



Издатель

ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет»
Российская Федерация, г.Петрозаводск, пр.Ленина,33

Научный электронный журнал

ПРИНЦИПЫ ЭКОЛОГИИ

<http://ecopri.ru>

№ 1 (47). Март, 2023

Главный редактор

А. В. Коросов

Редакционный совет

В. Н. Большаков
А. В. Воронин
Э. В. Ивантер
Н. Н. Немова
Г. С. Розенберг
А. Ф. Титов
Г. С. Антипина
В. В. Вапиров
А. М. Макаров

Редакционная коллегия

Т. О. Волкова
Е. П. Иешко
В. А. Илюха
Н. М. Калинкина
J. P. Kurhinen
А. Ю. Мейгал
J. B. Jakovlev
B. Krasnov
A. Gugołek
B. K. Шитиков
B. Н. Якимов

Службы поддержки

А. Г. Марахтанов
Е. В. Голубев
С. Л. Смирнова
Н. Д. Чернышева
М. Л. Киреева

ISSN 2304-6465

Адрес редакции

185910, Республика Карелия, г.Петрозаводск, пр. Ленина, 33. Каб. 453

E-mail: ecopri@psu.karelia.ru

<http://ecopri.ru>





УДК УДК 575.033 : 597.8

ИОНЫ ХРОМА (VI) ИНДУЦИРУЮТ МИКРОЯДРА И ЯДЕРНЫЕ АНОМАЛИИ В ЭРИТРОЦИТАХ АМФИБИЙ

КРЮКОВ

Владимир Иванович

доктор биологических наук, Орловский государственный аграрный университет, esogenet@mail.ru

ЖУЧКОВ

Сергей Александрович

кандидат медицинских наук, Орловский государственный аграрный университет, iniic@orelsau.ru

ЛАЗАРЕВА

Татьяна Николаевна

кандидат технических наук, Орловский государственный аграрный университет, iniic@orelsau.ru

Ключевые слова:

земноводные
жабы
хром (VI)
мутагенность
микроядра
ядерные аномалии

Аннотация: Хром является одним из тяжелых металлов, интенсивно загрязняющих окружающую среду в результате хозяйственной деятельности человека. Токсичность, канцерогенность и мутагенность хрома (VI) хорошо изучены в тестах на рыбах и млекопитающих, в меньшей степени – на птицах. Значительно слабее изучена генетическая опасность хрома (VI) для пресмыкающихся и амфибий. Амфибии являются важным компонентом биоценозов. Поэтому риск воздействия хрома как антропогенного загрязнителя должен быть оценен для представителей этого класса позвоночных животных. Целью работы был анализ частоты образования микроядер и ядерных аномалий в эритроцитах личинок *Bufo viridis* после воздействия ионов хрома (VI) в концентрациях 0.025, 0.050, 0.125, 0.250, 0.375 и 0.500 мг/л в течение 6, 12, 18 и 24 часов. Условия эксперимента моделировали ситуацию разового сброса в водоемы промышленных сточных вод до конечных концентраций, равных 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 7.5 и 10 ПДК ионов хрома (VI). В результате эксперимента установлено, что ионы хрома в концентрации 0.025 и 0.050 мг/л не вызывали статистически достоверного увеличения суммарных частот микроядер и ядерных аномалий во всех четырех вариантах продолжительности воздействия. При концентрациях 0.125 мг/л и выше увеличение суммарных частот анализируемых аномалий было статистически достоверным. Следовательно, даже небольшие превышения ПДК (VI) хрома в водоемах могут увеличивать нестабильность геномов земноводных.

© Петрозаводский государственный университет

Рецензент: В. А. Илюха

Получена: 02 февраля 2023 года

Подписана к печати: 10 апреля 2023 года

Введение

Тяжелые металлы стали в настоящее время наиболее мощным загрязнителем окружающей среды, отодвинув на второй план риски загрязнения среды пестицидами. Интенсивное загрязнение экосистем тяжелыми металлами обусловлено активной добычей

и переработкой различных металлических руд, а также широким использованием солей и окислов тяжелых металлов в различных отраслях промышленности и сельскохозяйственного производства. Неизбежно образующиеся производственные отходы промышленных предприятий попадают в окру-

жающую среду. По этой причине во многих регионах России и других стран сформировались геохимические аномалии, оказывающие сильное негативное воздействие на здоровье человека и состояние экосистем (Блоков, 2018; Черногаева и др., 2019).

