

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный  
аграрный университет»

Л. В. Цаценко

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ  
В АГРОЭКОЛОГИИ

Учебное пособие

Краснодар  
КубГАУ  
2016

**УДК 631.95(075.8)**

**ББК 41.4**

**Ц24**

**Рецензенты:**

**С. Н. Щеглов** – профессор кафедры генетики, микробиологии и биотехнологии Кубанского государственного университета, д-р биолог. наук;

**С. Б. Криворотов** – заведующий кафедрой ботаники и кормопроизводства Кубанского государственного аграрного университета, д-р биолог. наук, профессор

**Цаценко Л. В.**

**Ц24** Генетический мониторинг в агроэкологии: учеб. пособие / Л. В. Цаценко. – Краснодар : КубГАУ, 2016. – 110 с.

**ISBN 978-5-00097-030-0**

В учебном пособии рассматриваются вопросы генетического мониторинга от истории становления данного направления до современного состояния.

Предназначено для студентов, обучающихся по направлению подготовки 05.03.06 «Экология и природопользование».

**УДК 631.95(075.8)**

**ББК 41.4**

© Цаценко Л. В., 2016

© ФГБОУ ВПО «Кубанский

государственный

аграрный университет», 2016

**ISBN 978-5-00097-030-0**

## ВВЕДЕНИЕ

Учебное пособие подготовлено на основе базового курса «Генетический мониторинг», который читается для студентов бакалавров по направлению подготовки 05.03.06 «Экология и природопользование».

В задачу учебного пособия входило пополнение генетических знаний и освещение новых направлений в проблеме сохранения генофонда культурных растений, сохранения биоразнообразия, раскрытии понятий риска и опасности для генетических структур живых организмов. В пособие представлены материалы о возникновении генетического мониторинга, как научного направления, целях и задачах дисциплины, обобщены данные по действию мутагенов на наследственный аппарат клетки, организм и популяцию, рассмотрены механизмы действия тяжелых металлов на наследственную структуру клетки, представлены критерии оценки рисков, детально рассмотрены вопросы генетически модифицированных организмов и их поведение в агроценозе. Большое внимание уделено тест–системам и тест–организмам, критериям их подбора, которые используются при проведении генетического мониторинга. Достаточно полно освещены вопросы трансгенных технологий в сельском хозяйстве, их рискам, опасностям. Для понимания всей картины состояния проблемы рассмотрены вопросы биоэтики и биобезопасности в связи с внедрением генных технологий в нашу жизнь. Освещены вопросы генетического мониторинга человека, оценке популяционного груза в меняющихся условиях среды.

Учебное пособие построено по типу базового лекционного курса, затрагивающего основные темы курса. В каждой теме определены опорные вопросы, основной текст и выводы, которые подводят итог изложенного материала по каждой главе. Для углубленной проработки материала в конце каждой темы приведены вопросы и задания для самоконтроля.

В пособии дан обзор имеющихся электронных баз данных по тематике «Генетический мониторинг»: Растения в генетических исследованиях, Пыльцевой анализ в иллюстрациях и комментариях, Методы визуализации в научных исследованиях, Тератология растений, Фасциация у растений, Метаморфозы тела человека в произведениях искусства (Атлас), Иллюстрированный гид по теме «Мейоз у растений», Модели в биологических исследованиях.

В списке литературы представлены источники по рассматриваемой тематике.

Данное учебное пособие даст молодому исследователю ясность понимания выбранного научного направления и будет руководством для дальнейших действий при выполнении научной работы.

# 1 ЦЕЛИ, ЗАДАЧИ И МЕСТО ГЕНЕТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА В СИСТЕМЕ НАУК

## Тематические вопросы

1. Цели и задачи генетического мониторинга
2. Виды генетического мониторинга
3. Подходы к генетическому мониторингу
4. История зарождения научного направления

Генетический мониторинг – это научное направление, в рамках которого разрабатывается методология оценки появления и накопления в окружающей среде генотоксических веществ, изучения спектра их мутационного воздействия и способности индуцировать тот или иной вид генетических нарушений. К генотоксикантам относят вещества и агенты, способные индуцировать мутации в половых и соматических клетках, что является причиной наследуемых изменений в первом случае и бластомогенеза – во втором. Как отдельное научное направление генетический мониторинг возник на рубеже 70–80 гг. XX в. в связи с необходимостью разработки методов анализа изменений наследственных структур организма под влиянием техногенных факторов.

*Цель преподавания курса «Биологический мониторинг» с разделом или самостоятельной дисциплиной «Генетический мониторинг» для студентов биолого-экологических и агрономических специальностей – сформировать у будущих специалистов общую картину воздействия биотических и абиотических факторов на генетические структуры живых организмов в эгроэкологии, показать возможные механизмы действия повреждающих факторов на наследственный аппарат и организм в целом, обучить методам анализа воздействия вредных факторов на организмы и учету наследственных изменений, происходящих в организме и популяции.*

В задачи дисциплины входит изучить:

- факторы, вызывающие изменения наследственных структур на различных уровнях организации живого;
- модификации мутационного процесса, генетический гомеостаз и репарацию генетических повреждений;
- генотоксичность окружающей среды и методы ее оценки;
- влияние мутагенов на репродуктивную систему высших растений и животных, включая человека;
- критерии подбора тест-организмов и тест-систем для оценки мутагенного влияния химических и физических факторов;
- и установить связи между негативным влиянием мутагенных факторов и урожайностью сельскохозяйственных культур.

Термин «мониторинг» (от англ. *Monitoring* – контроль и от лат. *Monitor* – тот, кто напоминает, предупреждает, надзирает) появился в 1972 г., когда на Стокгольмской конференции ООН по окружающей среде было предложено создать глобальную систему мониторинга (*Global Environment Monitoring Systems – GEMS*). Первыми, кто ввел термин «генетический мониторинг» в проекции на человека были Н.П.Дубинин и Ю.П.Алтухов (1975 г.). Они определили «генетический мониторинг» как наблюдение за уровнем мутационного груза в популяциях человека.

Генетические изменения могут выявляться на генном, хромосомном и геномном уровнях.

Нестабильная экологическая обстановка, в том числе и в аграрном секторе, ухудшение общего состояния биосферы делают необходимым широкое использование генетического мониторинга. Генетический мониторинг включает в себя подходы, позволяющие количественно оценивать и прогнозировать направленность и интенсивность мутационного процесса в популяциях и, в случае необходимости, подобрать систему мероприятий, направленных на предотвращение отрицательных последствий для живых организмов. Отсюда вытекают

цели генетического мониторинга – получение информации о наследственных изменениях признаков, необходимой и достаточной для принятия решений о мерах по защите генофонда от генотоксических, мутагенных и канцерогенных факторов окружающей среды, ослаблению их действия и предупреждению вредных отдаленных последствий в агроценозе.

Проблема генетического мониторинга включает в себя подбор информационных показателей, способных с возможно большей полнотой отражать состояние генетических систем, а также оценку количественных параметров этих систем и их корректную интерпретацию.

Основные задачи генетического мониторинга включают в себя генетико-токсикологическую оценку; выявление зон повышенного риска; оценку динамики и времени трендов генетических процессов; апробацию разных тест-систем и построение универсальных математических моделей для разных типов популяций.

Различают следующие виды генетического мониторинга:

- 1) мониторинг природных генетических систем;
- 2) территориальный генетический мониторинг в связи с загрязнением природной среды;
- 3) мониторинг искусственных и экспериментальных генетических систем.

Новым направлением в адаптивной селекции растений является создание сортов-популяций, копирующих природные популяции. По мнению ряда исследователей, успех в создании новых типов агрофитоценозов будет зависеть от полноты моделирования в их структуре и функции принципов организации естественных растительных сообществ, характеризующихся высокой степенью гетерогенности. Ввиду этого в адаптивном растениеводстве необходимо разрабатывать принципы 2-х типов генетического мониторинга: мониторинг природных и искусственных генетических систем.

## Подходы к генетическому мониторингу

Для выявления канцерогенов и мутагенов в окружающей среде применяют краткосрочные генетические тесты. Давно известно, что некоторые химические вещества способны вызывать рак у человека. Относительно недавно пришло и постоянно ширится понимание того, что химические вещества способны вызывать мутации в половых клетках человека, которые повышают частоту генетических или наследственных заболеваний. Многие тысячи химических веществ, включая фармакологические препараты, бытовые химические вещества и пищевые добавки, пестициды и нефтепродукты, уже присутствуют в окружающей среде, и каждый год в нее поступают все новые и новые химические соединения. Помимо этого, существуют и природные химические вещества, относительно которых известно, что они обладают мутагенной и/или канцерогенной активностью (например, микотоксины, содержащиеся в пищевых продуктах). Поэтому важно, чтобы химические вещества, воздействию которых люди подвергаются преднамеренно (например, во время терапевтических процедур), в повседневной жизни (это, в частности, относится к бытовым химическим веществам, косметическим средствам и т.п.) по недосмотру или небрежности (как в случае с пестицидами) испытывались на способность вызывать генетические нарушения (мутации).

Мутагенные химические вещества взаимодействуют с ДНК, вызывая изменения в ее структуре. Эти процессы могут приводить к потере, увеличению или замене оснований, изменяя тем самым содержащуюся в ДНК генетическую информацию.

Выявление канцерогенных свойств химических веществ в экспериментах на животных – сложное и очень дорогое научное исследование, в нем, как правило, используется несколько сотен грызунов, которым предполагаемый канцероген вводится на протяжении большей части их жизни. Поэтому в последнее тридцатилетие наблюдается внедрение в практику ис-



следований большого количества относительно быстрых тестов. Эти тесты экономичны и позволяют получить результаты в течение нескольких недель. Почти все краткосрочные методы основаны на демонстрации хромосомных повреждений, генных мутаций или повреждения ДНК, при этом многие из них являются тестами *in vitro* (т.е. проводятся на экспериментальных биологических системах без использования целостных живых организмов). В этих тестах используется широкий спектр организмов – от бактерий и дрожжей до насекомых, растений и культивируемых клеток млекопитающих. Существуют также краткосрочные тесты, в которых лабораторные животные подвергаются воздействию изучаемого химического вещества на протяжении небольшого периода времени – от нескольких часов до недель. Хотя в литературе описано более сотни тест-систем для исследования генотоксичности на разных уровнях биологической организации – от бактериофага до млекопитающих, регулярно применяются менее 20 из них, а некоторые могут быть выполнены лишь в специализированных лабораториях.

Применительно к агропопуляциям основные подходы генетического мониторинга должны охватывать несколько уровней биологической организации.

**Клеточный уровень.** Цитогенетический скрининг. Преимущество цитогенетического анализа заключается в том, что он дает характеристику состояния всего генома. Это наиболее чувствительный, но и трудоемкий генетический тест, который может быть использован в качестве «биологического дозиметра» загрязнения территории, которую населяет популяция.

Основные растительные тест-системы для скрининга мутантов и мониторинга *in situ* условно делят на две группы: в первой – используют спорофиты, во второй – гаметофиты.

**На организменном уровне** ведется наблюдение за частотой «сторожевых» фенотипов. В качестве «сторожевых» могут быть выбраны мутантные фенотипы по форме колоса или ме-

телки, а также различные отклонения в развитии растения – тератоморфы. Следует различать отклонения в развитии, вызванные действием генетических и экологических факторов.

**На популяционном уровне** проводят учет элементов, характеризующих продуктивность популяции растений, а именно: количество развитых и неразвитых цветков в колосе или метелке, масса 1000 зерен. Оценку гетерогенности семенного потомства исследуемых форм проводят по критериям: энергия прорастания семян; всхожесть; выживаемость проростков; количество проростков; индекс устойчивости (толерантности), определяемый как отношение длины корней у проростков на растворе с исследуемым загрязнителем к приросту корней на растворе того же состава без загрязнителя; выявление генотипов, характерных для той или иной среды в зависимости от уровня техногенной нагрузки.

### **История зарождения направления**

Генетический мониторинг основан на фундаментальных знаниях, накопленных генетикой. В процессе становления генетики как науки можно выделить несколько этапов. До конца IX в. в биологии выдвигались разные гипотезы о природе наследственности и изменчивости; основными предпосылками для формирования научных представлений об этих явлениях послужили наблюдения за половым размножением у животных и растений, результаты опытов по гибридизации растений и развитие учения о клетке. Основы современных представлений о наследственности и изменчивости организмов были впервые сформулированы чешским монахом Г. Менделем (G. J. Mendel) в 1865 г. Мендель установил строгие закономерности наследования родительских признаков в гибридном потомстве, выявил константность и контрастность их проявления, ввел понятия доминантности (преобладания) и рецессив-

ности (подавления), ввел уникальную форму генетической записи посредством буквенной.

В самом начале XX в. Г. де Фризом (H. de Vries) была сформулирована мутационная теория, хотя экспериментально индуцировать мутации долгое время не удавалось. В 1925 г. советские ученые Г. А. Надсон и Г. С. Филиппов открыли на низших грибах мутагенное действие рентгеновских лучей, показав, что после облучения возникают разнообразные радиорасы, свойства которых воспроизводятся в потомстве. В 1927 г. Г. Мёллер (H. J. Muller) в опытах на дрозофиле убедительно доказали, что ионизирующее излучение способно индуцировать мутации. Позже И. А. Рапопорт и Ч. Ауэрбах (Ch. Auerbach) открыли явление мутагенеза под влиянием химических веществ. Теперь известно, что в окружающей нас природной среде содержится много разнообразных химических, физических и биологических факторов (мутагенов), способных вызывать мутации у всех живых организмов, включая человека. К концу 80-х гг. XX в. у человека было выявлено свыше 4 тысяч мутантных фенотипов. Особое значение для слежения за частотой мутирования приобрел анализ мутаций белков крови. Мутационный анализ позволил изучить структуру гена гемоглобина и другие важные особенности строения, функции и организации генетического материала у человека.

В начале XX в. датский генетик В. Иогансен (W. Johannsen) сформулировал понятия «генотип» – совокупности наследственных задатков и «фенотип» – совокупности их проявлений; советский биолог И. И. Шмальгаузен ввел понятие «норма реакции генотипа», в пределах которой может варьировать его проявление в генотипе в ответ на изменение условий среды. Советскими генетиками Б. Л. Астауровым и Н. В. Тимофеевым-Ресовским в 20–30-е гг. XX в. были разработаны представления о комплексной обусловленности признаков организма взаимодействием генотипических, внутриорганизменных и внешнесредовых факторов.

В 1944 г. американские генетики Г. Бидл (G. W. Beadle) и Е. Тейтем (E. L. Tatum), обобщив опыт изучения биохимических мутантов у микроскопических грибов, предложили гипотезу о регуляции генами синтеза ферментов, выражаемую принципом «один ген – один фермент», что перевело фенетику на биохимический, а затем и на молекулярный уровень.

В 20-е гг. XX в. параллельно и независимо друг от друга советским ученым С.С. Четвериковым, английскими учеными Р.Фишером (R. Fisher) и Дж.Холдейном (J. B. S. Haldane) и американским ученым С. Райтом (S. Wright) были заложены основы популяционной генетики, сформулировано представление о генетической гетерогенности популяций, о роли системы скрещивания, колебаний численности, миграций организмов, мутаций репродуктивной изоляции и естественного отбора в изменениях генотипического состава популяций и их эволюции. Позже популяционная генетика составила основу синтетической теории эволюции.

Первостепенной задачей генетики стали оценка и последующее длительное динамическое слежение (мониторинг) за возможными отрицательными генетическими последствиями применения химикатов и других техногенных факторов, присутствующих в окружающей среде, как для самого человека, так и для животных, растений и микроорганизмов экологической среды человека. Значение генетического мониторинга факторов окружающей среды тем более велико, что мутагенез наряду с тератогенезом и канцерогенезом составляет основной комплекс отдаленных опасных последствий повышения концентрации биологически активных факторов в биосфере.

## **Выводы**

1. Генетический мониторинг – это научное направление, в рамках которого разрабатывается методология оценки появления и накопления в окружающей среде генотоксических веществ.
- 2.«Генетический мониторинг» рассматривается как наблюдение за уровнем мутационного груза в популяциях человека, животных и растений на генном, хромосомном, геномном уровнях и популяционных уровнях.
- 3.История развития генетического мониторинга неразрывно связано с развитием генетики как самостоятельной науки.

## **Вопросы и задания для самоконтроля**

1. Что такое генетический мониторинг. Дайте определение.
2. Основные задачи, который решает генетический мониторинг.
3. Когда появился термин «мониторинг», что он означает?
4. Какие ученые внесли свой вклад в развитие генетического мониторинга?
5. На каких уровнях могут происходить генетические изменения?
6. Какие основные задачи генетического мониторинга?
7. Перечислите виды генетического мониторинга.
8. Укажите основные подходы генетического мониторинга, а также применительно к агроэкосистеме.
9. Что такое цитогенетический скрининг, на каком уровне организации живого его проводят?

10. На каком уровне организации живого ведут анализ «сторожевых генотипов»?
11. Какие исследования проводят на популяционном уровне?
12. Перечислите основные этапы становления генетического мониторинга как самостоятельного научного направления.
13. Сколько лет существует генетический мониторинг. Аргументируйте и приведите примеры.
14. В чем значение генетического мониторинга для окружающей среды?

## 2 МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИХ И ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА НАСЛЕДСТВЕННЫЙ АППАРАТ КЛЕТКИ

### Тематические вопросы

1. Состояние вопроса.
2. Действие ионизирующего излучения.
3. «Немишеннные» феномены, их выраженность не увеличивается с дозой облучения.

За последние 50–60 лет относительный вклад в техногенную нагрузку факторов физической природы стремительно возрастает. Отмечено, что суммарная напряженность электромагнитных полей и интенсивность неионизирующих излучений увеличилась по сравнению с естественным фоном в 1000 – 1000000 раз. С точки зрения экологии и эволюции такое увеличение можно рассматривать как мгновенный скачек со сложно предсказуемыми медицинскими, биологическими и экологическими последствиями.

Ионизирующее излучение в отношении индукции биологических эффектов является наиболее изученным из факторов физической природы. Первые экспериментальные доказательства способности ионизирующего излучения индуцировать мутации были практически одновременно получены в середине 20-х гг. XX в Г. А. Надсоном и Г. С. Филлиповым на плесневых грибах *Mucor genevensis*, Г. Меллером на дрозофиле и Р. Стадлером на овсе. В результате этих исследований биологи впервые получили возможность экспериментально воздействовать на наследственную изменчивость. Ионизирующее излучение индуцирует весь спектр повреждений, возникающих в ДНК и спонтанно – от модификации отдельных оснований до делеции включающих в себя многие гены областей. Спектры спонтанных и индуцированных ионизирующим излучением повреждений ДНК существенно различаются. При спон-

танном мутагенезе большая часть (65 %) повреждений ДНК относится к генным мутациям, а именно – заменам пар оснований, то при радиационном мутагенезе в основном возникают делеции. Двунитевой разрыв ДНК (ДР ДНК) – самый опасный и сложно репарируемый тип повреждений генетического материала, индуцируемый ионизирующим излучением и некоторыми химическими мутагенами. В то же время ДР ДНК постоянно возникают в клетках, хотя и с гораздо меньшей частотой, в ходе нормального функционирования генетического аппарата.

При анализе биологических эффектов малых доз ионизирующих излучений (ИИ) важным является четкое представление о том, какие элементарные события происходят в облученной клетке и как соотносится уровень индуцированных генетических повреждений со спонтанным. Согласно исследованиям Б. Эймса, только за счет окисления активными формами кислорода в ДНК одной нормальной клетки человека в течение суток возникает 1 000 000 повреждений оснований. Такое же количество повреждений формируется при  $\gamma$ -облучении клеток дозой 0.5 Гр. В свете этих данных гораздо более понятными становятся оценки генетической эффективности естественного радиационного фона, на 6 порядков уступающие скорости образования спонтанных повреждений ДНК. Эта оценка остается справедливой даже с учетом того, что спектр индуцируемых ИИ повреждений смещен в сторону более тяжелых нарушений относительно спонтанных. Тем не менее, естественный радиационный фон индуцирует в клетке ДР ДНК в 1000 раз реже, чем они возникают спонтанно.

В начальный период развития радиобиологии принято было считать, что выход мутаций на единицу дозы одинаков как для малых, так и для больших доз (линейность) и предполагалось, что квант энергии излучения, воздействуя непосредственно на хромосому, вызывает в молекулах ДНК необратимые изменения (беспороговость). Эти постулаты легли в основу получившей в настоящее время наибольшее распространение



линейной беспороговой концепции, подразумевающей безусловную опасность любых уровней облучения, в том числе и не превышающих естественный радиационный фон. На молекулярном уровне действие ионизирующего излучения действительно является беспороговым, поскольку энергия любого кванта излучения превышает энергию связи в биологических макромолекулах.

Накопление экспериментальных фактов показало возможность модификации результатов мутационного процесса разными факторами, а также то, что первичные повреждения ДНК восстанавливаются в ходе репарационных процессов. Это в корне изменило концептуальную основу понимания мутационного процесса. Уже к середине прошлого века стало ясно, что при изучении биологического действия низких доз ИИ необходимо отойти от механически перенесенных из области больших доз представлений.

На вопрос о причине существенных различий в ответной реакции клетки на облучение в больших и малых дозах мы пока не имеем исчерпывающего ответа. На сегодняшний день известно, что закономерности формирования биологических эффектов больших и малых доз принципиально различаются. В этом различии существенную роль играют так называемые «немишеннные» феномены, их выраженность не увеличивается с дозой облучения. Характер проявления этих реакций самым существенным образом сказывается на форме дозовой зависимости и определяет ее нелинейность в диапазоне малых доз.

Перечислим наиболее существенные из них:

- различие систем репарации, активируемых в клетке в ответ на облучение в разных дозах;
- адаптивный ответ, заключающийся в увеличении устойчивости к большим дозам после воздействия в малых;
- эффект свидетеля состоящий в том, что часть не подвергшихся воздействию клеток реагируют так же, как облученные;

– генетическая нестабильность, проявляющаяся в повышенной частоте возникновения самых разных генетических нарушений (генных мутаций, aberrаций хромосом, гибели) в поколениях подвергшихся воздействию (не обязательно радиационному) клеток. Это явление может проявляться на протяжении многих поколений и характерно как для соматических, так и для половых клеток, и поэтому может проявляться у потомков облученных организмов.

Учет немитотических эффектов, играющих определяющую роль в формировании ответной реакции клетки на низкодозовое радиационное воздействие, позволяет объяснить имеющиеся в нашем распоряжении факты о закономерностях индукции генетических эффектов малыми дозами ионизирующих излучений, а именно:

- принципиальное различие биологических эффектов, индуцируемых облучением в больших и малых дозах;
- малая величина дозы, вызывающей вскоре после облучения увеличение метаболической активности в клетках разного типа;
- нелинейность формы дозовой зависимости;
- существование нижнего порога эффектов по дозе;
- зависимость эффекта от мощности дозы;
- неспецифичность в отношении природы иницирующих агентов.

Биологическое действие УФ-излучения обусловлено в основном процессами фотоэффекта и фотовозбуждения макромолекул. Мутагенное действие УФ-излучения связано с формированием пиримидиновых димеров.

Большинство физических и биологических явлений нашей повседневной жизни обусловлено электромагнитными силами. Внешние электромагнитные поля могут выступать как источники электромагнитных помех, снижающих надежность жизненных процессов человека, растений, животных и экосистем. Поглощение энергии электромагнитного поля (ЭМП) обусловлено торможением или ускорением свободных ионов

и заряженных молекул, а также переориентировкой диполей воды и молекулярных структур, имеющих дипольные группировки. Эти процессы приводят к выделению в биообъектах тепловой энергии. На принципах микроволнового нагрева основана работа печей.

Принципиальное различие физических механизмов передачи энергии биологическим объектам ЭМИ разных частотных диапазонов свидетельствует о возможности их специфического действия на компоненты экосистем. Сравнительный анализ данных о чувствительности живых организмов, находящихся на разных ступенях эволюционной лестницы, к действию ионизирующего и УФ-излучений свидетельствует о существенном различии рядов чувствительности организмов к действию этих факторов. Причем если в случае ионизирующего излучения чувствительность возрастает с увеличением сложности и эволюционной продвинутоности организмов, то для УФ-излучения характерна обратная тенденция. Имеющиеся данные относительно действия ЭМИ СВЧ-диапазона на компоненты агроэкосистем (растения, животные, насекомые, микроорганизмы) также свидетельствуют о различии рядов чувствительности живых организмов к действию ЭМИ разных частотных диапазонов. Отличие классического ряда радиорезистентности живых организмов от рядов резистентности для неионизирующих ЭМИ не ограничивается примером УФ- и СВЧ-воздействия. Таким образом, для каждого из диапазонов ЭМИ, различающихся физическими способами передачи энергии биологическим объектам, существуют свои специфические ряды резистентности.

Обращаясь к рассмотрению факторов химической природы в первую очередь необходимо подчеркнуть огромное разнообразие химических веществ и механизмов их действия. Способность вызывать мутации продемонстрирована для многих химических соединений при тестировании на самых разных организмах. Повсеместное распространение и широкий спектр

делают химические агенты особо опасными факторами для здоровья человека и природной среды.

Существуют серьезные отличия в механизмах действия физических и химических факторов, связанные в первую очередь с различиями в формах передачи энергии и путей поступления в клетки-мишени. В частности, начиная с определенной дозы ионизирующего излучения, дальнейшее ее снижение влияет только на долю пораженных ядер, оставляя неизменной величину средней энергии, абсорбированной ядром, в отличие от химических мутагенов, концентрацию которых можно уменьшать вплоть до молекулы на клетку. Специфика химических факторов обнаруживается также при анализе путей их поступления в клетки. Хотя излучения частично поглощаются покрывающей клетки-мишени тканью, но качество их при этом не меняется. Химические же агенты, проходя через метаболическую систему организма, изменяются самым непредсказуемым образом. При этом они могут как потерять свои токсические или мутагенные свойства, так и усилить их. Яркий пример такого превращения – циклофосфамид, широко используемый в качестве цитостатика. Это не мутагенное само по себе соединение в организме млекопитающих превращается в сильный мутаген. Таким образом, различия в генетическом действии этих двух групп мутагенов носят кардинальный характер. Именно поэтому, построенная на основе данных об облучении *in vitro* калибровочная кривая, может быть использована в целях биологической дозиметрии для оценки эффектов облучения *in vivo*. Трудно представить что-либо подобное в отношении химических субстанций.

Основная трудность при оценке мутагенной активности химических соединений связана с тем, что мутационный процесс в этом случае имеет видо- и тканеспецифический характер. Не менее 85 % химических соединений являются мутагенами в одних тест-системах и не обладают этим свойством в других. В основном это связано с различиями процессов биотрансформации и фармакинетики химических соединений у

разных видов, а также в клетках разных тканей в пределах одного организма. В результате мутагены в системе *in vitro* не обязательно являются мутагенами в системе *in vivo*, мутагены в соматических клетках не обязательно являются мутагенами для половых клеток, мутагены для крыс не всегда оказываются мутагенами для мышей и т. д.

В случае химических агентов связать экспозицию с биологическим эффектом достаточно сложно, поскольку их концентрация в клетке сложным образом зависит от концентрации в среде и должна измеряться непосредственно в мишенной биологической структуре.

К химическим мутагенам относят любые вещества, прямо или косвенно нарушающие структуру и воспроизведение молекул ДНК: альфатоксины, гетероциклический (HAs) и полициклический (AAs) ароматин, нитрозамин, полиароматический гидрокарбонат (PAHs), азотистую кислоту, соли тяжелых металлов, акридиновые красители, а также гербициды, инсектициды, некоторые лекарственные препараты, комплексно нарушающие метаболизм у млекопитающих и человека.

*Нитроароматические компоненты* содержатся в дизельном топливе и широко распространены в окружающей среде. Специфические продукты деградации взрывоопасны и загрязняют подземные воды. Положительные результаты получены с использованием биотеста на *Tradescantia* на примере загрязнения грунтовых вод нитрокомпонентами, извлеченными из высокоопасных материалов.

*Полиароматические гидрокарбонаты* широко распространены в экосистемах. В литературе описаны случаи раков у рыб, обитающих в воде, содержащей эти вещества. В(a)P – один из наиболее потенциально опасных канцерогенов PAHs, который при тестировании с помощью растений вызывает незначительные эффекты или дает отрицательный результат. Из этого можно заключить, что растительные биотесты являются нечувствительными мишенями к канцерогенам этого класса, и

что эти эффекты не могут быть обнаружены в окружающей среде при имеющихся концентрациях.

*Полициклические ароматические амины* оказывают воздействие на большинство изученных видов растений. В ряде исследований моноциклических, бициклических и полициклических ароматических аминов были использованы системы клеток растений. Многие из ароматических аминов, обнаруженных в окружающей среде, переводятся растениями в ходе пероксидазных реакций в высокомолекулярные продукты, которые эффективно индуцируют мутации в тестах на бактериях и клетках млекопитающих.

*Нитрозамины* могут быть обнаружены специфическими индикаторными растениями, такими как арабидопсис *Arabidopsis* и табак *Nicotiana Tabacum*. На других биотестах получены отрицательные результаты.

Особый класс химических мутагенов представляют вещества, непосредственно не взаимодействующие с ДНК, однако реализующие свою мутагенную функцию путем поражения ферментных систем клетки, контролирующих метаболизм ДНК. В случае мутагенов, относящихся к этому классу, следует ожидать существования реального порога в дозовой (концентрационной) зависимости, как это имеет место для общетоксикологического действия. В этой связи дозовая (концентрационная) зависимость для химических мутагенов может меняться от линейной к пороговой. В ряде случаев для химических мутагенов следует учитывать, что эффект является потенциально беспороговым до тех пор, пока не показано для конкретного химического соединения, что это не так. В этих условиях единственная разумная стратегия тестирования связана с минимализацией генетической опасности, когда из всех потенциально опасных выбирают ситуацию с минимальным уровнем генетического риска.

К наиболее распространенным химическим мутагенам в агросекторе относят пестициды и соли тяжелых металлов. Понятие «тяжелые металлы» объединяет широкий круг элемен-

тов, существенно различающихся по своим химическим свойствам, биологической доступности, скорости миграции и пространенности в биосфере. К тяжелым металлам относят химические элементы, имеющие атомный вес более 40.

Токсичности тяжелых металлов, их миграции, накоплению и реакции на них отдельных организмов и целых экосистем посвящено большое количество исследований. Вместе с тем, несмотря на обилие публикаций, целостной теории токсичности тяжелых металлов пока не существует. Отсутствует ясное представление о возможных негативных последствиях загрязнения среды тяжелыми металлами. Слабо разработаны вопросы прогноза отдаленных генетических последствий хронического воздействия металлов в низких концентрациях, а также вопросы воздействия на организм тяжелых металлов в сочетании с другими химическими и физическими факторами.

Специалистами по охране окружающей среды выделена приоритетная группа наиболее токсичных тяжелых металлов. Это ртуть, свинец и кадмий. По абсолютной величине в техногенных выбросах преобладает свинец, однако если оценивать поступление тяжелых металлов в биосферу по отношению к их кларковому содержанию, то наиболее опасным элементом является кадмий. Кадмий не относится к числу элементов, необходимых для нормальной жизнедеятельности животных и растений. Ионы кадмия обладают высокой общей токсичностью и канцерогенной активностью. Данные о мутагенном эффекте кадмия противоречивы.

Многочисленными исследованиями на биологических объектах разного уровня организации – от микроорганизмов до млекопитающих, показано, что соли тяжелых металлов обладают мутагенными и канцерогенными свойствами. Большинство из них являются метаболическими ядами, действующими на энергетику клетки, фотосинтез и регуляторные процессы. Поэтому мутагенное действие тяжелых металлов является, как правило, побочным эффектом, результатом нарушения метаболизма, проницаемости мембран и т.п. Следует

учесть, что многие тяжелые металлы являются биологически активными соединениями, микроэлементами, жизненно необходимыми для организмов. Поэтому для некоторых из них не существует биологических барьеров при поступлении в организм, и они способны в значительных количествах концентрироваться в отдельных органах, тканях и даже субклеточных структурах.

В отличие от других химических веществ, пестициды целенаправленно рассеиваются человеком в биосфере. Система химической защиты урожая к настоящему времени превратилась в новый, неведомый ранее экологический фактор. По сравнению с тяжелыми металлами механизмы токсического действия пестицидов не так разнообразны и сводятся к нарушению нескольких метаболических процессов: преобразование энергии в хлоропластах и митохондриях, передача нервного импульса в нейронах и биосинтез некоторых жизненно важных для клетки соединений. Эти процессы, несмотря на очевидные различия, имеют общую черту: их ключевые этапы осуществляются на клеточных мембранах и катализируются специализированными мембранными белками.

## **Выводы**

1. Клетка по разному реагирует на малые и большие дозы ионизирующего излучения. Важно учитывать «немишенный» феномен.

2. Биологическое действие УФ-излучения обусловлено в основном процессами фотоэффекта и фотовозбуждения макромолекул.

3. Было показано, что соли тяжелых металлов обладают мутагенными и канцерогенными свойствами. Большинство из них являются метаболическими ядами, действующими на энергетику клетки, фотосинтез и регуляторные процессы.



4. Механизмы токсического действия пестицидов не так разнообразны как у металлов и сводятся к нарушению нескольких метаболических процессов: преобразование энергии в хлоропластах и митохондриях, передача нервного импульса в нейронах и биосинтез некоторых жизненно важных для клетки соединений.

5. Несмотря на очевидные различия металлов и пестицидов, они имеют общую черту: их ключевые этапы осуществляются на клеточных мембранах и катализируются специализированными мембранными белками.

### **Вопросы и задания для самоконтроля**

1. Какая степень изученности ионизирующего излучения по сравнению с другими факторами, влияющими на генетический аппарат клетки?
2. Как проявляют свое действие малые дозы ионизирующего излучения на организм?
3. Что такое «немишенный феномен»?
4. Какие реакции клетки проявляются при малых дозах ионизирующего излучения?
5. В чем существенное различие физических и химических факторов в их действии на клетку?
6. Какие вещества относят к химическим мутагенам?
7. Какие наиболее распространенные мутагены в аграрном секторе?
8. Как действуют пестициды в агроэкосистеме?

### **3 ДЕЙСТВИЕ МЕТАЛЛОВ НА НАСЛЕДСТВЕННЫЙ АППАРАТ КЛЕТКИ**

#### **Тематические вопросы:**

1. Мутагенный эффект металлов
2. Действие металлов на митоз
3. Действие металлов в фитоцинозах. Синергические и антагонистические эффекты металлов

Важным свойством, определяющим биологическую эффективность ионов металлов, является их способность к комплексообразованию. Токсичность растворов солей металлов положительно связана с электроотрицательностью, которая определяет способность металла вступать в химические реакции с образованием ионных или ковалентных связей. Важной характеристикой биологического действия ионов металлов является произведение растворимости их сульфидов. Более токсичными являются металлы, образующие наименее растворимые сульфиды. Эта закономерность представляет собой отражение двух взаимосвязанных явлений: особого родства многих металлов к тиоловым (сульфгидрильным) группам, с одной стороны, и биологической роли SH-групп – с другой.

Все металлы обладают той или иной активностью. Рассмотрим детально действие каждого металла.

Металлы группы IA – литий (Li), рубидий (Rb) и цезий (Cs). Данные по действию лития на хромосомы высших организмов различны. В одних случаях металл не оказывает эффекта на хромосомы, в других – отмечено увеличение частоты нарушения хромосом. Цитотоксического эффекта металлов рубидия и цезия – не обнаружено.

Группа IB – Медь (Cu), серебро (Ag) и золото (Au). Из трех металлов только медь обладает специфическим действием на живые клетки. В сульфатной форме медь вызывает дезинте-

грацию хроматина и уменьшение митотического индекса, приводящего к летальности растительных систем после обработки высокими дозами. При анализе действия родственных групп одного металла  $\text{CuCl}_2$ ,  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{CuSO}_4$ ,  $(\text{CN}_4)_2\text{CuCl}_2$  различий не обнаружено.

Группа II – Бериллий (Be), магний (Mg), кальций (Ca), барий (Ba), радий (Ra), стронций (St).

Сульфат бериллия обладает канцерогенным эффектом, металл показал высокий летальный эффект, но еще не был изучен детально на уровне хромосом.

Проявление магния варьируется в биологических тканях. Сульфат Mg в высоких дозах вызывает нарушения в митотических клетках *Allium* сера, в материнских и отцовских клетках у млекопитающих вызывает появление фрагментов хромосом и терминальных делеций.

Кальций способен вызывать негативное действие в микроядрах, о чем свидетельствуют появление хромосомных аберраций, включая мосты и фрагменты хромосом, что удалось наблюдать на примере саранчовых *Spathosternum prasinifer*.

Барий и радий активны в генетическом плане как сульфаты и фосфаты, и негативны как  $\text{NH}_2$ , SH и COOH. Кластогенная активность этих соединений еще исследована. Высокие дозы  $\text{BaCl}_2$  вызывают разрушения веретена у обоих типов растительных систем: наземных и водных.

Действие стронция похоже на действие многих других металлов, оно проявляется в способности нарушать веретено деления в зависимости от дозы.

Металлы группы IIВ – цинк (Zn), кадмий (Cd) и ртуть (Hg) исследованы на цитотоксический эффект. Цинк – этот металл увеличивает число хроматидных разрывов в зависимости от дозы. Ацетат цинка увеличивает хроматидные аберрации и уровень плоидности в лимфоцитах человека. При низких дозах металла наблюдали дицентрические фрагменты хромосом.

У растений – на примере *Allium* сера хлорид цинка увеличивает число аберраций хромосом и снижается частота мито-

зов. Действие цинка на растения зависит от комплексного взаимодействия с другими существующими веществами, такими как Cu, Fe, Mg и Ca.

Кадмий является очень токсичным металлом. Ранее полученные данные о кластогенном эффекте кадмия противоречивы. У лука, *Allium* сера, соль кадмия обуславливает нарушение веретена деления, но не хромосомные aberrации. Однако, хлорид кадмия, как наблюдали на объектах *Allium* сера, *Beta vulgaris*, *Hordeum vulgare*, *Crepis capillaris*, *Vicia faba*, *Nigella damascena*, индуцирует хромосомные aberrации и нарушает веретено деления. Число разрывов возрастает пропорционально концентрации  $CdCl_2$ . Главные нарушения, связанные с действием Cd, включают нарушения веретена деления, гипер- и полиплоидию.

Ртуть – этот метал обладает кумулятивным и летальным эффектом при высоких концентрациях. В высоких дозах ртуть вызывает аномалии в структуре хромосом и ядер: хромосомные и хроматидные aberrации, анеуплоидию.

Группа IIIA – Бор (B), алюминий (Al), галлий (Ga), индий (In), таллий (Th).

Алюминий. Впервые действие этого металла, при различных концентрациях было обнаружено на корешках бобов *Vicia faba* в следующих аномалиях: фрагменты и мосты хромосом в анафазе и телофазе, микроядра и двуядерные клетки. Подобные нарушения были обнаружены и на других объектах: *Vicia unguiculata*, *Vicia faba*, *Cucurbita pepo*, *Glycine max*, *Lycopersicon esculentum*, *Pisum sativum*, *Phaseolus angularis*, *Lactuca sativa*, *Zea mays*, *Arctium lappa*.

Таллий, бор, галлий и индий - действуют в основном на веретено деления и вызывают появление мостов в мейозе при расхождении унивалентов.

Группа IIIB - лантан (La) и церий (Ce) – обуславливают появление сегментов хромосом.

Группа IVA. Металлы этой группы германий (Ge), олово (Sn) и палладий (Pd) обладают цитотоксичностью, как и ме-

таллы соседней группы IVB – титан (Ti), кремний (Si), гафний (Hf) и свинец (Pb). Соли олова и палладия более токсичны, чем другие металлы. Органические соли германия, олова и палладия более токсичны, чем неорганические.

Из всех металлов этой группы наибольшим эффектом обладает свинец. Хлорид цинка, как отмечено ранее, ингибирует рост клеток и останавливает клеточное деление у некоторых видов водорослей *Poteroiochromonas malhamensis* и высших растений: *Crepis capillaris* и *Allium sera*. Эффект свинца по разному себя проявляет как у водных, так и у растений суши, в этой связи для точной идентификации действия металла большое значение имеет выбор тест-системы и времени экспозиции.

Группа VA. Среди металлов этой группы (мышьяк (As), сурьма (Sb) и висмут (Bi)), только мышьяк обладает класто-генным эффектом. Он останавливает клеточное деление в различных клетках животных и растений, однако не проявляет мутагенной активности.

Группа VB. Представитель этой группы – ванадий (V) в пентавалентной форме более токсичен, чем в тривалентной. Однако на данный момент не получено конкретных данных о канцерогенном, мутагенном или тератогенном эффекте на клетки человека и растений.

Группа VIA. Из трех металлов этой группы (селен (Se), теллур (Te) и полоний (Po)) только у селена наблюдали класто-генный эффект. Он проявлялся в уменьшении рекомбинаций в мейозе, что наблюдали у ячменя, а также его действие проявлялось в нарушении веретена деления у *Allium sera*.

Группа VIB. Металлы этой группы хром (Cr), молибден (Mo) и вольфрам (W) токсичны и распределяются по степени токсичности следующим образом:  $Se > Te > Mo > Cr > W > Cr$ .

Группа VII A, B. Представитель этой группы марганец (Mn) способен вызывать нарушения веретена деления, как

было отмечено в митотических клетках у *Allium* сера и эффект металла растет пропорционально увеличению дозы.

Группа VIIIВ. Из группы этих металлов только 9 обладают разно выраженным кластогенным эффектом: железо (Fe), кобальт (Co), никель (Ni), рутений (Ru), родий (Rh), палладий (Pd), осмий (Os), иридий (Ir), платина (Pt).

Железо – низкие концентрации способны увеличивать разрушение веретена деления *Allium* сера. Высокие дозы вызывают хромосомные аномалии у *Vallisneria spiralis* и *Allium sativum*.

Кобальт – действие этого металла было изучено на корнях *Allium* сера, который вызывает нарушения веретена деления.

Полученные данные о кластогенных свойствах никеля противоречивы. В одних случаях он обуславливает митотические aberrации, в других случаях – нет. У растений *Vicia faba* и *Allium* сера этот металл вызывает нарушение митотического цикла.

Действие платины на корни *Crepis capillaris* проявляется в появлении изохромосом и хроматидных транслокаций.

Все металлы, согласно их действия на растительные объекты, можно разделить на 3 группы:

I группа – металлы с сильно выраженным эффектом: Tl, Cd, Cu, Ag, Cr, Co, Ni, Pt, Pd, Be, Au.

II группа – металлы с активным эффектом: Zn, Al, Ca, Mn, Fe, Se, Rb, Sr, Ca, Th, U.

III группа – металлы инактивные: B, Na, K, Mg, V, As, Mo, Ba, Pb, Bi.

Действие металлов на хромосомы и клеточный цикл высших организмов характеризуется несколькими общими тенденциями:

первая тенденция – одни и те же металлы могут проявлять по разному свое действие. Например, селен в малых дозах способен вызывать кластогенный эффект у животных, но не оказывает никакого влияния на растения;

вторая тенденция – токсичность металла может быть прямо пропорциональна атомному весу, как например у лития и бария;

третья тенденция – инициация и величина кластогенного эффекта каждого металла связана с рядом факторов, включая тест-систему, тип ткани и ее специфичность. У растений кластогенный эффект металла часто зависит от группы или вида животных, а также от места обитания объекта (вода или суша).

Механизмы влияния металлов на ростовые процессы растений изучены в большей степени, чем приводящие к мутагенным эффектам. Важным механизмом, обеспечивающим возможность функционирования образовательных тканей в неблагоприятных условиях, в том числе при избытке ионов металлов, является контроль клеточного цикла. У всех эукариот движение по клеточному циклу контролируется циклин-зависимыми киназами (CDK), которые связаны с определенными регуляторами – циклинами. На активность CDK оказывают влияние внутриклеточные сигналы, в том числе индуцируемые внешней средой, в роли которых могут выступать повреждения ДНК и веретена деления, изменение уровней содержания ауксина и цитокинина, окислительно-восстановительного гомеостаза и мембранного потенциала, величина которого непосредственно связана с ионными градиентами, в частности  $K^+$ ,  $H^+$ ,  $Ca^{2+}$ . В результате этих процессов изменяется длительность клеточного цикла за счет задержки в контрольных точках, в основном  $G_1/S$ ,  $G_2/M$ , и/или продолжительности определенных фаз.

Важное значение задержки предсинтетической фазы в выживаемости клеток показана в исследованиях с дрожжами, насекомыми, млекопитающими и растениями. При прорастании семян задержка предсинтетической стадии играет особую роль, поскольку клетки эмбриона синхронизированы в  $G_1$  либо на стадии  $G_1$  и лишь частично  $G_2$  в зависимости от вида. При неблагоприятных условиях увеличение продолжительно-

сти предсинтетической стадии, одновременно менее чувствительной к повреждающим ДНК воздействиям, обеспечивает возможность выживания меристематических клеток. Например, восстановление функций меристем растений при воздействии высоких концентраций кадмия осуществляется за счет клеток, находившихся во время обработки токсикантом в  $G_1$ .

Некоторые металлы могут приводить к аномалиям митоза и удлинению по этой причине клеточного цикла не за счет непосредственного повреждения нитей веретена деления, а нарушая другие процессы, обеспечивающие нормальное движение хромосом к полюсам. Так литий вызывает задержку или полную остановку анафазного движения хромосом в клетках волосков тычинок традесканции, ингибируя полифосфоинозитидный цикл.

Таким образом, снижение пролиферативной активности клеток образовательных тканей растений может являться следствием разных процессов: с одной стороны – находящейся под генетическим контролем регуляции клеточного цикла, позволяющей сохранять нормальное функционирование меристем при воздействии металла за счет увеличения либо времени на репарацию ДНК либо длительности стадии, во время которой ДНК менее чувствительна к внешним воздействиям, с другой – приводящего к изменению ploидности клеток меристем, нарушения расхождения хромосом к полюсам и цитокинеза.

На фитоценозы оказывают одновременное влияние разные по природе факторы. С этой точки зрения особенно важно знать закономерности и механизмы совместного действия ионов металлов на растения. Изучение изменений физиолого-биохимических процессов, роста и развития растений при одновременном воздействии на них металлов началось в конце XIX в в рамках агрохимических исследований. В этих работах основное внимание обращалось на увеличение или снижение поступления в растения одного макро- или микроэлемента в присутствии другого, и были введены понятия соответственно



синергического и антагонистического характеров поступления ионов в клетки. Наибольший антагонизм проявляют элементы-аналоги или катионы одинаковой валентности, способные образовывать сходные комплексы.

В целом ТМ являются сильным токсичным и мутагенным фактором, причем их совместное действие может привести к достоверно высоким мутагенным и токсическим эффектам, которые не возникают при раздельном действии факторов в таких же дозах.

### **Выводы**

1. Важным свойством, определяющим биологическую эффективность ионов металлов, является их способность к комплексообразованию. Токсичность растворов солей металлов положительно связана с электроотрицательностью, которая определяет способность металла вступать в химические реакции с образованием ионных или ковалентных связей.

2. Мутагенный эффект наиболее токсичных соединений выявляется при дозах, не превышающих  $EC_{50}$ . Низкие концентрации металлов, еще не оказывающие токсического действия на клетки, могут снижать эффективность репарации повреждений ДНК.

3. Ионы металлов генерируют образование свободных форм кислорода, вызывающих повреждения оснований, одиночные разрывы ДНК и являющихся сигналом к изменению генной экспрессии и апоптозу.

4. В зависимости от концентрации, ионы металлов могут индуцировать повреждения ДНК и/или нитей веретена деления. В ответ на оба эти типа нарушений осуществляется задержка клеточного цикла.

5. ТМ являются сильным токсичным и мутагенным фактором, причем их совместное действие может привести к достоверно высоким мутагенным и токсическим эффектам, которые не возникают при раздельном действии факторов в таких же дозах.

## **Вопросы и задания для самоконтроля**

1. Что является важной характеристикой биологического действия ионов металлов?
2. Как действуют низкие концентрации металлов?
3. Какой механизм влияние металлов на ростовые процессы у растений?
4. Как металлы действуют на митотический цикл?
5. Влияет ли концентрация на эффект металлов при воздействии на клеточные структуры?
6. Как проявляют себя металлы в фитоценозах?
7. Что такое синергический мутагенный и токсический эффекты? Приведите примеры.
8. Как проявляется антогонистический эффект металлов?

## **4 ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕСТ-СИСТЕМ, ПРИМЕНЯЮЩИХСЯ В ГЕНЕТИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ**

### **Тематические вопросы**

1. Тесты, основанные на генных мутациях.
2. Цитогенетический анализ. Пыльцевой тест.
3. Флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH).
4. Анафазный метод и микроядерный тест.
5. Алкалиновый метод комет-тест.
6. Соматические рекомбинации и сестринские хроматидные обмены.
7. Оценка частоты доминантных и рецессивных эмбриональных леталей.
8. Флуктуирующая асимметрия.

Тест-системы, которые используются в генетическом мониторинге в агроэкологии учитывают несколько уровней организации живого организма. Кратко остановимся на базовых тест-системах.

*Тесты, основанные на генных мутациях.* Мутации на геномном уровне включают в себя замещения оснований, которые ведут к изменениям аминокислот, или сдвигу рамки считывания, который происходит вследствие встраивания или удаления оснований. Генные мутации ведут либо к инактивации гена, либо к изменению его функции. В частности, мужские гаметофиты могут быть эффективно использованы в программах скрининга мутагенов, базирующихся на большом количестве просмотренных клеток. Одним из преимуществ этой тест-системы связано с гаплоидным состоянием пыльцевых зерен. Поэтому все мутации, оказывающие влияние на развитие пыльцы, легко фиксируются. Оценка частоты abortивных пыльцевых зерен отражает нарушения практически во всех

частях генома. Основные критерии распознавания abortивных пыльцевых зерен: изменение размера, измененная форма; плохое прокрашивание, поскольку abortивные пыльцевые зерна не окрашиваются.

*Цитогенетический анализ* тканей растений (главным образом кончиков корней, верхушечной и интеркалярной меристемы) является одним из наиболее широко используемых, простых, надежных и недорогих методов. С помощью цитогенетических методов можно анализировать как аберрации хромосом, так и геномные мутации. Геномные мутации представляют собой изменение числа хромосом в клетке, которое может заключаться в увеличении копий всего гаплоидного набора хромосом (полиплоидия), либо в изменении числа индивидуальных хромосом (анеуплоидия). Структурные перестройки легче всего анализировать в анафазе и метафазе. Закономерности формирования цитогенетических эффектов идентичны в половых и соматических клетках. *В этой связи, пыльцевые зерна на стадии мейоза и митоза и соматические (клетки меристемы кончика корня, интеркалярной и апикальной меристемы) могут быть использованы для цитогенетического анализа.*

Цитогенетические нарушения многие годы использовались как мера репродуктивного успеха у растений. Частота цитогенетических нарушений коррелирует с морфологическими изменениями, фертильностью, стерильностью, частотой мутаций и другими характеристиками растений. Частота разных видов цитогенетических нарушений при действии агентов, различающихся механизмами биологического действия, может увеличиваться по-разному. Установлено, что ионизирующее излучение увеличивает главным образом частоту аберраций хромосом (делеции, транслокации), в то время как химические агенты чаще индуцируют генные мутации или нарушения митотического аппарата (мультиполярные митозы, отставшие хромосомы). Вместе с частотой нарушений в митотических и мейотических клетках важно оценивать также мито-

тический индекс и долю клеток в разных фазах митотического цикла (профаза, метафаза, ана-телофаза). Продолжительность разных стадий митоза дает дополнительную информацию о специфических закономерностях биологического действия поллютантов.

Наиболее информативен *цитогенетический анализ в метафазе*. Он не только позволяет оценить общую частоту хромосомных и хроматидных нарушений с высокой точностью. Если хромосом в кариотипе немного и они морфологически различны, метафазный анализ позволяет точно определить, какая из хромосом повреждена. Оценка цитогенетических нарушений облегчается при использовании видов растений, имеющих небольшое количество крупных хромосом таких, как *Crepis capillaries* ( $2n = 6$ ), *Vicia faba* ( $2n = 12$ ), *Hordeum vulgare* ( $2n = 14$ ), *Allium cepa* ( $2n = 16$ ), диплоидные ( $2n = 12$ ) и триплоидные ( $2n = 24$ ) клоны *Tradescantia*.

*Флуоресцентная in situ гибридизация (FISH)* предоставляет новые возможности для изучения aberrаций хромосом, поскольку позволяет обнаруживать наследуемые в ряду клеточных поколений изменения, такие как реципрокные транслокации, инверсии и инсерции, которые сложно обнаружить стандартными цитогенетическими методами. Этот метод позволяет определить и более детально локализовать хромосомные перестройки в митозе и мейозе. В этом методе используют пробы ДНК, комплементарные к определенной хромосоме, определенному участку хромосомы или гену. Определение меченого флуоресцентными антителами участка осуществляется с помощью флуоресцентного микроскопа. Детальный анализ хромосомных перестроек в интерфазном ядре с помощью FISH метода особенно актуален для тканей, в которых мутагенное воздействие ведет к замедлению деления клеток.

Для быстрой оценки качества окружающей среды используют *анафазный метод и микроядерный тест*. Анафазный анализ дает информацию о разных типах цитогенетических

нарушений: хроматидные (одиночные) и хромосомные (двойные) мосты и фрагменты, а также митотические аномалии (мультиполярные митозы и отставшие хромосомы). Источником хромосомных aberrаций являются повреждения хромосом, в то время как митотические аномалии возникают вследствие нарушений в митотическом аппарате, в частности, веретена деления. Микроядра представляют собой экстраядерные образования, источником которых могут служить поломки хромосом либо нарушения митотического аппарата. Оценивать частоту микроядер легче, чем aberrации хромосом. Несколько сравнительных исследований показали, что микроядерный тест по чувствительности к генотоксическим агентам не уступает основанным на хромосомных aberrациях тестам. Для формирования микроядер необходимо деление клеток, поэтому микроядерный тест не может быть использован, если деление клеток подавлено. Поэтому при разработке протокола микроядерного теста необходимо принимать во внимание продолжительность клеточного цикла и обусловленную воздействием возможную задержку деления. В микроядерном тесте на традесканции используется специфическая стадия развития пыльцевых зерен (ранние тетрады), поэтому информация о продолжительности воздействия и времени, необходимым для деления материнских пыльцевых клеток должна быть включена в план эксперимента. При оценке цитогенетических эффектов в корневой меристеме должна быть определена локализация области меристемы, где клетки делятся после воздействия.

Алкалиновый метод комет позволяет определить одиночные и двойные разрывы ДНК, неправильно или не до конца репарированные участки ДНК и изменения конформации ДНК с помощью анализа миграции ДНК через агарозный гель в электрическом поле. Много методик было развито и измерение нескольких показателей (длина хвоста, хвостовой момент и др.) обосновано для оценки повреждения ДНК методом комет. Этот метод может быть очень полезен при исследовании

репарации повреждений ДНК, индуцированных разными агентами в клетках разных типов. Одна из специфических проблем, возникающих при применении метода комет на растениях, связана с необходимостью удаления клеточной стенки без повреждения ядра. Также этап лизиса и уменьшение времени электрофореза требуются для предотвращения формирования комет в не подвергшихся воздействию клеточных ядрах некоторых видов растений.

*Соматические рекомбинации и сестринские хроматидные обмены* являются результатом изменений в хроматидах, которые могут влиять на экспрессию генов. Эти события не приводят к изменению генетической информации, но отражают дестабилизацию генома вследствие повышенной рекомбиногенной активности. Сестринские хроматиды становятся видимыми с помощью включения бромдеоксиуридина (BrdU) в ДНК вследствие разного прокрашивания хроматид, содержащих и не содержащих BrdU. Методика оценки соматической рекомбинации и сестринских хроматидных обменов разработана для клеток корня *Vicia faba* и *Crepis capillaries*, а также на трансгенных *Arabidopsis* и *Nicotiana tabacum*.

В целях генетического мониторинга окружающей среды оценивают частоту доминантных и рецессивных *эмбриональных леталей*. Доминантные эмбриональные летали у гетерозигот генерации M1 ведут к нарушениям эмбрионального развития или могут проявиться на стадии всходов. Рецессивные летальные мутации могут проявляться на гаплоидной стадии развития и приводить к летальности гомозигот генерации M2. Эмбриональные летали подразделяют на 7 основных групп. Летали типов *sicca*, *brevis*, *vana* и *diffusa* приводят к нарушению развития эмбриона в начале стадии дифференциации семян. В созревших стручках такие эмбрионы могут быть обнаружены по коричневой пигментации растительных тканей. Эмбриональные летали *musca*, *parva* и *fusca* проявляются в нежизнеспособности потомства на стадии проростков. Хло-

рофильные мутации (*albina*, *lutea*, *xantha chlorine*) можно регистрировать одновременно с эмбриональными летелями.

*Флуктуирующую асимметрию* определяют как ненаправленную изменчивость левой и правой сторон билатерального признака. Она может увеличиваться в результате неспособности контролировать онтогенетическое развитие в условиях генетического или внешнего стресса. Флуктуирующая асимметрия возрастает с увеличением загрязнения окружающей среды. Исключением являются устойчивые к загрязнению виды, такие как *Salix borealis*. Поскольку обладающие большей симметрией организмы демонстрируют большую приспособленность, увеличение флуктуирующей асимметрии может рассматриваться как индикатор вредного воздействия на растения.

Некоторые растения позволяют анализировать отклик на внешнее воздействие одновременно нескольких тест-систем. Такой подход позволяет получить более реалистичную и глубокую картину действия поллютанта. Так, при обработке семян ячменя мутагеном одновременно можно определять следующие показатели: частоту мутаций в специфическом локусе (например, *waхu*) и в множественных локусах; частоту аберраций хромосом в митозе и мейозе; частоту микроядер в мейотических тетрадах; стерильность; частоту эмбриональных летелей; частоту разрывов ДНК.

## Выводы

1. Мутации на генном уровне включают в себя замещения оснований, которые ведут к изменениям аминокислот, или сдвигу рамки считывания, который происходит вследствие встраивания или удаления оснований. Генные мутации ведут либо к инактивации гена, либо к изменению его функции.
2. Геномные мутации представляют собой изменение числа хромосом в клетке, которое может заключаться в увеличении копий всего гаплоидного набора хромосом (полиплоидия),



либо в изменении числа индивидуальных хромосом (анеуплоидия).

3. Соматические рекомбинации и сестринские хроматидные обмены являются результатом изменений в хроматидах, которые могут влиять на экспрессию генов.

4. *Флуоресцентная in situ гибридизация (FISH)* этот метод позволяет определить и более детально локализовать хромосомные перестройки в митозе и мейозе.

5. *Флуктуирующая асимметрия* позволяет определить как ненаправленную изменчивость левой и правой сторон билатерального признака, которая контролирует онтогенетическое развитие в условиях генетического или внешнего стресса.

### **Вопросы и задания для самоконтроля**

1. Перечислите базовые тест-системы.

2. В сущность цитогенетического анализа?

3. В чем сущность тестов, основанных на генных мутациях?

4. Как действует ионизирующее излучение на хромосомы?

5. В чем заключается цитологический анализ в меристеме?

6. Что такое флуоресцентная *in situ* гибридизация?

7. В чем сущность анафазного метода и микроядерного теста?

8. Где применяется метод комет?

9. Опишите сущность метода, основанного на соматических рекомбинациях и сестринских хроматидных обменах.

10. Как применяют метод флуктуирующей асимметрии в генетическом мониторинге?

## 5 РАСТЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ ТЕСТ-СИСТЕМ

### Тематические вопросы:

- 1.Преимущества растений как тест-систем
- 2.Развития растений и их значение для мониторинга
3. Преимущества растительных тест-систем
- 4.Недостатки растений как тест-систем
- 5.Характеристика некоторых растений как тест-систем

В генетическом мониторинге в агроэкологии растения занимают ведущую роль, поскольку они доминируют в любом ландшафте и составляют 99 % всей биомассы Земли, воздействие на них может изменить структуру и функции экосистемы, что ведет к снижению первичной продуктивности, увеличению поверхностного стока и эрозии почв, деградации среды обитания.

Чтобы быть хорошим биоиндикатором, тест-организм должен позволять получить информацию о возможной опасности воздействия прежде, чем произойдут экологически значимые нарушения. Растения постоянно реагируют на огромное количество параметров окружающей среды с высокой чувствительностью и могут быть эффективно использованы для оценки присутствия широкого круга поллютантов, особенно токсикантов, непосредственно действующих на мишенные структуры клетки. Ответная реакция растений на воздействие может быть оценена на разных уровнях биологической организации от ДНК и хромосом до организма и популяции. Эффекты загрязнения сначала проявляются на молекулярном уровне, что делает анализ ответных реакций клетки удобным инструментом для ранней диагностики воздействия. Изменения на уровне клетки могут быть менее очевидны, чем непосредственно видимые эффекты поллютантов, но в плане отдаленных последствий они являются более значимыми. В мониторинге окружающей среды основным объектом исследования явля-

ются популяции и экосистемы, поэтому отклик используемых тест-систем должен быть тесно связан с эффектами на этих уровнях организации. Становится все более очевидным, что изменения на уровне клетки могут влиять на биологические параметры популяционного уровня, такие как здоровье и репродуктивные функции. Эти типы эффектов вызывают особое беспокойство, т.к. они могут проявляться сами спустя долгое время после того, как источник воздействия исчез из среды обитания. Поэтому именно генетические тест-системы должны использоваться для ранней и надежной диагностики нарушений, возникающих в результате деятельности человека. Ниже перечислены преимущества использования высших растений в мониторинге окружающей среды.

Растения – необходимый и обязательный компонент любой экосистемы. Вследствие прикрепленного образа жизни растения постоянно подвергаются воздействию находящихся в окружающей среде поллютантов и характеризуют экологическую ситуацию в месте своего произрастания наилучшим образом. Находясь в основании пищевых цепочек, растения испытывают воздействие токсических агентов раньше, чем организмы, находящиеся на более высоких трофических уровнях. Растения обладают способностью эффективно концентрировать и преобразовывать находящиеся в окружающей среде вещества, что увеличивает чувствительность и информативность их использования в целях контроля качества окружающей среды. Высшие растения могут быть эффективно использованы в полевых условиях для оценки качества воздуха, воды и почвы и для оценки эффектов хронического воздействия. Тест-системы высших растений могут быть объединены с микробиологическими тестами для выявления промутагенов. Хромосомы и клеточное ядро растений, млекопитающих и других эукариот сходны по своему строению, функциям, жизненному циклу и реагируют на воздействие мутагенов сходным образом. Растительные тест-системы мо-

гут эффективно использоваться в широком диапазоне условий окружающей среды.

Для растений характерны высокие темпы развития, быстрая смена фаз онтогенеза. Они производят большое количество потомков, что открывает широкие возможности для исследования наследственных эффектов. Генетическая идентичность используемых в целях биоиндикации растений может быть достигнута путем вегетативного размножения.

Разработано значительное количество растительных тест-систем для оценки действия техногенных поллютантов на разных уровнях биологической организации. Методики работы с большинством растительных тест-систем детально отработаны, носят стандартизованный характер и не требуют высокой квалификации персонала. Использование большинства растительных тест-систем относительно недорого.

С другой стороны, существуют ограничения для использования растительных тест-систем в мониторинге. Жизненный цикл растений длиннее, чем у бактерий, дрожжей и дрозофилы. Существуют значительные фармакокинетические и биохимические различия между растениями и млекопитающими. Поэтому тест-системы растений не обладают чувствительностью к некоторым классам промутагенов, таким, как нитрозамины, гетероциклические амины и полициклические ароматические гидрокарбонаты.

Такие растения, как конские бобы, лук, традесканция, кукуруза, ячмень и соя обладают существенными преимуществами по сравнению с другими тест-объектами (таблица 1).

Таблица 1 – Наиболее часто используемые в скрининге мутагенов растительные тест-системы

Растение	Тест-системы
Традесканция ( <i>Tradescantia</i> , 2n = 24)	Мутации в клетках тычиночных нитей. Изменения хромосом в митозе. Микроядерный тест.
Бобы ( <i>Vicia fabia</i> , 2n = 12)	Изменения хромосом в митозе.
Скерда ( <i>Crepis capillaris</i> , 2n = 6)	
Соя ( <i>Glycine max</i> , 2n = 40)	Соматический кроссинговер в специфических локусах (Y <sub>55</sub> Y <sub>11</sub> ). Мутации в специфическом локусе (Y <sub>11</sub> Y <sub>11</sub> ).
Ячмень ( <i>Hordeum vulgare</i> , 2n = 14)	Мутации во множественных локусах. Хлорофильные мутации. Хромосомные изменения в митозе и мейозе. Микроядра в тетрадах микроспор. Эмбриональные летали. Разрывы ДНК.
Кукуруза ( <i>Zea mays</i> , 2n = 20)	Анеуплоидия. Мутации во множественных локусах. Хлорофильные мутации. Мутации в специфических локусах ( <i>Adh</i> и <i>waxu</i> пыльца, <i>ug2</i> ) Хромосомные изменения в мейозе. Эмбриональные летали.
Арабидопсис ( <i>Arabidopsis thaliana</i> , 2n = 10)	Мутации во множественных локусах. Изменения хромосом в митозе и мейозе. Хлорофильные мутации. Мутации в специфических локусах. Эмбриональные летали.

Горох ( <i>Pesum sativum</i> , 2n = 14)	Мутации во множественных локусах. Хлорофильные мутации. Изменения хромосом в митозе.
Лук ( <i>Allium cepa</i> , 2n = 16)	Изменения в митотических хромосомах. Изменения морфологии корней.
Томат ( <i>Lycopersicum esculatum</i> , 2n = 16)	Мутации во множественных локусах. Хлорофильные мутации. Мутации в специфических локусах. Изменения хромосом в мейозе. Анеуплоидия.

Среди высших растений одним из наиболее перспективных объектов для изучения мутагенных факторов является ячмень (*Hordeum vulgare* L.). Ячмень – важная сельскохозяйственная культура, широко распространенная в разных странах мира. Его по праву можно назвать одним из наиболее генетически изученных растений, интенсивно используемых в самых различных исследованиях. Род *Hordeum* относится к семейству злаковых и отличается от остальных родов этого семейства строением колоса – его колоски одноцветковые. Основные виды ячменя являются диплоидными (2n = 14), некоторые виды тетраплоидные (2n = 28) или гексаплоидные (2n = 42). Культурный ячмень – диплоид с семью парами хромосом. Небольшое число хромосом и диплоидное строение облегчают генетические исследования, поэтому ячмень часто служит растением-моделью. На сегодняшний день у ячменя охарактеризовано несколько сотен генов с самыми разными свойствами и характеристиками.

В последнее время широкое распространение приобрел экспресс-метод оценки загрязнения фитоценоза, основанный на учете фертильности пыльцы растений-биоиндикаторов. Определение чувствительности мужского гаметофита к загрязнителям важно не только для характеристики реакции

растения на действие агентов среды. Чувствительность микрогаметофита к загрязнению представляет и самостоятельный интерес, т.к. позволяет оценить устойчивость репродуктивных процессов и структур к поллютантам. Сущность метода заключается в выявлении зависимости между степенью стерильности пыльцы у растений и наличием загрязнителя и/или загрязнителей в элементах ландшафта (почве, воде, атмосфере) свыше предельно допустимых концентраций. Для корректного учета аберрантной пыльцы важным этапом является выбор эталонов сравнения для системы соответствующих фитотестов. В качестве эталонов отбирают растения, произрастающие на незагрязненных территориях. Важным условием применения метода является умение отличить естественную стерильность от стерильности, индуцируемой различными генетически активными соединениями. Считается, что спонтанная стерильность растений на уровне 5–10 % не отражается на эффективности опыления. Основными критериями подбора видов для такого исследования являются: длительный период цветения, легкость сбора пыльцы и ее идентификации, низкий уровень спонтанного образования аберрантной пыльцы. Описываемый метод успешно применяется для декоративных и древесно-кустарниковых растений, а также для сельскохозяйственных культур. При использовании метода оценки аберрантной пыльцы следует учитывать ploидность культуры и особенности ее цветения.

При оценке качества окружающей среды с помощью традесканции чаще всего оценивают частоту соматических мутаций в волосках тычиночных нитей (Trad-SHM) либо частоту микроядер в активно делящихся тканях растения (Trad-MN). Trad-SHM тест основан на гетерозиготности по цвету тычиночных нитей традесканции. Поэтому мутации в клетках тычиночных нитей могут изменять пигментацию с голубого цвета (доминантный) на розовый (рецессивный). Частоту мутаций принято оценивать числом мутационных событий на 1000 просмотренных волосков. В этом тесте рост волоска рассматривается

как эквивалент формирования микроорганизмами колонии, а недоразвитые волоски как эквивалент не выжившей культуры клеток. Гигантские, двойные и тройные клетки, ветвление волоска и другие аномалии фиксируются вместе с потерей репродуктивной способности и являются индикаторами генотоксического действия. Хотя *Trad-SNM* достаточно чувствителен для обнаружения эффектов низких доз мутагенов, он уступает другим тестам удобством использования в полевых условиях, поскольку растения необходимо культивировать на экспериментальных участках не менее 14 дн.

Микроядерный тест (*Trad-MN*) приблизительно в 35 раз эффективнее по сравнению с *Trad-SHM*. Его экстраординарная чувствительность обусловлена гораздо меньшей специфичностью повреждений, индуцирующих микроядра, по сравнению с индукцией розовых мутаций. Действительно, огромное количество сайтов в любой из 12 хромосом *Tradescantia* могут служить мишенью воздействия, ведущего к формированию микроядер. В противоположность этому, только один локус в одной хромосоме несет мутацию, ведущую к розовой пигментации волосков тычиночных нитей. Три вида микроядерных тестов отработаны на *Tradescantia* для скрининга мутагенов в окружающей среде, а именно: частота микроядер в меристеме кончиков корня, в пыльцевых зернах и в материнских пыльцевых клетках. Все эти тесты технически просты, недороги и позволяют получить устойчивый результат за короткое время (36–72 ч). Тест на кончиках корня пригоден только для исследования жидких сред, в то время как пыльцевой тест пригоден для тестирования как жидкостей, так и газов.

Существуют определенные ограничения на использование микроядерного теста. Транслокации, инверсии и другие типы хромосомных и хроматидных нарушений не могут быть обнаружены микроядерным тестом. Высокая чувствительность тест-системы ведущая к ежедневной вариации спонтанного уровня микроядер, требует тщательного контроля экспери-



ментальных условий и одновременной фиксации контрольных и тестируемых образцов. В целом, оба теста подходят для мониторинга почвы, воды и воздуха *in situ*. Микроядерный тест в материнских пыльцевых клетках позволяет с высокой точностью обнаруживать мутации, а розовые мутации в тычиночных нитях являются чувствительным индикатором соматических мутаций.

## Выводы

1. Растения – необходимый и обязательный компонент любой экосистемы. Вследствие прикрепленного образа жизни растения постоянно подвергаются воздействию находящихся в окружающей среде поллютантов и характеризуют экологическую ситуацию в месте своего произрастания наилучшим образом.

2. Высшие растения могут быть эффективно использованы в полевых условиях для оценки качества воздуха, воды и почвы и для оценки эффектов хронического воздействия.

3. Методики работы с большинством растительных тест-систем детально отработаны, носят стандартизованный характер и не требуют высокой квалификации персонала. Использование большинства растительных тест-систем относительно недорого.

4. Существуют ограничения для использования растительных тест-систем в мониторинге. Жизненный цикл растений длиннее, чем у бактерий, дрожжей и дрозофилы. Существуют значительные фармакокинетические и биохимические различия между растениями и млекопитающими.

## Вопросы и задания для самоконтроля

1. Перечислите преимущества растений в качестве тест-систем.
2. Какие существуют ограничения при использовании растений в качестве тест-систем?
3. Приведите примеры растений, используемых в генетическом мониторинге в качестве тест-систем.
4. В сущность метода, основанного на фертильности пыльцы?
5. Какой используют метод с растениями традесканции. Опишите его сущность.
6. В чем заключается сущность микроядерного теста?
7. Какие существуют ограничения на использование микроядерного теста?

## 6 КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РИСКА

### Тематические вопросы:

1. Понятие опасности и риска в генетическом мониторинге.
2. Относительная генетическая эффективность.
3. Критерии нормирования в генетическом мониторинге.

Сначала дадим определения таким понятиям как опасность и риск. *Опасность* – причина или набор обстоятельств, которые потенциально могут причинить вред здоровью человека или нарушать гомеостаз отдельных представителей биоты или экосистемы в целом. *Риск* – вероятность того, что здоровью человека (или гомеостазу живых организмов или экосистем) будет причинен вред от определенной опасности.

Оценка генетического риска – это процесс описания и оценки вероятности возникновения неблагоприятных последствий для здоровья человека (состояния биологического объекта или экосистемы) от воздействия мутагенного или канцерогенного агента.

Основным критерием оценки мутагенности любого фактора является определение частоты мутации. Она выражается в количестве мутаций на единицу концентрации вещества или дозы. Например, в радиобиологии принято оценивать дозу, удваивающую уровень естественного мутагенеза. Критерий оценки риска (КОР) определяют в предположении линейной либо экспоненциальной зависимости частоты мутаций на единицу дозы облучения и рассчитывают частоту мутаций на одну клетку.

Для сопоставления генетической опасности разных факторов используют еще один количественный критерий – «относительную генетическую эффективность» (ОГЭ), рассчитанный при сравнении доз ионизирующего излучения и концентраций

химических мутагенов, вызывающих одинаковую частоту мутаций. Другой способ определения ОГЭ основан на использовании для сравнительной оценки опасности веществ одного и того же класса одинакового способа воздействия и показателя мутагенного эффекта, что позволяет рассчитать ОГЭ одного соединения по отношению к другому.

Один из подходов основан на определении оценки риска эмбриотропного или тератогенного эффектов (действия химических веществ, повреждающих зародыш подопытных животных), когда экспериментально устанавливают концентрации, при которых эти эффекты не выявляются. Безопасный уровень для растений, животных и человека определяется как концентрация, вызывающая тератогенный или эмбриотропный эффект не более чем у 1 % испытуемых особей.

Для анализа мутагенного эффекта лекарственных препаратов наиболее информативными являются биотесты на мышах и крысах (цитогенетические тесты и методы регистрации повреждений ДНК: метод специфических локусов, метод доминантных летальных мутаций и т. д.). Для сельскохозяйственных растений также существуют методы анализа мутагенного эффекта загрязнителей. Мутагенный фон может оцениваться значением интегрального показателя повреждаемости тест-объекта (ИПП<sub>биоинд.</sub>), который представляет собой среднее арифметическое из показателей генных (ИПП<sub>г</sub>), хромосомных (ИПП<sub>х</sub>) и функциональных (ИПП<sub>ф</sub>) нарушений:

$$\text{ИПП}_{\text{биоинд.}} = 1:3 (\text{ИПП}_{\text{г}} + \text{ИПП}_{\text{х}} + \text{ИПП}_{\text{ф}}).$$

Главным в предлагаемой методологии является унифицированный подход в определении критериев оценки мутационного фона и генетического риска. Для оценки состояния живых структур в экосистеме предлагается интегральный показатель генетического риска всех биоресурсов (человека, растений, животных и др.).

$$\text{ИПГР} = \text{ИПП}_{\text{биоинд.}} + 1:3 (\text{ИПП}_{\text{популяции человека}} + \text{ИПП}_{\text{популяции растений}} + \text{ИПП}_{\text{популяции животных}})$$

При фитотестировании степени загрязнения агроландшафта используется коэффициент относительного гаметоцидного эффекта поллютантов. Значение коэффициента относительного гаметоцидного эффекта загрязнителей (КОГЭЗ) предлагается определять как среднее, приравненное к эталону значение абортивных пыльцевых зерен видов-индикаторов с обследуемого участка.

В качестве критерия генетического риска пестицидов и удобрений в полевом мониторинге используют мейотический индекс – долю нормальных тетрад в расчете на колос. При индексе 90–100 % – растения генетически стабильны, ниже 90 % – нестабильны. Это затрудняет использование последних в селекционных программах.

В качестве примера можно рассмотреть технологию генетического контроля с выбором критериев генетического нормирования на примере возделывания озимой мягкой пшеницы (рисунок 1, 2, 3).

При отработке критериев нормирования по генетическим показателям приходится сталкиваться с тем фактом, что мутагенная активность соединений в отдельности или в сочетании друг с другом не является универсальным явлением, а может меняться при переходе от клеток одного вида к клеткам другого, а также зависит от сорта и вида. Следует учитывать, что мутационный процесс имеет видо- и ткане-специфичный характер.

Вопросы нормирования по генетическим показателям неразрывно связаны со стабильностью популяции, ее генетическим полиморфизмом. При интерпретации данных об адаптации популяции к меняющимся условиям окружающей среды следует иметь в виду, что изменения генетической структуры популяции происходят, главным образом, не за счет появления новых аллелей, большая часть которых элиминируется на

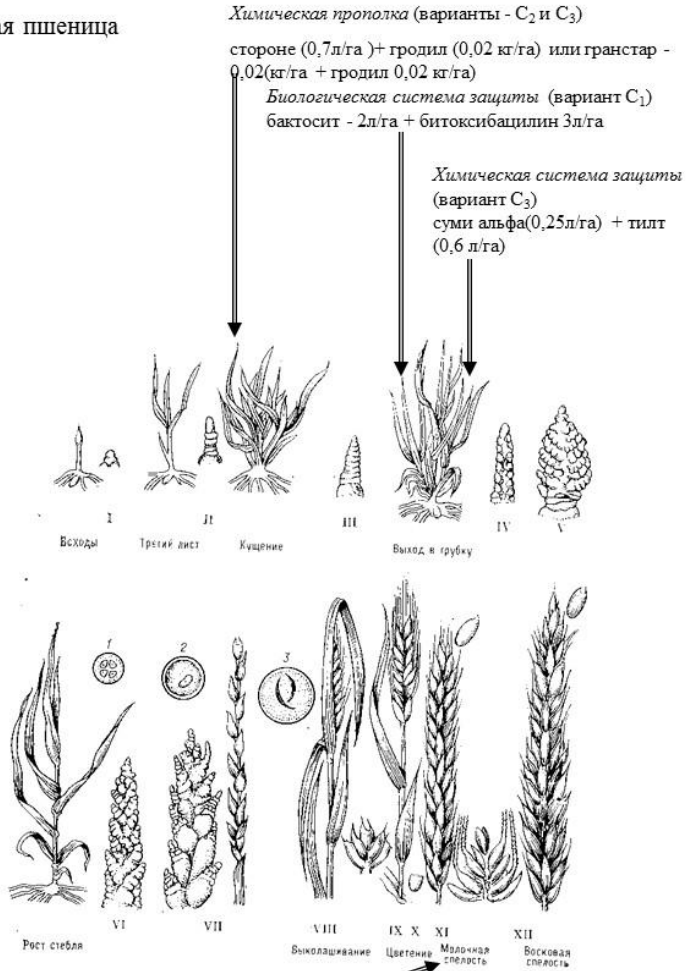
ранних стадиях онтогенеза, а за счет изменения жизнеспособности как нормальных, так и мутантных генотипов в условиях экстремальной среды. При биотестировании необходимо оценить характеристику процесса, который по своей природе является вероятностным независимо от того, идет ли речь о действии отдельных факторов либо о суммарном загрязнении среды. Единственным прямо измеряемым показателем в этом случае является частота мутаций в популяции независимо от того, учитывается ли она прямо либо косвенно, на феноменологическом или молекулярном уровнях.

При решении задачи по уменьшению содержания генотоксикантов в среде информация, полученная в результате генетического мониторинга популяции, позволяет обеспечить разноуровневую защиту биоценоза.



Рисунок 1 – Общая схема генетического мониторинга в агроценозе





## Озимая пшеница



Биологическая система защиты (вариант С<sub>1</sub>)  
 смесь алерина - 3( л/га)и энтомофторина 3л/га + битоксибацилин 3л/га  
 Химическая система защиты растений (вариант С<sub>3</sub>)  
 импакт (1л/га) + децис (0,25 л/га)

Рисунок 2 – Схема защиты посевов озимой пшеницы в многофакторном опыте (агроэкологический мониторинг)



Этап органогенеза	Тест-система	Уровень
	<p>I. - 1. Анализ посевных качеств семян (сила роста, энергия прорастания семян, жизнеспособность семян)</p> <p>I. - 2. Метафазно-анафазный тест в митотических клетках корешков (учет aberrantных метафаз и анафаз).</p>	Организменный
 <p data-bbox="235 606 291 622">Всходы</p>	<p>II. - 1. Хлорофилльные мутации (анализ мозаичности проростков).</p>	Организменный
 <p data-bbox="224 821 347 845">Выход в трубку</p>	<p>III. - 1. Анализ потенциальной продуктивности. (учет заложившихся колосков и цветков в колосе).</p>	Организменный
 <p data-bbox="235 1276 324 1294">Рост стебля</p>	<p>VI. - 1. Метафазно-анафазный тест (учет унивалентов, мультивалентов в MI, в AI и AII - учет мостов и отставших хромосом).</p> <p>VI. - 2. Тетрадный тест (учет микроядер, триад и полиад).</p>	Клеточный
		Клеточный

Этап органогенеза	Тест-система	Уровень
	<p>VIII - 1. Пыльцевой тест (учет дефективных и стерильных пылевых зерен)</p>	Клеточный
	<p>XII - 1. Анализ реальной продуктивности (подсчет числа нормально развитых колосков и цветков).</p>	Организменный
	<p>XII - 2. Анализ колосовых морфозов (учет стерильных, полустерильных и частично стерильных колосьев).</p>	Организменный
	<p>XII - 3. Анализ структуры урожая. - длина колоса - высота растения - количество колосков в колосе (развитых и неразвитых) - количество зерен в колосе.</p>	Популяционный
	<p>XII - 4. Анализ запасных белков.</p>	Популяционный

Рисунок 3 – Схема батареи тестов для оценки рисков агротехнологии при проведении генетического мониторинга (на примере зерновых колосовых)

## **Выводы**

1. Опасность и риск неотъемлемые показатели базовых характеристик генетического мониторинга.
2. Основным критерием оценки мутагенности любого фактора является определение частоты мутации. Она выражается в количестве мутаций на единицу концентрации вещества или дозы.
3. Оценка генетического риска – это процесс описания и оценки вероятности возникновения неблагоприятных последствий для здоровья человека (состояния биологического объекта или экосистемы) от воздействия мутагенного или канцерогенного агента.

## **Вопросы и задания для самоконтроля**

1. Дайте определение опасности и риску.
2. Какие критерии учитываются при оценке мутагенности любого фактора?
3. Что такое «относительная генетическая эффективность» (ОГЭ)?
4. Как рассчитывается интегральный показатель повреждаемости тест-объекта?
5. Что такое коэффициент относительного гаметоцидного эффекта загрязнителей (КОГЭЗ)?

## 7 ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ТРАНСГЕНОВ

### Тематические вопросы:

1. Состояние вопроса. Статус трансгенных культур в мире.
2. Риски, связанные с интродукцией трансгенных растений в окружающую среду.
3. Контроль внедрения генетически модифицированных организмов в агроэкосистемы.

*Состояние вопроса. Статус трансгенных культур в мире.* «Открытие способности клеток одного вида трансформировать ДНК совершенно других организмов, принадлежащих даже иному биологическому царству, и проявлять чужеродные гены следует назвать одним из главных чудес XX века. Ведь еще совсем недавно невозможно было себе представить, что можно передавать гены животных или дрожжей бактериям и наоборот, гены бактерий – животным или дрожжам, и они будут работать как у себя дома, заменяя или дополняя собственные гены реципиентных клеток», – писал Р. Б. Хесин-Лурье в книге «Непостоянство генома» (1984 г.).

Проблемы агробиологии и генетической инженерии растений заключаются в необходимости в ближайшие несколько десятилетий увеличить в 2–3 раза продукцию растениеводства, а также невозможности решения этой проблемы классическими селекционно-генетическими и агротехническими методами. Генетический потенциал растений исчерпан для классической селекции, при этом существует необходимость быстрого введения в практику новых сортов высокопродуктивных устойчивых растений. Генетическая инженерия растений решает эти задачи путем, принципиально сходным с классическим селекционно-генетическим процессом.

Использование для создания генетически модифицированных организмов (ГМО) природных генов, которые на протяжении всей эволюции участвовали и участвуют в рекомбино-

генезе, подвергаются отбору и элиминации, позволило выработать механизмы на всех уровнях организации биологических объектов, обеспечивающие устойчивый характер репарации нарушенных процессов биосинтеза белков. Разработка и постоянное применение эффективных методов мониторинга за качеством полученных трансгенных организмов и, прежде всего, за составом и свойствами белковых компонентов вновь созданных генотипов, позволяет заблаговременно, на этапе создания ГМО, выявлять опасные для человека и окружающей среды генотипы и не допускать их выпуска из лаборатории для использования в производстве и продовольственном обороте. Отбор известных, проверенных природных генов и их регуляторных генетических структур и создание на их основе векторов, обеспечивающих получение трансгенов с заданными свойствами, обеспечивает биобезопасность современных биотехнологий по созданию трансгенных организмов.

Эта глава посвящена вопросам оценки экологических рисков и контролю интродукции трансгенных растений в агроэcosystemы, описанию основных подходов генетического мониторинга трансгенов и законодательству в области ГМО. Однако вопрос о генетической безопасности внедрения ГМО в окружающую среду остается открытым.

На сегодняшний день существует ряд международных соглашений, регламентирующих сохранение, а также обеспечивающих надлежащий уровень защиты в области безопасной передачи, обработки и использования трансгенных сортов растений. Согласно Конвенции по биоразнообразию (КБР, 1993), каждая страна-участница должна разработать стратегию и программу по сохранению и использованию своих биоресурсов, принимая во внимание их гарантированное и безопасное воспроизводство. Важным моментом в этом документе является установление и утверждение способов и методов регулирования, управления и контроля над рисками, связанными с созданием, использованием и распространением ГМ-сортов, а также разработка соответствующих процедур оцен-

ки возможного неблагоприятного воздействия генетически модифицированных организмов (ГМО) на сохранение биоразнообразия.

Принципы охраны окружающей среды при выпуске ГМО в природу, сформулированные еще в 1998 г. требуют:

во-первых, оценить, когда появятся вредные последствия выпуска ГМО на здоровье человека и природные системы;

во-вторых, выявить, когда ГМО или их продукты окажутся вредными при попадании в продукты потребления;

в-третьих, определить, действительно ли ГМО дают тот положительный эффект, ради которого они и были созданы, и, наконец, гарантировать, что исключен какой-либо ущерб человеку или природе, когда ГМО появятся в различных регионах мира и различных экосистемах.

В 2015 г. ГМ-культуры выращивали 20 млн фермеров в 40 странах мира. В 2010 г. три страны – Пакистан, Мьянма и Швеция – впервые начали выращивать ГМ-растения, в Германия возобновила их разведение. В 2010 г. более половины всех пахотных земель приходилось на 29 стран (19 развивающихся и 10 индустриальных, производивших ГМ-культуры).

Общая рыночная стоимость ГМ-семян составила 11,2 млрд US\$. Перечислим наиболее распространенные трансгенные культуры в мире ( по данным на 2015 г.):

Соя – 55 % от всех генетически-модифицированных культур (ГМК), кукуруза – 30 %; хлопчатник – 14 %; рапс – 5 %.

Основные ГМ-признаки:

гербицидоустойчивость – 61 % от всех ГМК,

два и более признаков – устойчивость к насекомым – 17 %.

С 2010 г. возрос интерес к стекерным культурам, т. е. культуры с двумя и более трансгенными признаками. Их выращивали в 11 странах мира, в том числе в 8 – развивающихся. По данным International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA) с 2011 г. страны Евросоюза начали производство картофеля сорта Amflora, устойчивого к фитофторозу; с 2011 г. в Индии выращивают Vt-баклажаны,

предназначенные для коммерческой реализации населению; с 2013 г. на Филиппинах появился золотой рис, а затем и в Бангладеш, Индии, Индонезии и Вьетнаме, с 2014 г. в Китае начато производство ГМ-риса, обогащенного фитазой.

С 2012 г. в США возделывают кукурузу, устойчивую к засухе, а также с 2015 г. начато выращивание ГМ-культур с усиленным поглощением азота.

На сегодняшний день более 75 % населения Земли живет в странах, в которых ГМО разрешены либо для выращивания, либо для применения, для ввоза.

Россия является одной из стран, в которых запрещено выращивание коммерческих ГМ-культур. На сегодняшний день по данным Роспотребнадзора в РФ прошли полный цикл всех необходимых исследований и разрешены для использования в питании 15 линий ГМО растительного происхождения, полученных с применением генно-инженерных технологий: 8 линий кукурузы, 3 линии сои, 2 сорта картофеля, 1 линия сахарной свеклы, 1 линия риса.

### *Риски, связанные с интродукцией трансгенных растений в окружающую среду*

Среди потенциальных рисков внедрения трансгенных растений в окружающую среду, основными являются следующие:

- Станут ли трансгенные растения сорняком?
- Будут ли гены от трансгенных растений переноситься к природным близким видам и приобретут ли их гибридные потомки свойства сорняков?
- Причинят ли трансгенные растения вред культурным растениям?
- Будут ли отрицательно влиять на состояние природных популяции (включая человека) трансгенные растения или его производные?

– Будут ли трансгенные растения отрицательно влиять на биоразнообразии экосистем?

В биоинженерии генетически модифицированных организмов (ГМО) существует определенный генетический риск, который ученые связывают с трудностью точной адресной вставки чужеродного гена или группы генов в ДНК реципиентной клетки, нормальным функционированием таких генов, т. е. их экспрессией, генетическим риском получения мутантов с токсичными или аллергенными для человека белками или другими соединениями, что может быть обусловлено плейотропным эффектом или в силу индуцирования эндогенных систем рекомбинации и активации «молчащих генов».

Риск получения таких мутантов значительно возрастает при использовании искусственных синтетических генов.

Для того чтобы максимально исключить генетический риск, прежде всего необходимо выяснить степень сходства трансгенного растения с аналогичным нетрансгенным (изогенным) растением, относительно которого существует уверенность в том, что оно безопасно. Также необходимо установить степень его эквивалентности исходной и безопасной нетрансгенной форме растения. Для этого оценивают:

– генетическую стабильность трансгенного растения.

Трансгенные растения должны стабильно продуцировать белки, кодируемые трансгенами, в течение ряда поколений.

– риск превращения трансгенного растения в сорняк.

Различные факторы устойчивости, обуславливаемые трансгенами, (например, устойчивость к вредным насекомым, гербицидам, другим биотическим или абиотическим стрессорам) могут повышать риск того, что соответствующее трансгенное растение может стать сорняком. Первое, что должно быть установлено – не повысился ли репродуктивный потенциал трансгенного растения в результате генетической модификации.

– риск переноса трансгенов в родственные растения.



Интрогрессия трансгенов из трансгенных растений представляет реальную опасность только в том случае, если донорное и акцепторное растения способны к перекрестному опылению, а образовавшиеся вследствие этого гибриды жизнеспособны.

Особую озабоченность могут вызывать ситуации, когда в результате интрогрессии нетрансгенное растение сможет приобрести новые экологические преимущества (устойчивость к гербициду, энтомоцидность, повышенную жизнеспособность).

*Риск переноса трансгенов от трансгенных растений к бактериям.*

Перенос генов от бактерий к растениям хорошо известен, детально изучен и применяется для получения трансгенных растений путем их трансформации T<sub>1</sub>-плазмидами *Agrobacterium tumefaciens*. Перенос генов от растений к бактериям, происходящий, очевидно, в природных условиях, воспроизвести пока не удалось. Предполагается, что если перенос генов от растений к бактериям в природе и происходит, то с крайне малой вероятностью, достоверно оценивать которую современный уровень знаний пока не позволяет. Также необходимо подчеркнуть, что для создания ГМ-культур используются природные гены, которые на протяжении эволюции участвовали и участвуют в рекомбиногенезе, подвергаются отбору и элиминации, вследствие чего на всех уровнях организации биологических объектов выработались механизмы, обеспечивающие устойчивый характер репарации нарушенных процессов биосинтеза белков.

В целом все потенциальные нежелательные явления и события, происходящие при выращивании ГМО, можно объединить в три группы потенциальных рисков:

- 1) пищевые;
- 2) экологические;
- 3) агротехнические.

*Пищевые риски* связаны с экспрессионной активностью трансгенов, а именно:

- непосредственным действием токсичных и аллергенных трансгенных белков ГМО;
- рисками, опосредованными плейотропным действием трансгенных белков на метобилзм растений;
- рисками, опосредованным накоплением гербицидов и их метаболитов в устойчивых сортах и видах сельскохозяйственных растений;
- рисками горизонтального переноса трансгенных конструкций.

Экологические риски, по мнению Ю. В. Чеснокова (2011) обуславливают те ограничения и опасности, которые вытекают из законов генетической и экологической изменчивости живых организмов. В этой связи, оценивая роль генетической инженерии в селекции растений, особенно в плане преодоления барьеров несовместимости любого уровня, во внимание стоит принимать и ограничения, обусловленные следующими причинами:

- непредсказуемость глобального нарушения экологического равновесия естественных и антропогенных систем;
- опасность сокращения биологического и генетического разнообразия биологического и генетического разнообразия экосистем;
- эффект «пестицидного бумеранга»;
- монополизация биотехнологического бизнеса;
- опасность терминаторных и двойных технологий;
- экологическая опасность Вt-защищенных и других трансгенных растений.

На данный момент пока полностью не ясны и потенциальные агротехнические риски распространения ГМО для живой природы и человека. Можно выделить главные:

Во-первых, угроза естественному (агро)биоразнообразию. Распространение ГМО потенциально может привести к сокращению видового разнообразия живых организмов, обитающих на полях, где они выращиваются, а также территории

вокруг них. Быстрорастущие ГМ-организмы могут вытеснять обычные виды из естественных экосистем.

Во-вторых, угроза разнообразию аборигенных пород и сортов. Распространение ГМО ведет к снижению разнообразия других сортов и пород. Это разнообразие – основа устойчивости сельского хозяйства.

В-третьих, засорение традиционных сортов трансгенными формами. В результате неконтролируемого опыления нетрансгенных сортов могут происходить ухудшение свойств и потеря генетической чистоты традиционных сортов.

В-четвертых, истощение и нарушение естественного плодородия почв. ГМ-растения с генами, ускоряющими рост и развитие, в значительно большей степени, чем обычные, могут истощать почву и нарушать ее структуру; в результате подавления токсидами ГМ-растений жизнедеятельности почвенной микробиоты может происходить нарушение естественного плодородия.

Разработка и постоянное применение эффективных методов мониторинга за качеством полученных трансгенных организмов и, прежде всего, за составом и свойствами белковых компонентов вновь созданных генотипов позволяет заблаговременно, на этапе создания ГМО, выявлять опасные для человека и окружающей среды генотипы и не допускает их выпуска из лаборатории для использования в производстве и продовольственном обороте. Ученые проводят отбор известных, проверенных природных генов и их регуляторных генетических структур и создание на их основе векторов, обеспечивающих получение трансгенов с заданными свойствами. Все это должно обеспечить биобезопасность в биоинженерии.

Разработаны критерии, показатели и методы оценки биобезопасности ГМО, включающие в себя оценку – химического состава исходных и трансгенных растений, биологической ценности и усвояемости приготовленных из ГМО продуктов,

- выявления токсичных, канцерогенных, мутагенных и аллергенных веществ в продуктах, полученных на основе использования ГМО,
- влияния ГМО на репродуктивные функции животных и человека,
- проверку генов, интегрированных в геном растений, на способность наследования в потомстве и их переноса в другие организмы,
- влияния новых генов на устойчивость растений к болезням и вредителям,
- выявление и анализ характера изменчивости почвенной микрофлоры и других составляющих биоценозов под влиянием трансгенных растений,
- медико-биологическая оценка пищевой продукции, полученной из ГМО.

*Контроль внедрения генетически модифицированных организмов в агроэкосистемы*

Целью мониторинга в биотехнологических процессах по созданию и внедрению ГМО является, в первую очередь, учет отдаленных последствий для состояния природных популяций и здоровья человека. В учебном пособии особое внимание отведено мониторингу внедрения ГМО в аграрный сектор. Ниже приведена последовательность действий при расчетах рисков внедрения ГМО на сельскохозяйственные поля (таблица 2).

Таблица 2 – Этапы работ, при проведении генетического мониторинга ГМО на сельскохозяйственном поле

I этап	Исследования в лаборатории и теплице, идентификация рисков
II этап	Полевые исследования. Изучение рисков и их оценка
III этап	Оценка специфических рисков
IV этап	Общая оценка

Выполняя первый этап работы, важно учитывать особенности природных популяций и их реакций на вмешательство извне. Известно, что ответная реакция на внешнее воздействие может варьировать у разных видов в зависимости от их жизненного цикла и структуры популяции. Модель ответной реакции и частота ее проявления связаны с масштабом и интенсивностью изменений среды. Все это может осложнить истинную оценку рисков в условиях теплицы или лаборатории. Чтобы устранить эти недостатки на втором этапе проводят анализ полевых опытов с большим количеством выборок анализируемых организмов, а также с большим количеством факторов. Третий этап заключается в наблюдении неожиданных и непредсказуемых эффектов. Этот вид мониторинга должен проводиться с учетом особенностей условий среды. На четвертом этапе объединяют и анализируют результаты и делают прогноз рисков интродукции чужеродной ДНК в природные популяции или популяции культурных растений.

Оценку риска необходимо проводить с привлечением генетического мониторинга, элементы которого для аграрного сектора. На этапе выбора стратегии мониторинга (А) проводят оценку прямых, косвенных, немедленных и отдаленных эффектов внедрения ГМО в массовую культуру. Этап (А<sub>1</sub>) оценки риска включает в себя процедуру разработки гипотезы по-

следствий внедрения. Этап (А<sub>2</sub>) включает в себя сбор информации по способам обработки поля, фазам роста растений, системе защиты и т.п. На этапе А<sub>3</sub> выбирают наиболее приемлемые методы генетического контроля трансгенов. На этапе А<sub>4</sub> анализируют взаимосвязи биологических систем, вовлеченных в процесс внедрения ГМО в массовую культуру.

Выбор методов оценки (В<sub>1</sub>) должен быть основан на наиболее важных параметрах, характеризующих природные экосистемы. Например, проводят оценку их биоразнообразия. На этапе В<sub>2</sub> необходимо проводить идентификационный контроль как ГМО, так и природных видов. Методы анализа должны соответствовать современному уровню знаний в данной области, т.к. при анализе результатов (С) выбранные методы должны быть обоснованы.

При проведении мониторинга агросистем важно учитывать следующие параметры: климат (осадки, температуру); размер и расположение полей; число растений на единицу площади; имеющиеся болезни бактериального, грибного и вирусного происхождения; время и виды обработки полей (когда и какие удобрения и подкормки вносились); уровень плодородия почв и севооборот.

Обнаружение трансгенов в популяциях культурных растений является главной задачей мониторинга агросистем. Для обнаружения случайным (неконтролируемым) способом перенесенных генов могут быть использованы методы: *in vivo* markers, применяемый для анализа обмена генов, и полиморфная цепная реакция (ПЦР), использование которой в генетическом мониторинге трансгенов.

При оценке эколого-генетических последствий применения ГМО в сельскохозяйственном производстве необходимо учитывать «терминаторность» и возможность горизонтального переноса незаявленных генов. Классический перенос генов происходит от родителей к потомству, т. е. по вертикали. Горизонтальный перенос предусматривает перенос генов от одних видов к другим, даже принадлежащих к разным биологи-

ческим царствам. Известно, например, о встраивании плазмидного гена агробактерии в геном культурных видов растений. Возможно, этот процесс может проходить не только в лабораторных, но и в естественных условиях, чаще непреднамеренно.

Например, японские ученые обнаружили, что ГМ–расп был непреднамеренно выпущен в окружающую среду и свободно произрастает в портах Японии.

В 2003 г. были проведены специальные анализы, в результате которых установлено, что от 30 до 50 % обследованных семян и собранных листьев папайи на Гавайях были генетически загрязнены ГМО. Другим примером распространения ГМО может служить выращивание трансгенной сливы в Румынии. Весной 1996 г. на помологической экспериментальной станции вблизи города Быстрица, было высажено 100 трансгенных растений сливы. Спустя 10 лет трансгенные растения оказались окруженными производственными посадками сельскохозяйственных производственными посадками сельхозугодий.

Таким образом, генетическое загрязнение образцов генетических ресурсов растений, сохраняемых в генных банках различных стран, может быть обусловлено рядом широко распространенных случаев:

- перекрестным опылением растений на соседних полях;
- присутствие ГМ–особей среди обычных растений;
- выращивание на поле, где ранее выращивали ГМ–растения;
- опылением «одичавшими» ГМ–растениями, произрастающими на окраинах полей и являющимися результатом небрежной транспортировки и/или сбора ГМ–растений, а также ГМ–примесным загрязнением через семенные лотки при обработке семян до посева или после сбора урожая.

Обобщая изложенный материал можно сделать следующее заключение: в интересах экологической и агротехнической безопасности необходима скорейшая разработка и принятие мер по снижению риска от неконтролируемого загрязнения

образцов генных банков, прежде всего, на основе изучения и устойчивого использования агробiorазнообразия, сохраняемого в генных банках. В этой связи актуальным становится проведение мониторинга и контроля образцов мировой генетической коллекции с целью предотвращения их генетического загрязнения ГМ–культурами и трансгенами.

## **Выводы**

1. Разработка и постоянное применение эффективных методов мониторинга за качеством полученных трансгенных организмов позволяет заблаговременно, на этапе создания ГМО, выявлять опасные для человека и окружающей среды генотипы и не допускать их выпуска из лаборатории для использования в производстве и продовольственном обороте.

2. Для того чтобы максимально исключить генетический риск, прежде всего необходимо выяснить степень сходства трансгенного растения с аналогичным нетрансгенным (изогенным) растением, относительно которого существует уверенность в том, что оно безопасно. Также необходимо установить степень его эквивалентности исходной и безопасной нетрансгенной форме растения.

3. Все потенциальные нежелательные явления и события, происходящие при выращивании ГМО, можно объединить в три группы потенциальных рисков: пищевые; экологические; агротехнические.

4. При проведении мониторинга агроэкосистем важно учитывать следующие параметры: климат (осадки, температуру); размер и расположение полей; число растений на единицу площади; имеющиеся болезни бактериального, грибного и вирусного происхождений; время и виды обработки полей (когда и какие удобрения и подкормки вносились); уровень плодородия почв и севооборот.



5. В интересах экологической и агротехнической безопасности необходима скорейшая разработка и принятие мер по снижению риска от неконтролируемого загрязнения образцов генных банков, прежде всего, на основе изучения и устойчивого использования агробиоразнообразия, сохраняемого в генных банках.

### **Вопросы и задания для самоконтроля**

1. Дайте характеристику статуса трансгенных растений в мире.
2. Перечислите риски, связанные с интродукцией трансгенных растений в окружающую среду.
3. Какие существуют риски переноса трансгенов от трансгенных растений к бактериям.
4. Какие существуют три группы потенциальных рисков при внедрении ГМО?
5. Как осуществляется контроль внедрения генетически модифицированных организмов в агроэкосистемы?
6. Укажите как может происходить генетическое загрязнение образцов генетических ресурсов растений?
7. Составьте обзор научных статей за последние 5 лет, посвященных оценке риска трансгенных растений.

## **8 ГЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ. ДНК-ТЕХНОЛОГИИ, ТРАНСГЕНЕЗ, МОЛЕКУЛЯРНОЕ МАРКИРОВАНИЕ**

### **Тематические вопросы:**

1. Принципы основ генных технологий. История вопроса.
2. Геном человека, его роль в развитии генных технологий.
3. Этические проблемы и проблемы биобезопасности.
4. Направления развития генных технологий.
5. Потенциальный риск генных технологий.

#### *Принципы основ генных технологий. История вопроса.*

Генные технологии основываются на методах молекулярной биологии и генетики, и связаны с целенаправленным конструированием новых, не существующих в природе сочетаний генов. Генные технологии, часто называемые генной инженерией, родились в начале 70-х гг. XX в. под названием технологии рекомбинантных ДНК. (Рекомбинация – от *re* и лат. *combinatio* – соединение).

Основная операция генной технологии заключается в извлечении из клеток организма гена (кодирующего нужный продукт) или группы генов и соединении их с молекулами ДНК, способными проникать в клетки другого организма и размножаться в них. На начальной стадии развития генных технологий получен ряд биологически активных соединений – инсулин, интерферон и др.

*Современные генные технологии* объединяют химию нуклеиновых кислот и белков, микробиологию, генетику, биохимию и открывают новые пути решения многих проблем биотехнологии, медицины и сельского хозяйства. *Ос-*

*новная цель генных технологий* – видоизменить ДНК, закодирав ее для производства белка с заданными свойствами. Современные экспериментальные методы позволяют анализировать и идентифицировать фрагменты ДНК и генетически видоизмененной клетки, в которую введена нужная ДНК. С их помощью целенаправленно осуществляются химические операции над биологическими объектами, что и составляет основу генных технологий. Генные технологии привели к разработке мощных методов анализа генов геномов, а они, в свою очередь, к синтезу, т. е. к конструированию новых, генетически модифицированных микроорганизмов.

Многие вакцины, защищающие от вирусных инфекций, часто выделяют из природных источников. Действие вакцин сводится к стимулированию выработки организмом антител в качестве ответной реакции на вирусы, что повышает сопротивляемость организма данной вирусной инфекции. Введение при вакцинации активного вируса, вызывающего заболевание, сопряжено с определенным риском. Более безопасные вакцины можно создать с применением генной инженерии, позволяющей получить ДНК, кодирующий белок поверхностного слоя вируса. В таком случае иммунитет достигается введением белковой оболочки вируса, что исключает случайное заражение организма.

Химически приготовленные последовательности ДНК можно использовать для выявления *генетических дефектов*, свидетельствующих о предрасположенности организма к тому или иному заболеванию. Можно надеяться, что генетические болезни будут излечиваться путем замещения дефектных генов или введения генов, полученных методами

генной инженерии. Следует ожидать, что технология рекомбинантных ДНК поможет выяснить природу регуляции генов в клетке.

Природные молекулы обладают биологической активностью и, следовательно, представляют интерес для медицины. Однако из-за сравнительно высокой стоимости или нежелательных побочных действий их не всегда можно применять для приготовления фармацевтических препаратов. Поэтому часто используют химически сходные молекулы или фрагменты природного вещества. Генная инженерия может помочь производить лекарственные препараты модифицированной формы для повышения их биологической активности. Например, модифицированный инсулиновый белок, производимый бактериями *E. coli*, позволил получить новый биологически активный гормон.

На базе современной биотехнологии синтезируются фармацевтические препараты, блокирующие биологическую активность той или иной природной биомолекулы. К настоящему времени разработаны биотехнологические приемы приготовления биомолекул для тестирования химически синтезированных соединений с целью разработки новых эффективных фармацевтических препаратов.

В современной медицине большое внимание уделяется разработке безопасных и эффективных методов введения лекарственных препаратов, а также созданию специальных устройств для замены оказавшихся неработоспособными органов. Проведение таких работ требует объединения усилий специалистов разной профессиональной ориентации: врачей, инженеров, биохимиков, физиков и др. Уже производятся и успешно внедряются электрокардиостиму-

ляторы, клапаны сердца, искусственные сухожилия, сердечно-легочные и почечные диализаторы, искусственное сердце и др.

Технология пересадки здоровых генов пациенту, нуждающемуся в исправлении генных дефектов, разработана и применяется на практике. Она реализуется с помощью безвредных вирусов. Однако есть вероятность, что вирусы могут вызвать нежелательные реакции иммунной системы или разрушить гены, предохраняющие организм от раковых заболеваний. Проведенные несколько лет назад эксперименты показали, что клетка может принять искусственную хромосому. Полученный результат эксперимента поможет понять механизм работы хромосомы и разработать безопасные способы пересадки нормальных молекул ДНК пациентам с генетическими дефектами. Такая пересадка поможет лечить наследственные заболевания без побочных эффектов.

*Геном человека, его роль в развитии генных технологий.*

*Этические проблемы и проблемы биобезопасности*

*Геном человека.* В современном естествознании третьего тысячелетия нет, наверное, проблемы более захватывающей, трудоемкой и значительной, чем познание генома человека – всей совокупности его генов. Многие десятилетия молекула ДНК была предметом изучения химиков и биохимиков, которых интересовал ее химический состав и строение, и физиков, изучавших ее форму и трехмерную структуру. Никто не пытался расшифровать последовательность в ДНК четырех ее «кирпичиков» – нуклеотидов, т. е. понять самое главное в ее структуре.

С рождением в 70-е гг. нашего столетия генной инженерии появилась интересная мысль: а нельзя ли с помощью новых методов решить задачу, которая ранее казалась совершенно фантастической, расшифровать строение всего генома человека, т. е. получить в доступной форме информацию о всей совокупности генов человека, число которых, по разным оценкам, составляет от 50 до 100 тыс., а кроме генов существуют и межгенные участки. Весь геном человека – это более трех миллиардов нуклеотидных пар, что, конечно, очень-очень много, но ведь и прогресс в данной области стремителен. Еще 15 лет назад расшифровка тысячи пар нуклеотидов считалась большим достижением, и такие результаты печатали самые престижные биологические журналы. Сейчас скорость расшифровки достигла многих миллионов нуклеотидных пар в месяц. Темпы расшифровки структуры генома оказались выше скорости осмысления накопленной информации.

Расшифровка генома человека – титаническая по объему и сложности задача – должна была стать международной. И вот в 1988 гг. по инициативе одного из первооткрывателей двойной спирали ДНК Дж. Уотсона создана международная организация «Геном человека», объединяющая специалистов многих ведущих стран: США, России, Франции, Японии и др.

Познание генома – вовсе не прихоть ученых, которым захотелось прочитать книгу жизни, расшифровать все, что записано в молекуле ДНК, этой своеобразной запоминающей ленте, скрученной в одной клетке и хранящей гигантское количество информации, записанной на молекулярном языке. Ныне медицина без знания генома часто оказывается

беспомощной. Осознание этого и привело к возникновению в последние годы совершенно новой интересной области на границе между изучением генома человека и медициной. Эту область называют генотерапией. Уже из самого названия ясно, что речь идет о лечении генами. Подобно тому, как ангину можно лечить антибиотиками или сульфаниламидами, точно так же наследственные болезни станут возможно лечить с помощью генов.

Молекулярное «протезирование» приведет к восстановлению деятельности клетки. Значит, первая задача – узнать, какой ген заболел (для многих болезней уже решена), вторая задача – получить нормальный ген (тоже решена), и третья (самая сложная) – сделать так, чтобы вводимый ген оказался во всех больных клетках и смог там работать.

*Генотерапия* уже вышла из лабораторий в клиники.

К середине 1997 г., согласно официальным данным, около 2000 чел. излечено с помощью генотерапии: половина из них – в США, половина – в странах Европы. Отдаленных последствий генотерапии пока не знает никто, поскольку самые первые пациенты, которые прошли генотерапию, появились всего несколько лет назад и неизвестно, что будет по прошествии 10–15 лет. Хотя мы не знаем всех возможных последствий, пока обреченных на смерть людей удалось спасти, и это, конечно, грандиозный успех.

С развитием генной инженерии появились не только ее активные сторонники, но и противники, действия которых направлены на возбуждение общественного мнения против внедрения генных технологий. В этой связи в 1996 г. Федерация европейских микробиологических обществ (ФЕМО) опубликовала меморандум, цель которого – проинформиро-

вать общественность о пользе и потенциальной опасности широкомасштабного применения генной инженерии в микробиологии.

Для реализации замысла молекулярной биологии – проекта «Геном человека» – сегодня используют, к примеру, искусственные хромосомы пекарских дрожжей, способные нести присоединенные к ним фрагменты ДНК длиной в несколько миллионов пар нуклеотидов. Коллекция дрожжевых клонов (каждый из которых несет какой-то фрагмент генома человека) – это именно то, что позволяет определять нуклеотидные последовательности данных фрагментов, располагать их в том порядке, в каком они идут друг за другом внутри хромосом человека, а затем состыковывать их в непрерывный генетический текст. Прочтение и анализ такого текста приведет к пониманию механизмов различных болезней и того, как эти болезни лучше лечить. Патогенные микробы способны к эволюции и адаптации. Они могут выживать и вредить, несмотря на новые методы борьбы с ними, например, стать устойчивыми к вакцинам и антибиотикам. В конце XX в. мы наблюдаем приводящий экспертов в замешательство рост числа микробов, устойчивых к антибиотикам, а кроме того – возникновение новых возбудителей инфекций. Однако, несомненно, что именно генные технологии ускорят расшифровку молекулярных механизмов на уровне «микроб-хозяин», а это позволит разрабатывать все новые и новые вакцины.



## *Направления развития генных технологий*

Генные технологии развиваются в двух основных направлениях.

*Первое направление* – улучшение уже существующих вакцин. Вакцины должны стать более эффективными, работать в меньших дозах и не давать побочных эффектов.

*Второе направление* – генные технологии получения вакцин против болезней, при которых сам метод вакцинации еще не использовался (СПИД, малярия, язвенная болезнь желудка и др.).

Цель соматической генной терапии в следующем: дефектный ген заменяют на нормальный, донорский ген. Вектором, т. е. переносчиком, донорского гена служит генетически модифицированный микроорганизм или вирус. Он сконструирован так, что экспрессирует донорский ген в клетках пациента, но сам размножаться не способен, поэтому не может инфицировать других.

Работа, особенно на Западе, по генетическому улучшению свойств микробов, традиционно используемых в производстве хлеба, сыроварении, молочной промышленности, пивоварении и виноделии, идет весьма напряженная. Цели ее – увеличение устойчивости производственных штаммов, повышение их конкурентоспособности по отношению к вредным бактериям и улучшение качества продукта (аромата, питательной ценности, крепости и т. д.). Три новых трансгенных штамма уже получили «добро» на промышленное применение. Это пекарские дрожжи, эффективно ферментирующие мальтозу, два штамма пивных дрожжей,

позволяющие получать пиво с низким содержанием углеводов и без декстринов.

Генетически модифицированные микробы могут принести большую пользу при взаимодействии с сельскохозяйственными растениями и животными, с их патогенными вирусами и микробами, с вредными насекомыми и почвой. Вот примеры. Можно модифицировать те или иные растения, сделать их более устойчивыми к инфекционным болезням, внося в них гены, блокирующие развитие вирусных или грибковых заболеваний. Так, в Китае устойчивые к вирусам табак, томаты и сладкий перец выращивают уже на больших площадях. Известны трансгенные томаты, устойчивые к бактериальной инфекции, картофель и кукуруза, устойчивые к грибкам.

Томаты, подвергнутые генетическим операциям, дали две разновидности. У одного вида из молекулы наследственности был удален ген, определяющий способность плода к быстрому загниванию. Новый помидор, уже хорошо созревший, можно хранить без холодильника до двадцати дней. Другая разновидность томатов содержит вдвое меньше воды. Это выгодно при транспортировке и переработке. С помощью генной инженерии получены не боящиеся заболеваний растения какао, стойкая к заморозкам клубника, кофейные зерна без кофеина. Пятьдесят сельскохозяйственных культур уже улучшены благодаря вмешательству человека в их наследственность. Достигнуты первые успехи и в животноводстве. Корректировка наследственности у свиньи позволила вывести новую породу животных, лишенных такого недостатка, как излишняя жирность (свинина становится диетическим мясом). Другое новшество: корова дает

молоко, не скисающее в тот же или на следующий день, как обычно, потому что это молоко уже включает в себя консервирующие вещества, вырабатываемые самим организмом животного.

### *Потенциальный риск генных технологий*

Потенциальный риск. Одно из самых тревожных опасений – не приведет ли широкое внедрение в практику генных технологий к появлению покуда не известных эпидемиологам заболеваний? Эксперты ФЕМО констатируют, что широкомасштабная генная инженерия микроорганизмов, продолжающаяся вот уже более 20 лет, до сих пор не дала ни одного примера таких последствий. Более того, оказалось, что все рекомбинантные микроорганизмы, как правило, менее болезнетворны, чем их исходные формы.

Все известные на сегодняшний день инфекционные микроорганизмы представляют собой результат их длительной совместной со своими хозяевами эволюции. Микробы либо поражают хозяина, либо, мирно сожительствовав с ним, приносят ему (а тем самым и себе) определенную пользу. Хозяин в свою очередь приобретает более эффективную способность бороться с микробами либо на них просто не реагировать.

Важный вывод, который делают эксперты ФЕМО, звучит так: «В целом не похоже, чтобы перенесение нескольких генов из одного микроба в другой, имеющий иную эволюционную историю, привело к повышению патогенности – способности микроорганизмов вызывать инфекционное заболевание».

*Биологические феномены* таковы, что о них никогда нельзя с уверенностью сказать: этого никогда не случится. Надо говорить так: вероятность того, что это случится, очень мала. И тут, как безусловно положительное, важно отметить следующее: все виды работ с патогенами строго регламентированы, и цель такой регламентации – уменьшить вероятность распространения инфекционных агентов.

Чтобы прогнозировать распространение трансгенных микробов в среде, надо знать, как и за счет чего существуют их немодифицированные предки. Но, в отличие от патогенных штаммов, экология почвенных микроорганизмов изучена не так хорошо. Действительно, о том, как почвенные микробы размножаются, распространяются и сохраняются в своих экологических нишах, известно мало. И узнать об этом трудно: почвенные штаммы не содержат генетических маркеров, т. е. легко распознаваемых признаков, удобных для отслеживания их судьбы. Кроме того, большинство природных штаммов в лабораторных условиях не размножаются.

За 20 лет широкого применения генных технологий еще не зарегистрировано ни одного случая, чтобы в окружающей среде произошло вредное или опасное распространение рекомбинантных организмов. Действительно, в природе все время идут процессы так называемого горизонтального генетического переноса. И если рекомбинантные штаммы попадут в почву или воду, их чужеродные гены смогут быть вовлечены в эти генетические потоки. Начнется процесс распространения чужеродных генов в мире микробов. Проконтролировать этот процесс практически невозможно. