



© Е. В. Даев, А. В. Дукельская,
Л. В. Барабанова

Санкт-Петербургский
государственный университет

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИНДИКАЦИИ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ НАПРЯЖЕННОСТИ В ВОДНЫХ И НАЗЕМНЫХ БИОСИСТЕМАХ

ВВЕДЕНИЕ

✿ Генетический мониторинг окружающей среды является важным звеном анализа состояния биосистем. Его эффективность зависит от правильного выбора: а) природных видов-индикаторов; б) адекватных анализируемых показателей, зависящих от состояния окружающей среды и в) корректных методов статистического анализа. Оценка целостности генома индикаторных видов играет важную роль при изучении мутагенности загрязнений окружающей среды. Пошаговые рекомендации при анализе цитогенетических данных и перспективы использования генетических тест-систем в экологическом мониторинге рассматриваются на примере различных видов ракообразных.

✿ **Ключевые слова:** экологическая генетика; генетическая токсикология; биоиндикация; генетический мониторинг; генетический скрининг; тест-системы; цитогенетические методы; ракообразные.

Среди многочисленных биологических эффектов, которые регистрируются в ответ на действие факторов окружающей среды, к наиболее значимым относятся изменения генетического материала. Они возникают на самых начальных этапах развития ответной реакции организма и могут передаваться последующим поколениям. Поэтому большое значение в ряду разнообразных методов биоиндикации и биотестирования имеют генетические методы.

С конца 60-х годов XX века стало активно развиваться научное направление, получившее название *генетическая токсикология* (Инге-Вечтомов и др., 1999). Важнейшими задачами генетической токсикологии являются: а) выявление в окружающей среде факторов, обладающих генетической активностью; б) мониторинг и выявление особенностей их действия; в) на основе полученных данных разработка рекомендаций по нейтрализации их негативного влияния на биологические системы; г) публикация результатов исследований в открытой печати. К генетически активным факторам среды принято относить любые факторы, обладающие мутагенной (канцерогенной, кластогенной, анеугенной) активностью или способностью оказывать влияние на такие генетические процессы, как репарация, рекомбинация и клеточная трансформация (Инге-Вечтомов, 1998).

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ

В широком смысле «*генетический мониторинг (ГМ)* — это контроль и наблюдение за динамикой генетических изменений в популяциях живых организмов» (Яценко, 1999), что подразумевает изучение всего спектра как фундаментальных, так и прикладных проблем. В рамках генетической токсикологии как самостоятельной науки ГМ используется для выявления и слежения за мутагенной активностью в окружающей среде по реакции биоиндикаторных видов, входящих в набор утвержденных тест-систем. Одним из этапов ГМ может являться *генетический скрининг*, в задачи которого входит поиск генетически активных факторов окружающей среды, количественная оценка их накопления, а также изучение спектра и типов индуцируемых ими генетических нарушений. В ГМ используют методы, позволяющие: 1) количественно оценивать и прогнозировать направленность и интенсивность мутационного процесса; 2) давать генетико-токсикологическую оценку состояния окружающей среды; 3) выявлять зоны повышенного риска; 4) оценивать динамику изменения генетических процессов. В процессе ГМ апробируют и подбирают адекватные тест-системы, а также строят универсальные математические модели для изучения поведения разных типов природных популяций при действии каких-либо биологически-активных факторов среды. В случае необходимости, предлагают систему мероприятий, направленных на предотвращение возможных негативных последствий для живых организмов.

Поступила в редакцию 17.02.2014
Принята к публикации 04.04.2014

Важно отметить, что изменения, вызываемые факторами окружающей среды в биоте, определяются ее сложностью и иерархичностью организации.

Различают следующие виды ГМ:

1. генетический мониторинг природных экосистем;
2. генетический мониторинг искусственных и экспериментальных систем.

Некоторые авторы дополнительно выделяют «территориальный генетический мониторинг в связи с загрязнением природной среды» как отдельный вид мониторинга (Биологический контроль ..., 2010). На наш взгляд, такое дробление излишне, так как подобный анализ уже подразумевается при проведении первых двух видов мониторинга.

Оценку генетической опасности можно осуществлять на разных уровнях организации живой материи: молекулярном, клеточном, организменном и популяционном. При этом анализ на первых уровнях имеет огромное значение для оценки самых ранних изменений, наступающих, как правило, до появления морфологических, физиологических и других отклонений от нормы. Накопление однажды возникших генетических нарушений в долгосрочной перспективе ведет к ухудшению здоровья и репродуктивной способности организмов, входящих в состав популяции.

Усилиями специалистов-генетиков разных профилей созданы тест-системы, которые применяются для ранней диагностики наследственных изменений, возникающих в результате повреждающего действия факторов среды. Для оперативного выявления мутагенной и канцерогенной активности в окружающей среде используют краткосрочные генетические тесты (Brusick, 1998):

1. тесты на выявление генных мутаций (тест Эймса с использованием бактерий *Salmonella typhimurium*, тест на индукцию рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций у *Drosophila melanogaster*, тест

на индукцию соматической рекомбинации у дрожжей, тест на выявление мутаций в пыльцевых зернах у растений и ряд других);

2. тесты, регистрирующие индуцированные повреждения ДНК (выявление ДНК-аддуктов, метод ДНК-комет, анализ внепланового синтеза ДНК, метод щелочной элюции ДНК);
3. цитогенетические тесты (учет частоты хромосомных aberrаций и/или микроядер в клетках растений, животных и человека).

Необходимо подчеркнуть, что успех генетического мониторинга во многом зависит от системы выбранных тестов (табл. 1) и корректности обработки полученных данных.

Тест-объекты и тест-системы, выбранные для ГМ, т.е. оценки состояния экосистем, должны отвечать ряду требований, важнейшие из которых: а) чувствительность к действующим факторам; б) адекватность показателей, анализируемых в данной тест-системе, поставленным задачам и в) технологичность. Чувствительность тест-системы определяется степенью изменений анализируемых показателей при различных колебаниях условий окружающей среды. Под адекватностью следует понимать возможность получения данных, которые можно корректно интерпретировать применительно к поставленной задаче. Технологичность тестов определяется легкостью и быстротой их проведения, а также объемом финансовых затрат (Руководство по краткосрочным тестам ..., 1982).

Важным преимуществом цитогенетических тестов является то, что они обладают высокой чувствительностью и в тоже время могут характеризовать состояние всего генома. Их широко используют для оценки действия генетически активных факторов. Цитогенетический анализ природных и лабораторных объектов, соответственно, применяют в биондикации и в биотестировании.

Таблица 1

Уровни проведения генетического мониторинга

Уровни исследования	Регистрируемые изменения генетического материала	Тестируемый материал	Систематическая группа организмов
Молекулярный	ДНК-повреждения (ДНК-аддукты, одно- и двунитевые разрывы), внеплановый синтез ДНК	Изолированная ДНК и РНК из клеток одноклеточных и многоклеточных организмов <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i>	Бактерии, грибы, растения, животные
Клеточный	Генные мутации, конверсия, анеуплоидия, сестринские хроматидные обмены, хромосомные aberrации, микроядра, клеточная трансформация	Одноклеточные организмы, отдельные клетки многоклеточных организмов <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i>	
Организменный	Доминантные летали, видимые и летальные мутации, соматическая и мейотическая рекомбинация	Одноклеточные и многоклеточные организмы	
Популяционный	Генетическая структура популяций: частоты аллелей и генотипов	Группы одноклеточных и многоклеточных организмов	

Так, например, цитогенетические тест-системы с низким и стабильно воспроизводимым уровнем спонтанно возникающих нарушений генетического материала обладают высокой информативностью и могут быть использованы для анализа биологических эффектов малых доз облучения и низких концентраций мутагенов. При этом наиболее удобными для тестирования являются организмы, имеющие низкую индивидуальную вариабельность анализируемых показателей и большое количество делящихся клеток. Однако слишком низкие (близкие к нулевым) значения учитываемых характеристик и их вариабельность между особями требуют существенного увеличения объема анализируемых выборок (Ильинских и др., 1991), что затрудняет исследование и не всегда представляется возможным. Так, при использовании микроядерного теста для целого ряда гидробионтов исследователи вынуждены анализировать по 3–10 тысяч клеток у десятков особей. Средняя частота микроядер при этом составляет 0,02–0,1 на 1000 клеток, а ошибки среднего достигают 100 % полученной величины (Baršienė et al., 2012). При недостаточном количестве проанализированного материала признак может вообще не встретиться.

Кроме того, может понадобиться применение дополнительных статистических преобразований (Урбах, 1964). В некоторых случаях облегчить исследование подобного материала помогает использование провокационного фона или специально созданных «тестерных» линий (штаммов, культур, клонов).

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМА ИНДИКАТОРНЫХ ВИДОВ

Целостность генетической информации и сбалансированная работа генома клеток являются той необходимой основой, без которой невозможно нормальное существование любого живого организма. В данном случае под термином «геном» мы будем понимать весь наследственный материал, содержащийся в клетках анализируемого организма. Именно различные генетические нарушения часто являются как следствием действия средовых факторов, так и первопричиной формирования многочисленных отклонений, ведущих к заболеванию и даже смерти организма. Такие отклонения можно выявлять как внутри отдельного организма, так и в популяциях. Они могут нарушать межвидовые и биоценотические взаимоотношения.

Геном является лабильной системой, быстро реагирующей на малейшие изменения в окружающей среде. В последнее время появляется все больше и больше методов оценки состояния генома. В них используют показатели степени целостности генома, активности работы репарационных систем, транскрипционной активности, амплификации и перемещений генетического материала. Некоторые из этих показателей являются индикато-

рами состояния организма в целом. Однако если показатели функциональной активности генома (интенсивность транскрипции, репарации и др.) подвержены обратимым изменениям, то «макронарушения» целостности генома, такие как хромосомные aberrации в делящихся клетках, необратимы и, как правило, ведут к гибели клетки. Исключение представляют относительно редкие случаи сбалансированных хромосомных перестроек. Таким образом, частота клеток с генетическими нарушениями типа хромосомных aberrаций, как правило, коррелирует с уровнем клеточной гибели. Наиболее распространены два метода учета хромосомных нарушений: метафазный и ана-телофазный. Частота спонтанных цитогенетических нарушений, выявляемых и тем, и другим методами достаточно низка и незначительно варьирует у многих неродственных видов животных и растений. Обычно она колеблется в пределах от 0,5 до 3–5 %, хотя могут быть и исключения. Этот показатель заметно возрастает при действии мутагенных факторов или при резких изменениях условий окружающей среды, к которым организм неприспособлен или не успевает приспособиться. Отслеживая уровень таких «макронарушений», индуцируемых экзогенными факторами в жизненно важных органах и тканях организма, можно предсказать появление ряда морфологических аномалий, приводящих впоследствии к его гибели. Если повреждающий фактор длительно действует на значительной территории, то гибель достаточно большого числа особей индикаторного вида будет вести к снижению его популяционной численности и, в конце концов, к исчезновению этого вида. Это нарушит баланс в экосистеме и приведет к ее изменению (или разрушению).

Хорошо известно, что существует корреляция между состоянием живого организма и цитогенетическими показателями его клеток (например, целостностью хромосом). Это способствовало распространению цитогенетических методов в медицине для диагностики ряда наследственных и приобретенных заболеваний человека. Однако в области экологических исследований и особенно, при мониторинге состояния окружающей среды возможности и значимость цитогенетических методов явно недооцениваются. Между тем, целый ряд широко распространенных видов растений и животных можно использовать для цитогенетического анализа. Примером такого использования могут быть различные гидробионты, например, представители группы ракообразных. Среди описанных ранее стандартных требований к выбору индикаторного вида, в случае применения цитогенетических критериев оценки, следует особо отметить наличие у развивающихся рачков достаточного количества делящихся клеток. При этом оценка ана-телофазным методом для целей экологического мониторинга представляется предпочтительной (по сравнению с метафазным анализом), как более быстрая и более простая. Она дает информацию не только о повреждении структуры хро-

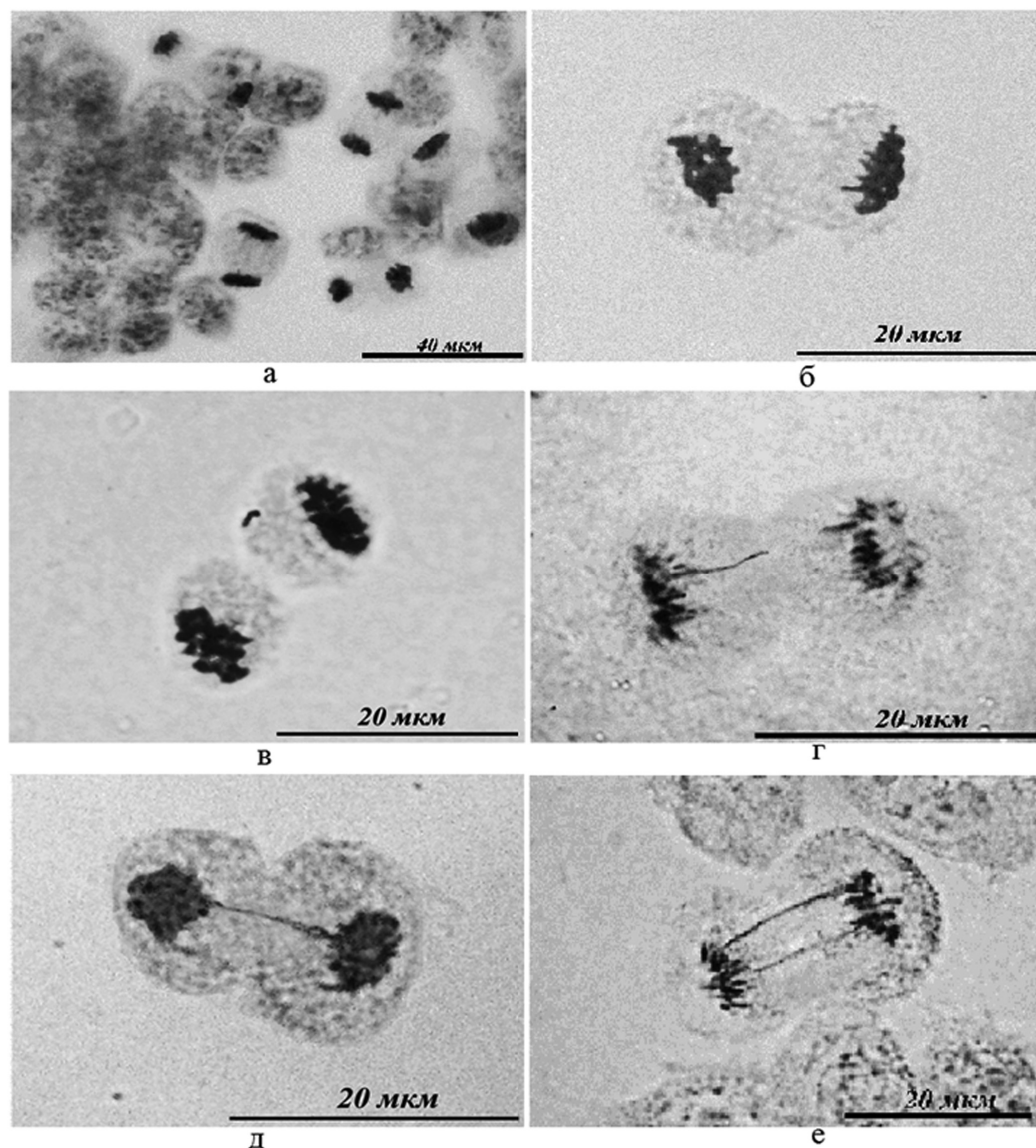


Рис. 1. Общий вид препарата делящихся клеток зародышей мокрицы *Porcellio scaber* (а) и примеры перестроек, выявляемых ана-телофазным методом. Анафаза без перестроек (б), фрагмент (в), отставшая хромосома (г), мост (д) и двойной мост (е)

мосом, но и о нарушении их расхождения при делении клетки (рис. 1). Важно понимать, что конечный результат (частота хромосомных aberrаций) в разных работах может варьировать в зависимости от критериев отбора клеток, пригодных для анализа ана-телофазным методом (Даев и др., 2009).

Однако в любом случае эти показатели отражают возникающее в клетках состояние напряженности, ведущее к повышению частоты предмутационных и мутационных изменений. Важность регистрации подобных характеристик состоит в их прогностическом значении, так как они позволяют оценить жизнеспособность организма.

Помимо этого частота хромосомных нарушений в половых клетках отражает накопление груза мутаций, который будет проявляться в последующих поколениях.

Таким образом, цитогенетические критерии можно использовать для: 1) оценки напряженности окружающей среды на момент обследования; 2) для прогнозирования отдаленных последствий действия факторов окружающей среды на биоиндикаторный вид и экосистему в целом.

В исследованиях по этим двум направлениям большое значение приобретает грамотная статистическая обработка первичных данных.

ОСОБЕННОСТИ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ ДАННЫХ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

К настоящему моменту в генетической токсикологии существуют разные подходы к статистической обработке первичных цитогенетических данных, например, за-

имствованные из радиобиологии. Вызывает удивление желание некоторых исследователей придерживаться исторически сложившейся традиции называть частоту встречаемости перестроек, выраженную в процентах, средним числом (или количеством) перестроек на 100 клеток. Хромосомные перестройки — это дискретный целочисленный показатель. В клетке не может быть 0,25 или 1,25 перестройки (только ни одной, одна, две и т.д.). Среднее на 100 клеток — это не что иное, как частота в процентах. Мало того, почти всегда приводят средние частоты с ошибками среднего. Эти параметры несут полезную информацию только для нормально распределенных признаков однородной выборки (Ашмарин и др., 1971). При этом они (параметры) позволяют считать, что в пределах $\pm 2\sigma$ находится большая часть особей выборки.

Распределение же средних частот хромосомных aberrаций между особями в выборке зачастую, из-за небольших объемов выборки, не может быть корректно определено. Так, при анализе малых выборок в 4–7 особей статистические программы часто не могут выявить достоверных различий между эмпирическим и *нормальным* распределениями. В этом случае данные проходят тест на «нормальность». Но достаточно ли этого, чтобы считать значимыми рассчитываемые программами выборочные параметры для данного случая? Распределение полученных исследователем данных может одновременно не противоречить нескольким разным формулам. Современные статистические программы позволяют выбирать тип распределения, наиболее корректно описывающий эмпирические данные. При этом далеко не всегда нормальное распределение оказывается оптимальным для характеристики распределения анализируемого признака. Кроме того, сама выборка может оказаться неоднородной в силу ее генетической гетерогенности.

Начиная статистическую обработку, следует избегать излишних манипуляций с первичными данными. Наилучшим представляется использование непараметрических методов, таких как критерий χ^2 (таблицы сопряженности), где первичные данные анализируются независимо от типа распределения изучаемой характеристики и не требуют каких-либо преобразований.

Первым необходимым этапом анализа является проверка материала на однородность с помощью многопольных таблиц сопряженности. В дальнейшем этот же метод может быть использован для установления достоверности различий (Глотов и др., 1982). Частоты встречаемости клеток, в частности, с хромосомными aberrациями, микроядрами и т.д., могут приводиться только как вспомогательные («для наглядности»), и уже не должны рассматриваться как параметр нормального распределения. Наиболее корректно указывать доверительные интервалы для приводимых величин. Вычисление же ошибок средних вообще теряет смысл.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ВОДНЫХ И НАЗЕМНЫХ ЭКОСИСТЕМ. ТЕСТ-ОБЪЕКТЫ: ЙЕРЫ (*JAERA SP.*), ВОДЯНЫЕ ОСЛИКИ (*ASELLUS SP.*), МОКРИЦЫ (*PORCELLIO SP.*)

Цитогенетические критерии анализа успешно используют в биотестировании. Так, например, помещая, простки растений-биоиндикаторов в тестируемые пробы воды с растворенными в ней различными веществами, или взятые из мест с разной степенью загрязненности, анализируют состояние делящихся клеток в корешках (Машкина и др., 2009). Цитогенетический анализ широко используют на культурах клеток животных и человека с целями скрининга и мониторинга (Bochkov et al., 2001). Однако в биоиндикации цитогенетические методы применяются пока еще недостаточно широко, несмотря на их крайнюю перспективность.

Ярким примером их применения в биоиндикации является характеристика состояния береговой линии Белого и Баренцева морей с помощью индикаторного вида *Jaera albifrons* (*Isopoda, Crustacea*) (Барабанова и др., 2007). Цитогенетический анализ делящихся клеток рачков, отловленных в «условно чистых» и «грязных» местах, показал четкие различия по уровню митотических нарушений (рис. 2).

Аналогичные данные были получены при обследовании «условно чистых» и «грязных» пресных водоемов Санкт-Петербурга и Ленинградской области (Даев и др., 2009). В прудах и озерах, подвергающихся сильному антропогенному воздействию, уровень митотических нарушений в клетках тестируемых индикаторных организмов оказывается выше, чем в «контроле» (табл. 2).

И, наконец, для почв города и области, где индикаторным видом являлись мокрицы (*Porcellio scaber, Isopoda*), выявлена та же закономерность [14]. Показано, что высокий уровень антропогенной нагрузки коррелирует с повышенной частотой митотических нарушений (рис. 3).

Полученные ранее на водяном ослике, йерах и мокрицах данные показывают, что спонтанный уровень выявляемых нарушений в контрольных (чистых) местах сбора колеблется в пределах 1,6–5,5 % (Даев и др., 2002; 2009; Барабанова и др., 2007; 2011). В то же время в местах с антропогенной нагрузкой этот уровень возрастает до 7–10 % и выше. Нижние значения частоты анализируемых спонтанных МН (1,6–1,8 %) сравнимы с уровнем хромосомных aberrаций в лимфоцитах у человека. Трех-пятикратное превышение уровня хромосомных aberrаций в клетках крови людей из групп риска (например, медицинский персонал, работающий в радиологических отделениях) по сравнению со спонтанным уровнем рассматривается как нежелательное (Marcon et al., 2003; Kasuba et al., 2008; Zakeri, Hirobe, 2010). Поэтому 3-кратное превышение *минимальных*

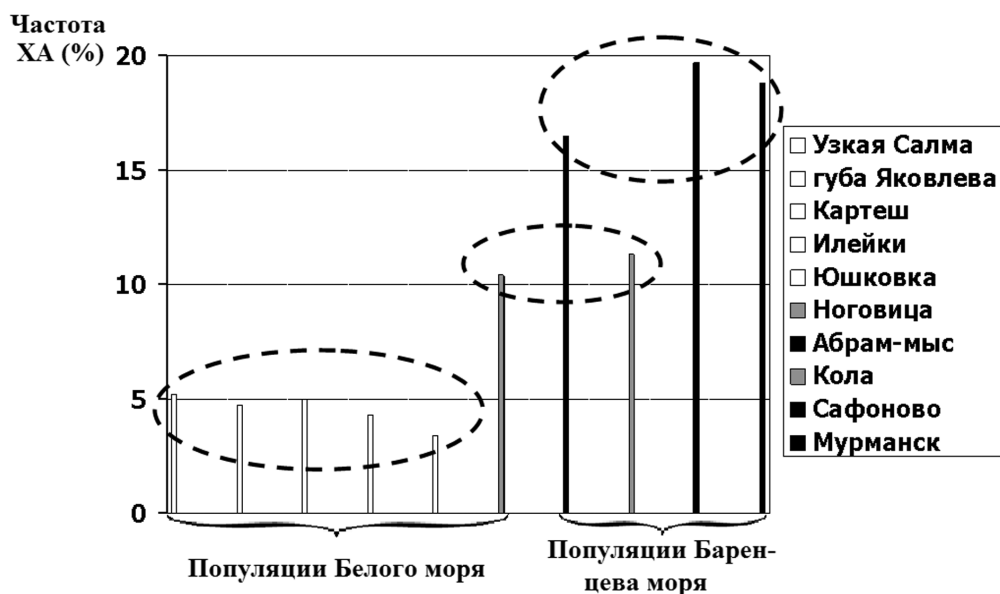


Рис. 2. Частота хромосомных aberrаций (ХА) в клетках йер популяций Белого и Баренцева морей. «Чистые» места обозначены белым, «слабозагрязненные» — серым, а «сильнозагрязненные» — черным цветом. Группы, выделенные овалами, достоверно отличаются друг от друга по частоте ХА (критерий χ^2 , $P < 0,01$)

Таблица 2

Частота митотических нарушений в делящихся клетках рачка *Asellus aquaticus* в местах сбора, испытывающих предположительно различные по силе антропогенные нагрузки (цит. по: Даев и др., 2009 с изменениями)

Место сбора материала (водоем)	Предположительная нагрузка	Число самок	N (n)	Общая частота МН (X %; 95 % CI)
Парк «Сергиевка», Ст. Петергоф (контроль) ^а	Низкая	44	7473 (135)	1,45 ^а 1,8 ^а 2,15
Река Вуокса, бухта «Оранжевая»,	Низкая	9	1529 (80)	4,20 ^б 5,2 ^б 6,20 ^б
Химический факультет СПбГУ, Ст. Петергоф	Высокая	10	1400 (232)	15,33 ^б 16,6 ^б 17,87 ^б
Ж/д станция «Яхтенная»	Высокая	9	1230 (159)	11,54 ^б 12,9 ^б 14,26 ^б
«Парк Победы», Московский р-н, Санкт-Петербург	Высокая	8	1169 (127)	9,01 ^б 10,9 ^б 12,79 ^б

а — суммированы данные наблюдений за 1987–2009 гг. (табл. 1); б — отличие от контроля достоверно (критерий χ^2 , $P < 0,05$); МН — митотические нарушения; N — число проанализированных клеток; n — число клеток с перестройками. Серым цветом выделены предполагаемые «чистые» места сбора материала

значений (1,6–1,8 %) общей частоты анализируемых нами нарушений у рачков примерно до 5 % можно рассматривать как пороговую величину: 1) более низкие значения свидетельствуют о незначительном (допустимом) уровне загрязнения мутагенами, а 2) более высокие частоты — признак существенного загрязнения в местах сбора материала. Высокие значения анализируемого показателя — знак приближающегося неблагополучия в анализируемой экосистеме, причем этот знак появляется задолго до изменения индексов, традиционно используемых в экологическом мониторинге. Следует отметить, что использование «диагностических» доз облучения, наиболее часто применяемых в ме-

дицине, вызывает у рачка *Asellus aquaticus* повышение частоты нарушений до 10–12 % (Даев и др., 2009). Такая демонстрация влияния низких доз облучения на хромосомный аппарат делящихся клеток рачков может свидетельствовать о недооценке вреда, наносимого человеку в процессе диагностических процедур с использованием X-лучей.

Таким образом, результаты проведенного цитогенетического анализа подтвердили предположения о высокой степени напряженности в тех местах сбора материала, где на среду обитания биоиндикаторных видов интенсивно действуют антропогенные факторы (Баранова, Колган, 2007).

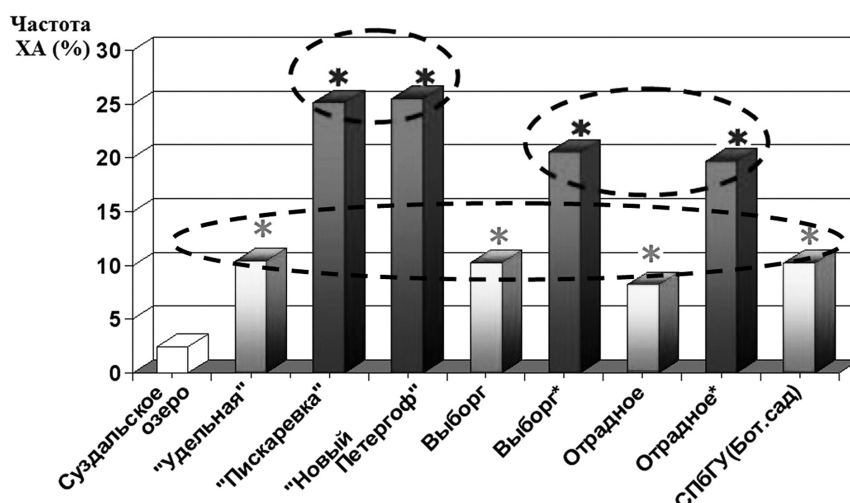


Рис. 3. Частота хромосомных aberrаций (ХА) в делящихся клетках *Porcellio scaber* из различных популяций в Санкт-Петербурге и его окрестностях. «Условно чистое» место обозначено белым, «слабозагрязненные» места — серым, а «сильнозагрязненные» — черным цветом. * — отличие от контрольного уровня достоверно (критерий χ^2 , $P < 0,05$). В овалах — наиболее «неблагополучные» места (территории ж/д станций и свалок), отличающиеся от контроля и «слабозагрязненных» мест

На основе полученных данных можно предложить следующий алгоритм оценки мутагенности загрязнений окружающей среды с помощью ана-телофазного метода:

- 1) выбор точек для сбора материала (зависит от задач исследования);
- 2) выбор индикаторного вида (зависит от присутствия видов-индикаторов);
- 3) отлов 7–12 особей индикаторного вида в каждой из анализируемых точек;
- 4) фиксация собранного материала и приготовление препаратов общепринятыми методами для ана-телофазного анализа (Даев и др., 2009);
- 5) анализ не менее 140–150 делящихся клеток на особь (меньшее количество клеток может потребовать большего числа анализируемых особей);
- 6) проверка полученных данных на внутригрупповую гомогенность;
- 7) в случае внутригрупповой гомогенности объединение данных в пределах выборки и применение непараметрических (не зависящих от типа распределения признака) методов выявления межгрупповых различий (Глотов и др., 1982);
- 8) в случае внутригрупповой гетерогенности увеличение объема выборки до 30–50 особей для выявления типа распределения анализируемого показателя и дальнейшей корректной обработки по формулам анализа больших выборок (Урбах, 1964).

Опыт наших исследований на равноногих рачках показал, что чаще всего внутригрупповая гетерогенность по числу хромосомных aberrаций, регистрируемых ана-телофазным методом, отсутствует. Это позволило продемонстрировать достоверность 1,5–2-кратных различий в уровне ХА между местами с разным уровнем загрязненности при минимальных объемах выборок в 7–9 осо-

бей, от которых достаточно было проанализировать по 80–100 клеток на особь.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экологический мониторинг окружающей среды обязан включать в себя проверку генотоксичности антропогенных и иных действующих факторов, которые могут приводить к изменениям наследственного материала. Подобная оценка чрезвычайно важна, поскольку анализируемые показатели напрямую связаны с нарушением жизнедеятельности любого организма.

Приведенные выше данные цитогенетического анализа частот митотических aberrаций в выборках различных представителей *Isopoda* показывают адекватность используемых методов поставленной задаче — выявлению очагов генотоксичности, возникающих вследствие деятельности человека. Поиск пригодных индикаторных видов может существенно раздвинуть границы применения ана-телофазного метода. Не исключено, что применение других доступных методов анализа (например, кометного фореза и др.) будет способствовать более широкому внедрению методов раннего обнаружения напряженности в отдельных звеньях биоты и, таким образом, развитию прогностических направлений эколого-генетического мониторинга.

Работа поддержана грантами Президента РФ по поддержке ведущих научных школ НШ5345-.2012.4 и НШ-5115.2014.4.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ашмарин И.П., Васильев Н.Н., Амбросов В.А. (1971) Быстрые методы статистической обработки и планирование экспериментов. Л.: Изд-во ЛГУ.

2. Барабанова Л. В., Даев Е. В., Дукельская А. В. (2011) Состояние генетического аппарата ракообразных как показатель загрязнения водной среды при ранней диагностике антропогенной нагрузки. Сборник материалов международной конференции «Биоиндикация в мониторинге пресноводных экосистем II». СПб.: Любавич. С. 31–35.
3. Барабанова Л. В., Дукельская А. В., Даев Е. В. (2007) Использование цитогенетических методов в биоиндикации состояния водоемов Северо-Запада. Сборник материалов международной конференции «Биоиндикация в экологическом мониторинге пресноводных экосистем». СПб.: ЛЕМА; с. 67–72.
4. Барабанова Л. В., Колган Н. С. (2007) Оценка генетических последствий антропогенного загрязнения акватории Финского залива и территории Санкт-Петербурга. Материалы Региональной молодежной научной конференции «Экологическая школа в г. Петергофе — Научграде Российской Федерации: проблемы национального сектора Балтийского региона и пути их решения». СПб.: Золотое сечение: С. 94–103.
5. Биологический контроль окружающей среды: генетический мониторинг (2010) Под ред. С. А. Гераскина, Е. И. Сарапульцевой. М.: Изд. центр «Академия».
6. Глотов Н. В., Животовский Л. А., Хованов Н. В., Хромов-Борисов Н. Н. (1982) Биометрия. Л.: Изд-во ЛГУ.
7. Даев Е. В., Барабанова Л. В., Бондаренко Л. В., Симоненко В. Д. (2002) Ракообразные отряда Isopoda как тест-объект для оценки экологического состояния водной среды. Вестн. Санкт-Петербургского государственного университета, Сер. 3. Вып. 4 (№ 27). С. 60–64.
8. Даев Е. В., Дукельская А. В., Казарова В. Э. (2009) Подход к оценке мутагенности загрязненной воды цитогенетическими методами с использованием биоиндикаторного вида *Asellus aquaticus* (Isopoda). Экологическая генетика. Т. VII (3): С. 10–16.
9. Ильинских Н. Н., Новицкий В. В., Ванчугова Н. Н., Ильинских И. Н. (1991) Микроядерный анализ и цитогенетическая нестабильность. Томск: Изд-во Том. ун-та.
10. Инге-Вечтомов С. Г. (1998) Экологическая генетика. Что это такое? Соросовский образовательный журнал. № 2: С. 59–65.
11. Инге-Вечтомов С. Г., Барабанова Л. В., Даев Е. В., Лучникова Е. М. (1999) Влияние экологических отношений на генетические процессы. Вестн. СПбГУ. Биология. Сер. 3. Вып. 4: С. 14–32.
12. Машкина О. С., Калаев В. Н., Мурая Л. С., Леликова Е. С. (2009) Цитогенетические реакции семенного потомства сосны обыкновенной на комбинированное антропогенное загрязнение в районе Новополецкого металлургического комбината. Экологическая генетика. Т. VII (3): С. 17–29.
13. Руководство по краткосрочным тестам для выявления мутагенных и канцерогенных химических соединений. Гигиенические критерии окружающей среды (1982) Женева: ВОЗ № 51. 212 с.
14. Урбах В. Ю. (1964) Биометрические методы (Статистическая обработка опытных данных в биологии, сельском хозяйстве и медицине). М.: Наука.
15. Яценко Н. Е. (1999) Толковый словарь обществоведческих терминов. Учебник для вузов. СПб: Из-во Лань.
16. Baršienė J., Schiedek D., Lehtonen K. (2012) Micronucleus test. In: S. Korpinen, U. L. Zweifel, editors. Development of a set of core indicators: Interim report of the HELCOM CORESET project. PART B: Descriptions of the indicators. Helsinki: Baltic Sea Environment Proceedings. No. 129B; P. 138–145.
17. Bochkov, N. P., Chebotarev, A. N., Katosova, L. D., Platonova, V. I. (2001) The database for analysis of quantitative characteristics of chromosome aberration frequencies in the culture of human peripheral blood lymphocytes. Russ. J. Genet. Vol. 37 (4): P. 440–447.
18. Brusick D. (1998) Evolution of testing strategies for genetic toxicity. Mutat. Res. Vol. 205 (1–4): P. 69–79.
19. Kasuba V., Rozgaj R., Jazbec A. (2008). Chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes of Croatian hospital staff occupationally exposed to low levels of ionizing radiation. Arh. Hig. Rada. Toksikol. Vol. 59. P. 251–259.
20. Marcon F., Andreoli C., Rossi S. et al. (2003). Assessment of individual sensitivity to ionizing radiation and DNA repair efficiency in a healthy population. Mutation Research. Vol. 541. P. 1–8.
21. Zakeri F, Hirobe T. (2010). A cytogenetic approach to the effects of low levels of ionizing radiations on occupationally exposed individuals. Eur. J. Radiol. Vol. 73 (1). P. 191–195.

CYTOGENETIC METHODS OF ECOLOGICAL STRESS INDICATION IN WATER AND TERRESTRIAL BIOSYSTEMS

Daev Ye. V., Dukelskaya A. V., Barabanova L. V.

✿ **SUMMARY:** The genetic monitoring of the environment is an important link of the analysis of biosystems status. Its efficiency depends on the correct choice of: a) natural bioindicator species; b) appropriate signs reflecting the state of the environment and c) right statistical analysis. The genome integrity estimation plays a key role in studying of mutagenicity in the polluted environment. Step-by-step procedure of the cytogenetic data analysis and perspectives of using genetic tests in ecological monitoring are discussed with the help of crustacean species as an example.

✳ **KEY WORDS:** ecological genetics; genetic toxicology; bioindication; genetic monitoring; genetic screening; test-systems; cytogenetic methods; crustaceans.

✳ **REFERENCES (TRANSLITERATED)**

1. Ashmarin I. P., Vasil'ev N. N., Ambrosov V. A. (1971) Bystrye metody statisticheskoy obrabotki i planirovanie jeksperimentov. [Rapid methods of statistical processing and design of experiments]. L.: Izd-vo LGU.
2. Barabanova L. V., Daev E. V., Dukel'skaja A. V. (2011) Sostojanie geneticheskogo apparata rakoobraznyh kak pokazatel' zagriznenija vodnoj sredy pri rannej diagnostike antropogennoj nagruzki. Sbornik materialov mezhdunarodnoj konferencii «Bioindikacija v monitoringe presnovodnyh jekosistem II». [State of the genetic apparatus of crustaceans as an indicator of water pollution at early diagnostics of anthropogenic load. Proceedings of the International Conference "Bioindication monitoring freshwater ecosystems II"]. SPb: Ljubavich, S. 31–35.
3. Barabanova L. V., Dukelskaya A. V. Daev E. V. (2007) Ispol'zovanie citogeneticheskikh metodov v bioindikacii sostojanija vodoemov Severo-Zapada. Sbornik materialov mezhdunarodnoj konferencii «Bioindikacija v jekologicheskom monitoringe presnovodnyh jekosistem». [The use of cytogenetic methods in Bioindication the state of waters of the Northwest. Proceedings of the International Conference "Bioindication in environmental monitoring of freshwater ecosystems"]. St. Petersburg: LEMA; p. 67–72.
4. Barabanova L. V., Colgan N. S. (2007) Ocenka geneticheskikh posledstvij antropogenного zagriznenija akvatorii Finskogo zaliva i territorii Sankt-Peterburga. Materialy Regional'noj molodezhnoj nauchnoj konferencii «Jekologicheskaja shkola v g. Petergofe — Naukograd Rossijskoj Federacii: problemy nacional'nogo sektora Baltijskogo regiona i puti ih reshenija». [Evaluation of the genetic consequences of anthropogenic pollution of the Gulf of Finland and in St. Petersburg. Proceedings of the Regional Youth Conference "Environmental School in Peterhof — Naukograd of the Russian Federation: Problems of national sector of the Baltic region and ways to solve them"]. St. Petersburg: The Golden Section: S. 94–103.
5. Biologicheskij kontrol' okruzhajushhej sredy: geneticheskij monitoring (2010) [Biological control of environment: genetic monitoring]. S. A. Geras'kin, E. I. Sarapultseva, eds. Moscow: Izd. center Academy.
6. Glotov N. V., Zhivotovskij L. A., Hovanov N. V., Hromov-Borisov N. N. (1982) Biometrija. [Biometrics]. L.: Izd-vo LGU.
7. Daev E. V., Barabanova L. V., Bondarenko L. V., Simonenko V. D. (2002) Rakoobraznye otrjada Isopoda kak test-obyekt dlja ocenki jekologicheskogo sostojanija vodnoj sredy. [Crustacean order Isopoda as a test object for assessing the ecological state of the aquatic environment]. Vestn. Sankt-Peterburskogo gosuniversiteta. Ser.3, Vyp.4 (№ 27). S. 60–64.
8. Daev E. V., Dukel'skaja A. V., Kazarova V. Je. (2009) Podhod k ocenke mutagennosti zagriznennoj vody citogeneticheskimi metodami s ispol'zovaniem bioindikatornogo vida *Asellus aquaticus* (Isopoda). [Approach to assessing the mutagenicity of contaminated water by cytogenetic methods using bioindicator species *Asellus aquaticus* (Isopoda)]. Jekologicheskaja genetika. Vol. VII (3): C. 10–16.
9. Il'inskih N. N., Novickij V. V., Vanchugova N. N., Il'inskih I. N. (1991) Mikrojadernyj analiz i citogeneticheskaja nestabil'nost'. [Micronucleus assay and cytogenetic instability]. Tomsk: Izd-vo Tom. un-ta.
10. Inge-Vechtomov S. G. (1998) Jekologicheskaja genetika. Chto jeto takoe? [Ecological genetics. What is it?] Sorosovskij obrazovatel'nyj zhurnal. N 2: P. 59–65.
11. Inge-Vechtomov S. G., Barabanova L. V., Daev E. V., Luchnikova E. M. (1999) Vlijanie jekologicheskikh otnoshenij na geneticheskie processy. [Influence of ecological relations on the genetic processes]. Vestn. SPbGU. Biologija. Ser.3. Vyp.4: P. 14–32.
12. Mashkina O. S., Kalaev V. N., Muraja L. S., Lelikova E. S. (2009) Citogeneticheskie reakcii semennogo potomstva sosny obyknovennoj na kombinirovannoe antropogennoe zagriznenie v rajone Novolipeckogo metallurgicheskogo kombinata. [Cytogenetic response of Scots pine seed progeny to the combined anthropogenic pollution in the vicinity of NLMK's]. Jekologicheskaja genetika. Vol. VII (3): P. 17–29.
13. Rukovodstvo po kratkosrochnym testam dlja vyjavlenija mutagennyh i kancerogennyh himicheskikh soedinenij. Gigienicheskie kriterii okruzhajushhej sredy (1982) [Guide to short-term tests for detecting mutagenic and carcinogenic chemicals. Hygienic criteria of the environment]. Zheneva: VOZ N 51. 212 p.
14. Urbah V. Ju. (1964) Biometricheskije metody (Statisticheskaja obrabotka opytnyh dannyh v biologii, sel'skom hozjajstve i medicine). [Biometric methods (Statistical processing of the experimental data in biology, agriculture and medicine)]. M.: Nauka
15. Jacenko N. E. (1999) Tolkovyj slovar' obshhestvovedcheskich terminov. Uchebnik dlja vuzov. [The explanatory dictionary of social science terms. Textbook for high schools]. SPb: Iz-vo Lan'.
16. Baršienė J., Schiedek D., Lehtonen K. (2012) In: S. Korpinen, U. L. Zweifel, editors. Development of a set of core indicators: Interim report of the HELCOM CORESET project. PART B: Descriptions of the indicators. Helsinki: Baltic Sea Environment Proceedings. No. 129B; P. 138–145.

17. Bochkov, N.P., Chebotarev, A.N., Katosova, L.D., Platonova, V.I. (2001) Russ.J. Genet. Vol. 37 (4): P. 440–447.
18. Brusick D. (1998) Mutat. Res. Vol. 205 (1–4): P. 69–79.
19. Kasuba V., Rozgaj R., Jazbec A. (2008). Arh. Hig. Rada. Toksikol. Vol. 59. P. 251–259.
20. Marcon F., Andreoli C., Rossi S. et al. (2003). Mutation Research. Vol. 541. P. 1–8.
21. Zakeri F, Hirobe T. (2010). Eur.J. Radiol. Vol. 73 (1). P. 191–195.

✿ Информация об авторах

Даев Евгений Владиславович — биолого-почвенный факультет, кафедра генетики и биотехнологии. Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9. E-mail: mouse_gene@mail.ru.

Дукельская Анна Владимировна — биолого-почвенный факультет, кафедра генетики и биотехнологии. Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9. E-mail: mouse_gene@mail.ru.

Барабанова Лариса Владимировна — биолого-почвенный факультет, кафедра генетики и биотехнологии. Санкт-Петербургский государственный университет. 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9. E-mail: lbarabanova@mail.ru.

Daev Yevgeniy Vladislavovich — Prof., Dept. Genetics and Biotechnology, Faculty of Biology. Saint Petersburg State University. 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab., 7/9. Russia. E-mail: mouse_gene@mail.ru.

Dukelskaya Anna Vladimirovna — Sci. Res. Senior, Dept. Genetics and Biotechnology, Faculty of Biology. Saint Petersburg State University. 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab., 7/9. Russia. E-mail: mouse_gene@mail.ru.

Barabanova Larisa Vladimirovna — Assoc. Prof., Dept. Genetics and Biotechnology, Faculty of Biology. Saint Petersburg State University. 199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab., 7/9. Russia. E-mail: lbarabanova@mail.ru.