Одним из широко распространенных загрязнителей окружающей среды является хром. Как химическое вещество хром стабилен, но в элементарном состоянии в природе обычно не встречается. Он имеет несколько степеней окисления в диапазоне от -2 до +6. Из них трехвалентный Cr (III) и шестивалентный Cr (VI) являются наиболее распространенными стабильными формами. Основными источниками антропогенного поступления хрома в окружающую среду являются добыча и переработка рудного сырья, металлургия, гальваническое, лакокрасочное, кожевенное и текстильное производство, химическая индустрия. Производственная деятельность человека на протяжении последнего столетия привела к широкомасштабной и интенсивной эмиссии соединений хрома в окружающую среду. Это, в свою очередь, существенно повысило доступность хрома для живых организмов.

Хром в малых количествах необходим организмам. Он взаимодействует с инсулином в процессах углеводного обмена и с трипсином при его расщеплении белков до аминокислот, участвует в синтезе и функционировании нуклеиновых кислот, а также в метаболизме липидов и гормонов. Именно поэтому органические и неорганические соединения хрома, добавляемые в небольших (0.3 мг/кг) дозах в корма рыб, интенсифицируют их рост (Asad et al., 2019). Вместе с тем избыточное количество хрома в организме нарушает процессы биологического окисления, угнетает активность ферментов, иммунную реактивность и увеличивает частоту мутаций. Шестивалентный хром легко проникает в клетку через клеточную мембранны. Проникший в клетки Cr (VI) претерпевает метаболическое восстановление до трехвалентного хрома. В ходе этого процесса образуются активные формы кислорода (АФК), которые инициируют каскад негативных клеточных процессов (Sharma et al., 2022). Проникновение Cr (VI) в наземные организмы происходит в основном при вдыхании и, в меньшей степени, при приеме внутрь с пищей и питьем, а также при всасывании через кожу. Люди и дикие животные могут подвергаться воздействию хрома всеми тремя путями, а в организмы гидробион-

тов он поступает с пищей и через кожные покровы. По этой причине загрязнение водных экосистем хромом может сильно влиять на рыб, а также обитающих в воде амфибий.

Благодаря высокой чувствительности к химическим мутагенам ряд видов амфибий используют в качестве лабораторных тест-организмов и ранних биоиндикаторов загрязнения водоемов. Поскольку анализ частот микроядер и ядерных аномалий в эритроцитах амфибий широко используется для контроля антропогенного загрязнения экосистем (Udroiu et al., 2015; Рябчикова и др., 2019; Michalová et al., 2020), то желательно понимать закономерности индукции мутаций наиболее часто встречающимися загрязнителями среды, в т. ч. и хромом.

Целью данной работы являлось изучение мутагенного действия ионов хрома (VI) на соматические клетки личинок амфибий. Выполненный эксперимент моделировал ситуацию залпового сброса в поверхностный водоем сточных промышленных вод в объемах, обуславливающих конечную концентрацию хрома (VI) в воде от 0.5 до 10 ПДК.

Материалы

Объектом исследования служили эритроциты личинок *Bufo viridis* на 46-й и 47-й стадиях развития (Дабаян, Слепцова, 1975), выловленных из водоема, не загрязняемого промышленными и сельскохозяйственными стоками. Для адаптации к лабораторным условиям отловленных личинок в течение 3 суток содержали в аквариумах с чистой водой. Во время адаптации и в ходе эксперимента личинок кормили коммерческим кормом для растительноядных рыб. По окончании адаптационного периода личинок разделили на 25 групп по 7 экземпляров. Одна группа служила контролем. Остальные 24 группы подвергали воздействию ионов хрома. Источником хрома (VI) в эксперименте служил бихромат калия ($K_2Cr_2O_7$) квалификации «х. ч.».

Методы

Предельно допустимая концентрация (ПДК) хрома (VI) в воде рыбохозяйственных водоемов составляет 0.02 мг/л. Для поверхностных водоемов и питьевой воды она несколько выше – 0.05 мг/л. Расчет концентраций соли выполняли по действующему веществу – Cr (VI). Личинок помещали на 6, 12, 18 и 24 ч в аквариумы с водой, содержащей ионы хрома в концентрациях 0.025, 0.050, 0.125, 0.250, 0.375, 0.500 мг/л. Эти концен-

трации соответствовали 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 7.5 и 10 ПДК ионов хрома в воде поверхностных водоемов.

После окончания периода воздействия ионов металла на личинок их пересаживали в чистую воду на 24 часа для реализации мутаций. Мазки крови приготавливали от 5 личинок, случайно выбранных из каждой экспериментальной группы. Для каждой особи в разных участках мазков анализировали по 2000 нормальных эритроцитов, фиксируя при этом (дополнительно к числу нормальных клеток) число эритроцитов с

изолированными микроядрами и ядерными аномалиями. Таким образом, мутагенный эффект в каждом варианте опыта оценивали после анализа более 10 тысяч эритроцитов. Для оценки мутагенного эффекта хрома использовали микроядерный тест, учитывая микроядра и изолированные фрагменты хроматина (рис. 1), описанные в работе (Жулев, Дубинин, 1994). Анализ выполняли с использованием микроскопа Laboval 4 (Carl Zeiss, Jena) при увеличении $10 \times 100 \times 1.5$ (окуляр \times объектив \times увеличение бинокулярной насадки).

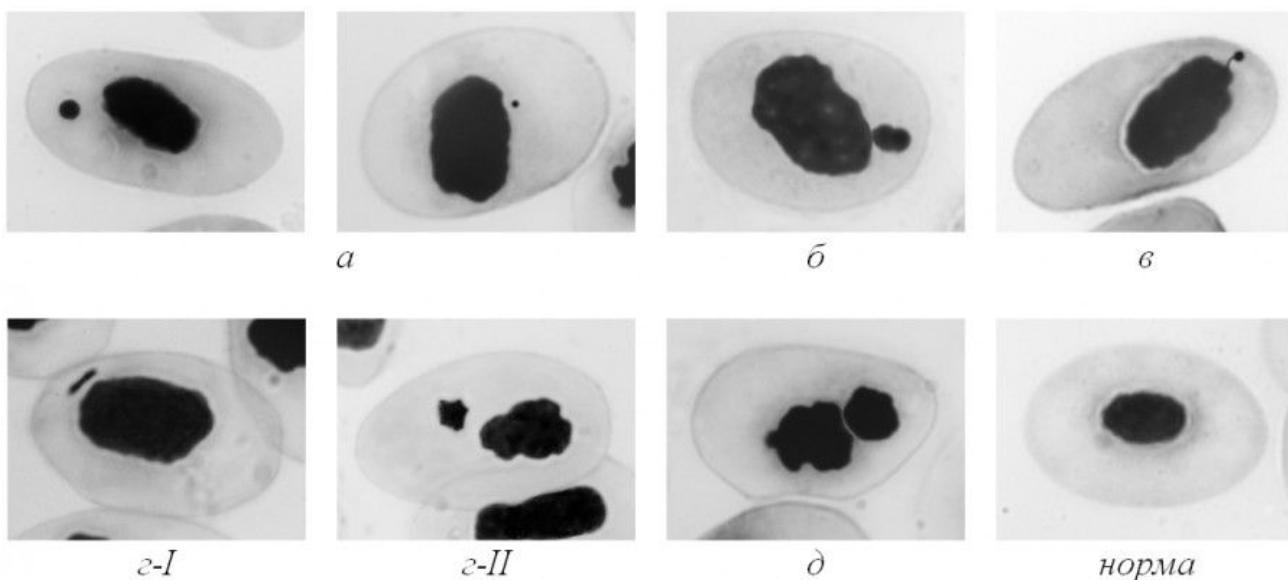


Рис. 1. Микроядра и фрагменты хроматина, учитываемые в эритроцитах головастиков *B. viridis*: *а* – два эритроцита с изолированными микроядрами разной величины; *б* – микроядро, примыкающее к ядру; *в* – микроядро, прикрепленное к ядру хроматиновой нитью; *г* – неоформленный ядерный материал в виде палочек (*I*) и клубков (*II*); *д* – округлое образование ядерного материала довольно больших размеров

Fig. 1. Micronuclei and chromatin fragments counted in erythrocytes of *B. viridis* tadpoles: *a* – two erythrocytes with isolated micronuclei of different sizes; *b* – micronucleus adjacent to the nucleus; *v* – micronucleus attached to the nucleus by a chromatin filament; *g* – unformed nuclear material in the form of rods (*I*) and tangles (*II*); *d* – rounded formation of nuclear material, quite large

Частоты аномалий в каждом из вариантов опыта сравнивали после их ϕ -преобразования, используя *u*-критерий Фишера (Урбах, 1975, с. 156–169). Дисперсионный анализ и интерполяцию закономерностей изменения частот аномалий при изменении силы и длительности воздействия факторов выполняли, используя пакет программ StaDia 4.0.

Результаты

Частоты обнаруженных в эритроцитах аномалий различных типов в каждом из вариантов опыта приведены в табл. 1. Динамика частот изолированных и примыкающих микроядер (типы *а* и *б*) не обнаружила четко

выраженной зависимости от концентрации. Однако общая тенденция роста частоты с увеличением концентрации хрома для каждого из этих типов микроядер просматривается достаточно явно. Явных закономерностей в изменении частот микроядер (типы *в–д*) также не было обнаружено. Сравнение частот этих аномалий показывает, что с увеличением длительности воздействия Cr (VI) происходит заметное увеличение доли клеток с микроядрами типа *г-II* и крупными фрагментами ядерного материала (тип *д*). Рост частот этих типов нарушений идет в основном за счет сокращения доли прикрепленных микроядер.

Таблица 1. Частоты (%) микроядер и ядерных аномалий различных типов в эритроцитах личинок *B. viridis*, индуцированные ионами хрома (VI) при различных концентрациях и длительности воздействия

Время действия, часы	Концентрация Cr ⁶⁺ , мг/л	Исследовано клеток	Частоты микроядер и ядерных аномалий, %					
			<i>a</i>	<i>б</i>	<i>в</i>	<i>г-I</i>	<i>г-II</i>	<i>δ</i>
Контроль	10043	0.17	0.25	—	—	—	—	—
0.025	10046	0.28	0.17	—	—	—	—	0.02
0.050	10057	0.22	0.25	0.02	0.03	—	—	0.05
6	0.125	10071	0.25	0.19	0.12	—	0.02	0.02
0.250	10088	0.36	0.24	0.07	0.01	—	—	0.01
0.375	10086	0.28	0.33	0.15	0.02	0.06	0.02	—
	0.500	10087	0.29	0.41	0.08	—	0.01	0.07
12	0.025	10053	0.17	0.22	0.08	—	0.04	0.02
0.050	10059	0.21	0.15	0.17	—	0.03	0.03	—
	0.125	10081	0.31	0.22	0.04	0.02	0.02	0.05
	0.250	10096	0.17	0.35	0.11	—	0.03	0.08
	0.375	10095	0.29	0.26	0.07	—	0.05	0.11
	0.500	10105	0.36	0.44	0.13	—	0.06	0.06
18	0.025	10060	0.19	0.23	0.05	0.01	0.02	0.10
0.050	10061	0.19	0.29	0.06	—	0.02	0.05	—
	0.125	10085	0.23	0.28	0.13	—	0.01	0.05
	0.250	10098	0.21	0.29	0.15	0.03	0.07	0.06
	0.375	10103	0.38	0.33	0.18	0.01	0.06	0.07
	0.500	10108	0.30	0.49	0.16	—	0.09	0.04
24	0.025	10062	0.19	0.21	0.11	0.01	0.04	0.06
0.050	10064	0.28	0.18	0.14	—	—	—	0.04
	0.125	10085	0.39	0.27	0.13	0.01	0.01	0.04
	0.250	10108	0.33	0.41	0.19	—	0.07	0.06
	0.375	10112	0.29	0.48	0.24	—	0.03	0.08
	0.500	10127	0.34	0.52	0.19	0.01	0.09	0.11

Обнаружена зависимость суммарных частот всех аномалий от концентрации и времени воздействия ионов хрома (рис. 2). Результаты статистического анализа показали, что самые низкие концентрации Cr (VI), равные 0.025 и 0.05 мг/л, увеличивают суммарные частоты аномалий при всех четырех исследованных экспозициях, но рост этих частот не приводит к статистически достоверным различиям (см. рис. 2). Повышение концентрации до 0.125 мг/л увеличивало частоту аномалий в ядрах до статистически достоверного уровня при $P \leq 0.05$ в варианте с 6-часовой экспозицией и при $P \leq 0.001$ в вариантах с длительностью воздействия 12, 18 и 24 часов. Концентрации хрома 0.250, 0.375 и 0.500 мг/л вызывали статистически достоверное ($P \leq 0.001$) увеличение частоты ано-

малий ядер даже при 6-часовой экспозиции.

Для определения силы влияния концентраций хрома и длительности его экспозиции на частоту индуцируемых микроядер и ядерных аномалий был проведен двухфакторный параметрический дисперсионный анализ. Его результаты показали наличие статистически достоверного влияния обоих исследуемых факторов на частоту индуцируемых аномалий.

Зависимость частоты микроядер и ядерных аномалий в эритроцитах личинок *B. viridis* от концентрации Cr (VI) при различных по длительности экспозициях воздействия удовлетворительно интерполируется уравнением $y = a + b^{1/2}$ со следующими величинами коэффициентов (табл. 2).

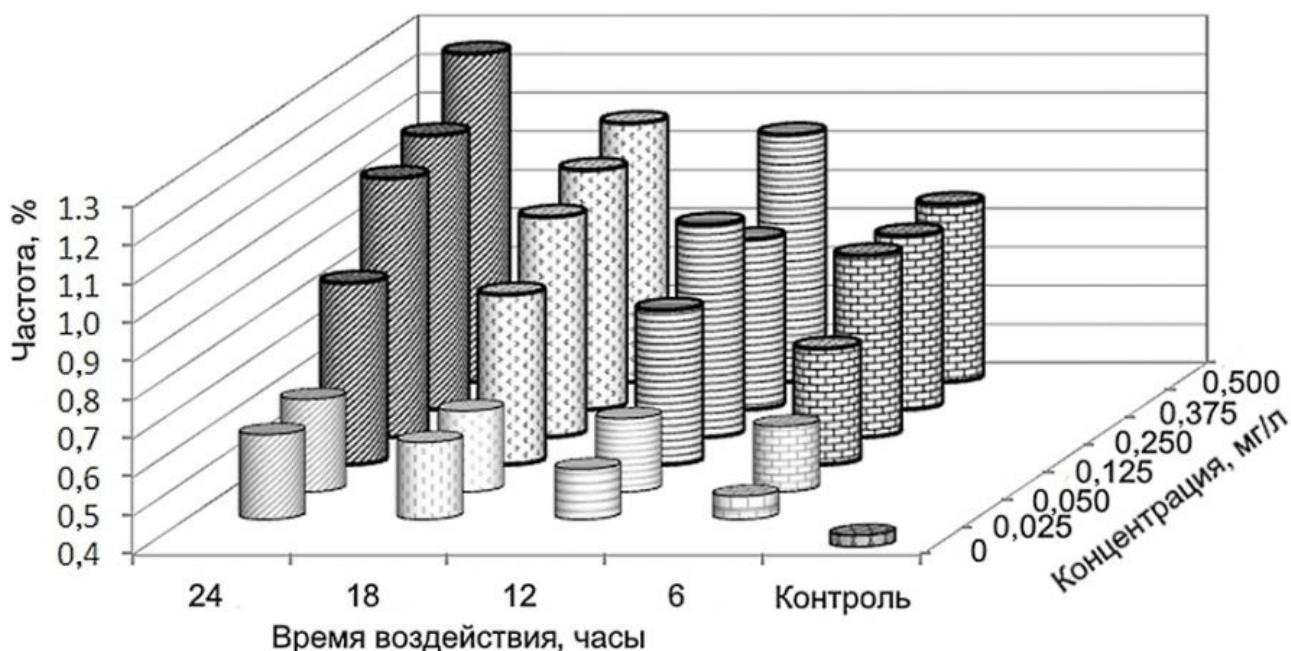


Рис. 2. Зависимость суммарных частот ядерных аномалий в эритроцитах личинок *B. viridis* от концентрации Cr (VI) и продолжительности его воздействия; величины, статистически достоверно отличающиеся от контроля, обведены темным контуром

Fig. 2. Dependence of the total frequencies of nuclear anomalies in erythrocytes of *B. viridis* tadpoles on the concentration of Cr (VI) and the duration of its exposure; values that have statistically significant differences from the control are marked with a dark outline

Таблица 2. Величины коэффициентов уравнения $y = a + b^{1/2}$, интерполирующего зависимость частоты микроядер и ядерных аномалий в эритроцитах личинок *B. viridis* от концентрации Cr (VI) при различном времени его воздействия

Длительность экспозиции, ч	Коэффициент		Статистический показатель		
	<i>a</i>	<i>b</i>	R	F	P
6	0.415	0.220	0.974	72.6	1.00×10^{-4}
12	0.421	0.288	0.980	97.9	1.00×10^{-4}
18	0.445	0.300	0.985	131.9	1.00×10^{-4}
24	0.427	0.372	0.993	278.9	1.00×10^{-4}

Примечание. R – множественный коэффициент корреляции; F – значение критерия Фишера; P – уровень значимости нулевой гипотезы.

Обсуждение

Амфибии играют важную роль в наземных экосистемах, в т. ч. и агрогеосистемах. Значительная доля земноводных вынуждена размножаться в водоемах, подверженных антропогенному загрязнению, что неизбежно приводит к дестабилизации геномов у животных (Mitkovska et al., 2021). Проблема осложняется еще и тем, что одновременное воздействие нескольких или многих загрязнителей может оказывать синергетический эффект, усиливая мутагенность отдельно действующих факторов (Luís et al.,

2015; Fagbenro et al., 2019). Следует отметить, что при анализе многокомпонентных смесей солей металлов и образцов сточных вод микроядерный тест с использованием амфибий оказался более чувствительным, чем тест Эймса (Godet, Vasseur, 1994; Ferrier et al., 2018).

Одними из самых интенсивных загрязнителей антропогенных экосистем являются тяжелые металлы, в т. ч. хром. Токсичности соединений хрома посвящено большое количество исследований. Опубликованы результаты многих исследований мутагенности Cr (VI) для рыб и млекопитающих. Экс-

периментальных свидетельств мутагенности Cr (VI) для амфибий очень немного. Принимая во внимание ПДК Cr (VI) для вод поверхностных водоемов, а также его высокую мутагенность для позвоночных, мы ограничили верхний предел исследуемой концентрации 10 ПДК.

Полученные нами результаты позволяют предположить, что залповые сбросы в водоемы хромсодержащих сточных вод, приводящие к возникновению в водоеме на протяжении 6 и более часов конечной концентрации, превышающей ПДК в 2.5 раза и более, могут вызывать генетические нарушения в соматических клетках личинок бесхвостых амфибий. Так как генеративные клетки амфибий и многих других гидробионтов выводятся из организмов родителей в воду, можно предположить возможность индуцирования такими залповыми сбросами хромсодержащих сточных вод мутаций и в гаметах.

Разные виды бесхвостых амфибий имеют разную чувствительность к мутагенному и токсическому действию тяжелых металлов (Gonçalves et al., 2019). Сравнительный анализ мутагенеза у личинок двух хвостатых

амфибий – иглистого тритона (*Pleurodeles waltli*) и шпорцевой лягушки (*Xenopus laevis*) – показал, что хромат калия был мутагенным для головастиков шпорцевой лягушки, но не вызывал мутаций у личинок тритона (Zoll-Moreux, Ferrier, 1999). Это доказывает необходимость исследования мутагенности ионов тяжелых металлов для разных видов земноводных (а также других гидробионтов) и целесообразность нормирования солей тяжелых металлов в природных водоемах с учетом наиболее чувствительных видов.

Заключение

Действие ионов Cr (VI) в течение 6, 12, 18 и 24 часов при концентрациях 0.025 и 0.050 мг/л несколько увеличивает частоту микроядер и ядерных аномалий в эритроцитах личинок *Bufo viridis*, но этот рост частот статистически недостоверен. Ионы Cr (VI) в концентрациях 0.125, 0.250, 0.375 и 0.500 мг/л статистически достоверно увеличивают частоту аномалий ядер в эритроцитах при всех исследованных экспозициях. Следовательно, даже краткосрочные воздействия хромсодержащих сточных вод могут приводить к дестабилизации геномов амфибий.

Библиография

- Блоков И. П. Окружающая среда и ее охрана в России. Изменения за 25 лет . М.: ОМННО «Совет Гринпис», 2018. 422 с.
- Дабагян Н. В., Слепцова Л. А. Травяная лягушка *Rana temporaria* L. . // Объекты биологии развития. М.: Наука, 1975. С. 442–462.
- Жулева Л. Ю., Дубинин Н. П. Использование микроядерного теста для оценки экологической обстановки в районах Астраханской области // Генетика. 1994. Т. 30, № 7. С. 999–1004.
- Рябчикова Т. Н., Дробот Г. П., Свинин А. О., Ведерников А. А., Сидушкина М. Н. Оценка цитогенетического гомеостаза зеленых лягушек, населяющих местообитания с разной антропогенной нагрузкой // Современные проблемы медицины и естественных наук. 2019. № 8. С. 156–157.
- Урбах В. Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях . М.: Медицина, 1975. 295 с.
- Черногаева Г. М., Жадановская Е. А., Журавлева Л. Р., Малеванов Ю. А. Загрязнение окружающей среды в регионах России в начале XXI века . М.: ООО «Полиграф-Плюс», 2019. 232 с.
- Asad F., Mubarik M. S., Ali T., Zahoor M. K., Ashrad R., Qamer S. Effect of organic and in-organic chromium supplementation on growth performance and genotoxicity of *Labeo rohita* // Saudi Journal of Biological Sciences. 2019. Vol. 26. P. 1140–1145.
- Fagbenro O. S., Alimba C. G., Bakare A. A. Experimental modeling of the acute toxicity and cytogenotoxic fate of composite mixtures of chromate, copper and arsenate oxides associated with CCA preservative using *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). // Environ. Anal. Health. Toxicol. 2019. Vol. 34, № 3. e2019010. URL: <https://www.eaht.org/m/journal/view.php?number=832> (accessed: 4.10.2022).
- Ferrier V., Gauthier L., Zoll-Moreux C., L'Haridon J. Genotoxicity Tests in Amphibians – A Review // Microscale Testing in Aquatic Toxicology: Advances, Techniques, and Practice / Edited by Peter G. Wells, Kenneth Lee, Christisn Blaise. CRC Press, 2018. P. 507–519.
- Godet F., Vasseur P. Evaluation de lagenotoxicite des effluents. Etude comparative des tests d'Ames et micronoyaux Triton. Document réalisé sous la direction des Agences de l'Eau et du Ministère de l'Environnement Chargé d'étude: Centre des sciences de l'environnement. 1994. 184 p. URL: <http://oai.eauetbiodiversite.fr/entreportsOAI/EIA/B7655.pdf> (accessed: 4.10.2022).
- Gonçalves M. W., de Campos C. B. M., Godoy F. R. Assessing genotoxicity and mutagenicity of three common amphibian species inhabiting agroecosystem environment. // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2019. Vol. 77. P. 409–420. URL: <https://doi.org/10.1007/s00244-019-00647-4> (accessed: 14.12.2022).

- Luís L. G., Ferreira P., Fonte E., Oliveira M., Guilhermino L. Does the presence of microplastics influence the acute toxicity of chromium (VI) to early juveniles of the common goby (*Pomatoschistus microps*)? A study with juveniles from two wild estuarine populations // Aquatic Toxicology. 2015. Vol. 164, № 7. P. 163–174.
- Michalová V., Galdíková M., Holečková B., Koleničová S., Schwarzbacherová V. Micronucleus assay in environmental biomonitoring // Folia Veterinaria. 2020. Vol. 64, № 2. P. 20–28.
- Mitkovska V. I., Dimitrov H. A., Chassovnikarova T. G. Chronic exposure to heavy metals induces nuclear abnormalities and micronuclei in erythrocytes of the marsh frog (*Pelophylax ridibundus* Pallas, 1771) // Ecologia Balkanica. 2021. Special Edition 4. P. 97–108.
- Sharma P., Singh S. P., Parakh S. K., Tong Y. W. Health hazards of hexavalent chromium (Cr (VI)) and its microbial reduction. // Bioengineered. 2022. Vol. 13, № 3. P. 4923–4938.
- Udroiu I., Sgura A., Vignoli L., Bologna M. A., D'Amen M., Salvi D., Ruzza A., Antoccia A., Tanzarella C. Micronucleus test on *Triturus carnifex* as a tool for environmental biomonitoring // Environmental and Molecular Mutagenesis. 2015. Vol. 56, № 4. P. 412–417.
- Zoll-Moreux C., Ferrier V. The Jaylet test (newt micronucleus test) and the micronucleus test in *Xenopus*: two in vivo tests on amphibia evaluation of the genotoxicity of five environmental pollutants and of five effluents // Water Research. 1999. Vol. 33, № 10. P. 2301–2314.

CHROMIUM (VI) IONS INDUCE MICRONUCLEI AND NUCLEAR ABNORMALITIES IN AMPHIBIAN ERYTHROCYTES

KRYUKOV
Vladimir Ivanovich

D.Sc., Orel State Agrarian University, ecogenet@mail.ru

ZHUCHKOV
Sergey Aleksandrovich

Ph.D., Orel State Agrarian University, iniic@orelsau.ru

LAZAREVA
Tatyana Nikolaevna

Ph.D., Orel State Agrarian University, iniic@orelsau.ru

Keywords:
amphibians
toads
chromium (VI)
mutagenicity
micronuclei
nuclear anomalies

Summary: Chromium, which is one of the heavy metals, intensively pollutes the environment as a result of human activities. The toxicity, carcinogenicity and mutagenicity of chromium (VI) have been well studied in tests on fish and mammals, and to a lesser extent on birds. The genetic hazard of chromium (VI) for reptiles and amphibians is much less studied. However, amphibians are an important component of biocenoses. Therefore, the risk of exposure to chromium as an anthropogenic pollutant should be assessed for representatives of this class of vertebrates. The aim of the work was to analyze the frequency of micronuclei formation and nuclear anomalies in erythrocytes of *Bufo viridis* tadpoles after exposure to chromium (VI) ions. We used concentrations of 0.025, 0.050, 0.125, 0.250, 0.375 and 0.500 mg/l and the duration of exposure 6, 12, 18 and 24 hours. Experimental conditions simulated the situation of a single discharge of industrial wastewater into water bodies to final concentrations equal to 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 7.5 and 10 MPC of chromium (VI) ions. As a result of the experiment, it was found that chromium ions at concentrations of 0.025 and 0.050 mg/l did not cause a statistically significant increase in the total frequencies of micronuclei and nuclear anomalies in all four variants of the duration of exposure. At concentrations of 0.125 mg/l and above, the increase in the total frequencies of the analyzed anomalies was statistically significant. Consequently, even small excess of the MPC for chromium (VI) in water bodies can increase the instability of amphibian genomes.

Reviewer: V. A. Iluha

Received on: 02 February 2023

Published on: 10 April 2023

References

- Luís L.G., Ferreira P., Fonte E., Oliveira M., Guilhermino L. Does the presence of microplastics influence the acute toxicity of chromium (VI) to early juveniles of the common goby (*Pomatoschistus microps*)? A study with juveniles from two wild estuarine populations., Aquatic Toxicology. 2015. No. 7. Vol. 164. P. 163-174.
- Asad F., Mubarik M.S., Ali T., Zahoor M. K., Ashrad R., Qamer S. Effect of organic and in-organic chromium supplementation on growth performance and genotoxicity of *Labeo rohita*., Saudi Journal of Biological Sciences. 2019. Vol. 26. P. 1140–1145.
- Blokov I.P. Environment and its protection in Russia. Changes over 25 years. M.: OMNNO «Sovet Grinpis», 2018. 422 p.
- Chernogaeva G.M. Zhadanovskaya E.A. Zhuravleva L.R. Malevanov Yu.A. Environmental pollution in the regions of Russia at the beginning of the 21st century. M.: OOO «Poligraf-Plyus», 2019. 232 p.
- Dabagyan N.V. Slepcova L.A. Common frog *Rana temporaria* L., Ob'ekty biologii razvitiya. M.: Nauka, 1975. P. 442-462.
- Fagbenro O.S., Alimba C.G., Bakare A.A. Experimental modeling of the acute toxicity and cytogenotoxic fate of composite mixtures of chromate, copper and arsenate oxides associated with CCA preservative using *Clarias gariepinus* (Burchell 1822)., Environ. Anal. Health. Toxicol. 2019. Vol. 34. No. 3.

- e2019010. URL: <https://www.eaht.org/m/journal/view.php?number=832> (accessed: 4.10.2022)
- Ferrier V., Gauthier L., Zoll-Moreux C., L'Haridon J. Genotoxicity Tests in Amphibians – A Review., In «Microscale Testing in Aquatic Toxicology: Advances, Techniques, and Practice» Edited by Peter G. Wells, Kenneth Lee, Christisn Blaise. –CRC Press. 2018. 720 p. (P. 507-519).
- Godet F., Vasseur P. Evaluation de lagenotoxicité des effluents. Etude comparative des tests d'Ames et micronoyaux Triton. Document réalisé sous la direction des Agences de l'Eau et du Ministère de l'Environnement Chargé d'étude : Centre des sciences de l'environnement. 1994. 184 p. URL: <http://oai.eauetbiodiversite.fr/entreportsOAI/EIA/B7655.pdf> (accessed: 4.10.2022).
- Gonçalves, M.W., de Campos, C.B.M., Godoy, F.R. Assessing genotoxicity and mutagenicity of three common amphibian species inhabiting agroecosystem environment., Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2019. Vol. 77. P. 409-420. URL: <https://doi.org/10.1007/s00244-019-00647-4> (accessed: 14.12.2022)
- Michalová V., Galdíková M., Holečková B., Koleničová S., Schwarzbacherová V. Micronucleus assay in environmental biomonitoring., Folia Veterinaria. 2020. Vol. 64. No. 2. P. 20-28.
- Mitkovska V.I., Dimitrov H.A., Chassovnikarova T.G. Chronic exposure to heavy metals induces nuclear abnormalities and micronuclei in erythrocytes of the marsh frog (*Pelophylax ridibundus* Pallas, 1771)., Ecologia Balkanica. 2021. Special Edition 4. –P. 97-108.
- Ryabchikova T.N. Drobot G.P. Svinin A.O. Vedernikov A.A. Sidushkina M.N. Evaluation of the cytogenetic homeostasis of green frogs living in habitats with different anthropogenic pressure., Sovremennye problemy mediciny i estestvennyh nauk. 2019. No. 8. P. 156-157.
- Sharma P., Singh S.P., Parakh S.K., Tong Y.W. Health hazards of hexavalent chromium (Cr (VI)) and its microbial reduction., Bioengineered. 2022. Vol. 13. No. 3. P. 4923-4938.
- Udroiu I., Sgura A. , Vignoli L., Bologna M.A., D'Amen M., Salvi D., Ruzza A., Antoccia A., Tanzarella C. Micronucleus test on *Triturus carnifex* as a tool for environmental biomonitoring., Environmental and Molecular Mutagenesis. 2015. Vol. 56. No. 4. P.412-417.
- Urbah V.Yu. Statistical analysis in biological and medical research. M.: Medicina. 1975. 295 p.
- Zhuleva L.Yu. Dubinin N.P. Using the micronucleus test to assess the environmental situation in the districts of the Astrakhan region., Genetika. –1994. T. 30, No. 7. –P. 999-1004.
- Zoll-Moreux C., Ferrier V. The Jaylet test (newt micronucleus test) and the micronucleus test in *Xenopus*: two in vivo tests on amphibia evaluation of the genotoxicity of five environmental pollutants and of five effluents., Water Research. 1999. Vol. 33, No. 10. P. 2301-2314.