. У сусликов из Арысского и Шардаринского районов эти показатели достоверно возросли, соответственно, в 2.8 ($p < 0.001$) и 3.3 ($p < 0.01$) раза по сравнению с животными из зоны условного контроля. Достоверных различий по изучаемым показателям между представителями суслика желтого из Арысского и Шардаринского районов не выявлено.

Цитогенетические исследования представителей фоновой группы грызунов в биотопах, подверженных воздействию инсектицидов на основе фипронила, указывают на повышенную частоту структурных и геномных мутаций по сравнению с особями данного вида из района условного контроля. Увеличение частоты аберрантных клеток и числа хромосомных aberrаций на 100 метафаз обусловлено, главным образом, индукцией перестроек хроматидного типа.

Повышенный уровень структурных нарушений хроматидного типа у природных грызунов указывает на химическое загрязнение территории обитания суслика желтого.

По результатам цитогенетического исследования можно сделать выводы о неблагоприятном состоянии природных экосистем, подвергнутых воздействию пестицидов на основе фипронила. Кроме того, результаты цитогенетического анализа показывают о возрастании генетического груза в природных популяциях грызунов в исследуемых экосистемах. Обнаруженные структурные и геномные нарушения у *Citellus fulvus* свидетельствуют о присутствии генотоксических факторов в естественной среде обитания изучаемых животных.

Представленная работа выполнена в рамках проекта Фонда науки Республики Казахстан, ГР № 0109РК00153 (2009-2011 гг.).

Литература

- 1 González M., Soloneski S., Reigosa M.A., Larramendy M.L. Effect of dithiocarbamate pesticide zineb and its commercial formulation, azzurro. IV. DNA damage and repair kinetics assessed by single cell gel electrophoresis (SCGE) assay on Chinese hamster ovary (CHO) cells // *Mutation Research (Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis)*. - 2003. - Vol. 534. - P. 145-154.
- 2 Losi-Guembarovski R., Santos F.V., Dias F.L., Frederico R.G., Golus I.M.S. Assessment of the ability of Imazaquin herbicidy to induce chromosomal aberrations in vitro in cultured Chinese hamster ovary cells and micronuclei in vivo in mice // *Food and Chemical Toxicology*. - 2004. - Vol. 42. - P. 1245-1249.
- 3 Biolognesi C. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies // *Mutat. Res.* - 2003. - No. 543. - P. 251-272.
- 4 Mukhopadhyay I., Chowdhuri Dk., Bajpayee M. Evaluation of in vivo genotoxicity of cypermethrin in *Drosophila melanogaster* using the alkaline comet assay // *Mutagenesis*. - 2004. - No. 19 (2) - P. 85-90.
- 5 Сагитов А.О., Ысак С., Евдокимов Н.Я. Прогнозирование объемов химических обработок против вредных саранчовых в Казахстане // *Защита и карантин растений*. - 2002. - № 1. - С. 19-20.
- 6 Hin Tat Fung H.T., Chan K.K., Ching W.M., Kam C.W. A Case of Accidental Ingestion of Ant Bait Containing Fipronil // *Clinical Toxicology*. - 2003. - Vol. 41, No. 3. - P. 245-248.
- 7 Бегимбетова Д.А., Колумбаева С.Ж., Калимагамбетов А.М., Шалахметова Т.М., Ерубаева Г.К. Генотоксическое действие фипронила на крыс разного возраста // *Вестник КазНУ. Серия биологическая*. - 2009. - № 1 (40). - С. 78-83.
- 8 Бегимбетова Д.А., Колумбаева С.Ж., Калимагамбетов А.М., Ловинская А.В., Ерубаева Г.К. Влияние пестицидов класса фенилпиразолов на организм млекопитающих // *Матер. 3-й междунар. междисциплинарной конф. Гумбольдт-Коллег в Кыргызстане «Наука и культура в глобализованном мире»*. - Бишкек, 2010. - С. 83-86.
- 9 Графодатский А.С., Раджабли С.И. Хромосомы сельскохозяйственных и лабораторных млекопитающих. - Новосибирск: Наука. - 1988. - 127 с.
- 10 Рокицкий Н.А. Введение в статистическую генетику. - Минск: Высшая школа. - 1978. - 448 с.
- 11 Гилева Э.А., Большакова В.Н., Косарева Н.Л., Габитова А.Т. Частота хромосомных нарушений у синантропных домовых мышей как показатель генотоксического эффекта загрязнителей окружающей среды // *Доклады РАН*. - 1992. - Т. 322, № 5. - С. 1058-1061.
- 12 Дмитриев З.Г. Цитогенетическая нестабильность у трех видов грызунов в районе химического предприятия на севере России // *Экология*. - 1997. - № 6. - С. 447-451.

Колумбаева С.Ж., Бегимбетова Д.А., Ловинская А.В., Калимагамбетов А.М.

Оңтүстік Қазақстан облысы аймағындағы фенилпиразолмен ластанған кеміргіштердің хромосомасының тұрақсыздығы

Фенилпиразолмен ластанған биотоптардағы *Citellus fulvus*-тың цитогенетикалық тұрақсыздығы, құрылымдық және геномдық мутациялардың жиілігінің жоғарылауы анықталды. Хромосоманың құрылымдық бұзылыстарының ішіндегі өзгерістер көбінесе хроматидтік типке жатады, яғни қоршаған ортадағы мутагендік фактордың химиялық табиғатын айқындайды.

Kolumbayeva S.Zh. Begimbetova D.A., Lovinskaya A.B., Kalimagambetov A.M.

Chromosome instability in rodents from phenylpyrazoles polluted areas of South-Kazakhstan region

It was established a cytogenetic instability for *Citellus fulvus* in polluted habitats by phenylpyrazoles, manifested in the increased frequency of structural and genomic mutations. The spectrum of structural chromosome defects was presented chromatide aberrations, indicating the presence of environmental mutagenic factors of chemical nature.