



Bioindikácia mutagénnych účinkov znečisteného životného prostredia vyššími rastlinami

KAROL MIČIETA

Človek sa vždy pomocou rastlín orientoval pri hľadaní vhodného životného prostredia a používal ich pri hodnotení jeho kvality. V tomto zmysle bioindikačné hodnoty a význam rôznych druhov rastlín spracovala súčasná fytoecológia a ekológia (Ellenberg, 1973). Je známe, že mnohé druhy nižších rastlín (lišajníky, machy) a vyššie rastliny špecificky reagujú už na nízke koncentrácie toxických látok prítomných v prostredí a slúžia na monitorovanie výskytu cudzích látok v prostredí (Manning, Feder, 1980; Posthumus, 1982). Stúpajúce znečistenie životného prostredia však vytvára nové nároky na využívanie vhodných bioindikátorov, najmä ak ide o sledovanie mutagénnych (genotoxických) účinkov priamo v životnom prostredí „in situ“.

Mutagénne faktory v životnom prostredí

Mutagénne účinky majú osobitné postavenie v tom, že poškodzujú dedičnosť organizmov. Ich negatívne dôsledky sa nemusia prejaviť hneď, ale až v nasledujúcej generácii. Organizmy sú vystavené neustálemu pôsobeniu negatívnych faktorov či už z atmosféry, vody alebo pôdy. Niektoré z tohto širokého spektra faktorov sú mutagény. Rastliny navyše môžu metabolizovať niektoré promutagény na aktívne mutagény. Aktivovaný mutagén potom nepôsobí len na samé rastliny, ale aj na zvieratá a ľudí. Ide tu predovšetkým o prípravky na ochranu rastlín a látok, ktoré znečisťujú životné prostredie a vstupujú do krmivového a potravinového reťazca prostredníctvom rastlín. V týchto prípadoch je

nevyhnutné použiť aj vyššie rastliny v testovacích systémoch či už „in vivo“ alebo „in vitro“ a začína sa to v posledných rokoch uplatňovať (Veľemínsky, Gichner, 1988).

Prednosti rastlinnej bioindikácie

Vyššie rastliny sú komplexným integrátorom vzájomne reagujúcich javov a celkovej situácie v prostredí a vo všeobecnosti spĺňajú všetky podmienky bioindikácie. Ich prednosti spočívajú najmä v tom, že:

- majú ako bioindikátory v dynamických médiách (vzduch, voda, pôda) prirodzenú, integrujúcu funkciu;
- žijú priamo v príslušnom znečistenom prostredí a umožňujú hodnotiť zložky znečistenia v reálnom komplexe všetkých zložiek životného prostredia;
- nie sú pohyblivé a neunikajú zo znečisteného prostredia;
- umožňujú sledovať genotoxický vplyv rizikového faktora alebo viacerých rizikových faktorov, genotoxický vplyv rezidií, príp. ich metabolitov.

Metodické postupy

Genotoxické účinky prostredia sa môžu prejaviť na troch štruktúrnych a funkčných úrovniach genetického aparátu bunky, a to génovej, chromozómovej alebo genómovej. Niekedy sa môžu prejaviť kombinovane na dvoch úrovniach, napr. génovej a chromozómovej. Každá z týchto úrovní má svoje charakteristické znaky a vyžaduje si príslušný metodický postup a vhodný typ organizmu na rýchle a presné určenie jednotlivých typov mutácií. Kvitnúce rastliny sa od samého začiatku skúmania mutagénnych účinkov úspešne používali ako experimentálne objekty a ich pomocou sa identifikovalo mnoho známych mutagénov (de Serres, 1978; Constantin, Owens, 1982). Vypracovali sa viaceré praktické metodické postupy s vybranými modelovými druhmi. Medzi osvedčené indikačné druhy sa zaradila cibuľa kuchynská (Grant, 1982), sója fazuľová (Vig, 1982), tradeskancia močiarna (Ma, 1982a), niektoré hybridy medzi druhmi rodu tradeskancia napr. klon 02, klon 4430 (Van't Hof, Schairer, 1982), ďalej bôb obyčajný (Ma, 1982b), vika siata (Murín, 1984) a kukurica siata (Plewa, 1982). Zo spôsobu použitia vyplýva, že sa môžu použiť nielen v laboratórnych podmienkach, ale aj v poľných podmienkach, a to buď samostatne, alebo s ďalšími druhmi (Grant, 1978; Nilan a spol., 1981). Z množstva indikačných rastlinných druhov sa podľa rozpracovania základných metodík využitia kvitnúcich druhov rastlín na detekciu genotoxických chemických látok vybrali v rámci programu IPCS (International Programme on Chemical Safety, WHO): arábovka Thalova — na indikáciu chlorofylových mutácií, tradeskancia klon 4430 — na indikáciu génových mutácií a bôb obyčajný kónský — na indikáciu chromozómových a genómových mutácií. Tieto tri druhy testov umožňujú zachytiť celé spektrum mutagenity, a to aj za podmienok metabolickej aktivácie „in vivo“. Z našich pracovísk sú do tohto programu zapojené Ústav experimentálnej botaniky ČSAV v Prahe a Ústav molekulárnej a subcelulárnej biológie UK v Bratislave. Popri týchto indikačných druhoch rastie potreba rozšíriť súbor bioindikátorov

o divorastúce druhy lokálnej flóry, ako aj o kultúrne rastliny, resp. poľné kultúry.

Bioindikácia „in situ“

Doteraz je použitie druhov miestnej flóry „in situ“ známe len z niekoľkých prác (Tomkís, Grant, 1976; Grant, Zura, 1982; Sharma, Raju, 1983) a kultúrnych tiež len sporadicky (Gibson, Beinhart, 1969; Freeling, 1978; Mičieta, 1987). Veľmi výhodné je použiť také rastliny, pri ktorých perzistujú peľové zrná v tetradách (Mulcahy, 1981). V zmysle týchto požiadaviek sme považovali za aktuálne vybrať v rámci našej flóry súbor divorastúcich indikačných druhov (Murín, 1987) a súbor kultúrnych rastlín, ktoré sa u nás pestujú (Mičieta, 1989).

Základným materiálom na sledovanie fytotoxicity a mutagenity znečisteného prostredia sú peľové zrná a materské peľové bunky. Výber indikačných druhov podliehal týmto podmienkam:

1. Vybrali sa iba diploidné druhy (ich kultivary, resp. hybridy), ktoré tvoria haploidné zrná a gény pre normálny vývin peľu sú zastúpené v jednej súprave chromozómov, takže ich poškodenie sa môže bezprostredne prejaviť.

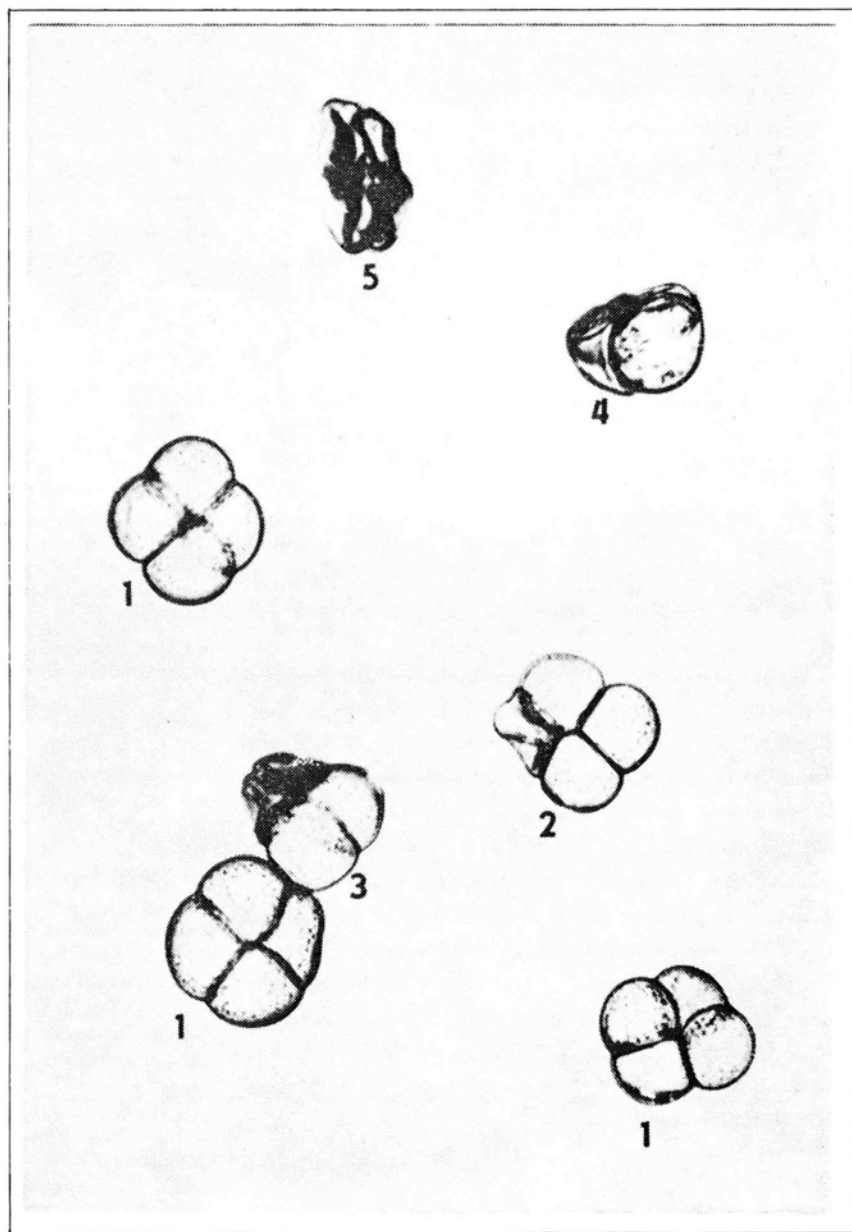
2. Z diploidných druhov sa vybrali iba tie, ktoré sa bežne pestujú a sú rozšírené na našom území, a to nielen na pôvodných, ale aj na sekundárnych stanovištiach v blízkosti sídlisk a priemyselných podnikov.

3. Z nich sme nakoniec vybrali iba tie, ktoré podľa predbežných analýz mali kvalitný peľ na kontrolných stanovištiach a jeho abortívnosť neprevyšovala 5 %.

Vybraté súbory, 30 druhov divorastúcich a 21 druhov kultúrnych rastlín, umožňujú sledovať rizikové faktory od skorej jari do jesene na celom území Slovenska.

Pri tých druhoch, pri ktorých perzistuje zrelý peľ v tetradách (vres obyčajný, pálka širokolistá), dovoľuje hodnotenie odlišiť abortívnosť peľu, podmienenú geneticky alebo fyziologicky. Pri ostatných druhoch je na dôkaz mutagenity potrebné hodnotiť chromozómové aberácie počas meiózy, resp. mikrojadrá v tetradách.

Okrem týchto vybraných indikačných druhov sa môžu na indikáciu mutagenity znečisteného prostredia využiť všetky rastliny prostredníctvom cytogenetickej analýzy chromozómových aberácií v meristemických pletivách.



Obr. 1. Abortivnosť peľových tetrád u páľky širokolistej (*Typha latifolia* L.). 1 = normálne tetrády, 2–4 = tetrády s jedným až tromi abortívnymi peľovými zrnami – indikujú genetické poškodenie, 5 = tetráda so všetkými abortívnymi peľovými zrnami – indikuje fyziologické poškodenie.

Výhody použitia metódy

Výhody použitia materských peľových buniek, peľových zŕn a peľových tetrad na indikáciu mutagenity v prostredí sú viaceré. Je to najmä veľká citlivosť, ktorú podmieňuje haploidný stav, keď sa všetky letálne mutácie postihujúce vývin peľu bezprostredne prejavajú. Je to aj početnosť, ktorá umožňuje získať postačujúci súbor hodnotených členov na kvantifikáciu výsledkov. Pri hodnotení abortívnosti peľu prichádza do úvahy pravdepodobne mutabilita asi tisíc lokusov (Mulcahy, 1981). Tým sa citlivosť tohto biologického systému značne zvyšuje. Najväčšia výhoda však spočíva v tom, že indikačné druhy žijú priamo v príslušnom znečistenom prostredí a umožňujú hodnotenie v reálnom komplexe ekologických faktorov a zložiek znečistenia.

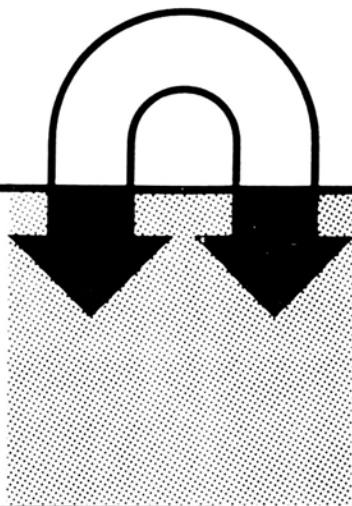
Operatívnosť a význam použitia

Z hľadiska sledovania celkovej genotoxicity životného prostredia je využitie rastlín významné aj preto, že asi 60–70 % genotoxických látok má zhodné účinky na rastliny, živočíchy aj človeka (Schairer a spol., 1978; Grant, 1982) a podobný vzťah platí aj medzi mutagenitou a karcinogenitou (Constantin, Owens, 1982). Význam je aj v operatívnosti, ktorá spočíva v tom, že takáto indikácia predstavuje jednoduchý a lacný postup, prebieha v neesterilných podmienkach, bez zložitých a drahých kultivačných médií, v laboratóriu aj v teréne, za podmienok metabolickej aktivity. Operatívnosť a perspektívnosť bioindikácie mutagénnych účinkov znečisteného životného prostredia vyššími rastlinami je najmä pri dlhodobých pozorovaniach alebo pri náhlych prípadoch znečistenia prostredia, keď nie je možné vopred pripraviť experimentálne podmienky.

Literatúra

- Constantin, M. J., Owens, E. T., 1982: Introduction and perspectives of plant genetic and cytogenetic assays. *Mutat. Res.*, 99, p. 1–12.
- de Serres, F. J., 1978: Introduction: Utilization of higher plant systems as monitors of environmental mutagens. *Environ. Health Perspect.*, 27, p. 3–6.
- Ellenberg, U., 1973: *Ökosystemforschung*. Springer Verlag, Berlin.
- Freeling, M., 1978: Maize Adh-1 as a monitor of environmental mutagens. *Environ. Health Perspect.*, 27, p. 91–97.
- Gibson, P. B., Beinhart, G., 1969: Abnormal meiosis in clover plants treated with organic phosphate pesticides. *Bull. South Carolina Acad. Sci.*, 31, p. 38–45.
- Grant, W. F., 1978: Chromosome aberrations in plants as a monitoring system. *Environ. Health Perspect.*, 27, p. 37–43.
- Grant, W. F., 1982a: Chromosome aberration assays in *Allium*. *Mutat. Res.*, 99, p. 273–291.
- Grant, W. F., 1982b: Cytogenetic studies of agricultural chemicals in plant. In: Fleck, R. A., Hollaender, A., Genetic toxicology. An agricultural perspective. Plenum Press, New York, p. 353–378.
- Grant, W. F., Zuta, K. D., 1982: Plants as sensitive in situ detectors atmospheric mutagens. In: Heddle, J. A. (ed.), *Mutagenicity-new horizons in genetic toxicology*, Academic Press, New York, p. 407–434.
- Ma, T.-H., 1982a: *Tradescantia* cytogenetic tests (root-tip mitosis, pollen mitosis, pollen mother-cell meiosis). *Mutat. Res.*, 99, p. 293–302.
- Ma, T.-H., 1982b: *Vicia* cytogenetic tests for environmental mutagens. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutat. Res.*, 99, 257–271.
- Manning, W., Feder, W., 1980: Biomonitoring air pollutants with plants. Applied Sci. Publishers LTD, London.
- Mičieta, K., 1987: Zvýšená aberantnosť chromozómov u *Vicia faba* L. vplyvom kombinácie niektorých herbicidov po ošetrení v poľných kultúrach. *Poľnohospodárstvo*, 33, p. 1094–1100.
- Mičieta, K., 1989: Kultúrne rastliny ako indikátory fytotoxicity a mutagenity znečisteného životného prostredia. *Poľnohospodárstvo*, 35, p. 122–131.
- Mulcahy, D. L., 1981: Pollen tetrads as indicators of environmental mutagenesis. *Environ. Health Perspect.*, 37, p. 91–94.
- Murin, A., 1984: Simultánny test fytotoxických a mutagénnych účinkov chemicky znečistených vôd a látok herbicidnej povahy. (Biológia), Bratislava, 39, p. 15–24.
- Murin, A., 1987: Kvety ako indikátory mutagenity a fytotoxicity znečisteného životného prostredia. *Biológia*, (Bratislava), 42, p. 447–456.
- Nilan, R. A., 1978: Potential of plant genetic systems for monitoring and screening mutagens. *Environ. Health Perspect.*, 27, p. 181–186.
- Nilan, R. A., Rosichan, J. L., Arenaz, P., Hodgdon, A. L., 1981: Pollen genetic markers for detection of mutagens in the environment. *Environ. Health Perspect.*, 27, p. 19–25.
- Plewa, U. J., 1982: Specific-locus mutation assays in *Zea mays*. *Mutat. Res.*, 99, p. 317–337.
- Posthumus, A. C., 1982: Biological indicators of air pollution. In: Unsworth, H. M., Ormrod, D. P.: Effects gaseous air pollution in agriculture and horticulture. Butterworth Scientific, London, p. 27–42.
- Sharma, C. B. S. R., Raju, D. S. S., 1983: In situ cytogenetic monitoring of vegetation around Hindustan polymers factory. Vishakhapatnam, India. *Environ. Mutagens*, 5, p. 409–417.
- Schairer, L. A., Van't Hof, J., Hayes, G. G., Burton, R. M., de Serres, F. J., 1978: Exploratory monitoring of air pollutants for mutagenicity activity with the *Tradescantia* stamen hair system. *Environ. Health Perspect.*, 27, p. 51–60.
- Tomkins, D. J., Grant, W. F., 1976: Monitoring natural vegetation for herbicide-induced chromosomal aberrations. *Mutat. Res.*, 36, p. 73–84.
- Van't Hof, J., Schairer, L. A., 1982: *Tradescantia* assay system for gaseous mutagens. *Mutat. Res.*, 99, p. 303–315.
- Velemínsky, J., Gichner, T., 1988: Mutagenic activity of promutagens in plants: indirect evidence of their activation. *Mutat. Res.*, 197, p. 221–242.
- Fig, B. K., 1982: Soybean [*Glycine max* (L.) (Merill)] as a short-term assay for study of environmental mutagens. *Mutat. Res.*, 99, p. 339–349.

ZAKLÁDÁNÍ STAVEB



piloty, kotvení, podzemní stěny,
mikropiloty, injektáže,
trysková injektáž

Předejděte haváriím zásobníků a skládek

- ROPNÝCH PRODUKTŮ
- CHEMIKÁLIÍ
- KOMUNÁLNÍCH ODPADŮ
- DALŠÍCH ŠKODLIVIN

Bezpečnost provozů
s možností ohrožení životního prostředí
zajistíme těsnicí clonou kolem vašeho objektu
až do nepropustných vrstev.

REFERENCE Z NAŠICH STAVEB:
Synthesia Semtín, CHEZA Přerov, Koramo Kolín.

Požádejte o konzultaci nebo další informace na adrese:

Dobronická 635, 148 26 Praha 4 — Libuš, telefon 471 43 21, dálnopis 123 574, telefax 472 57 51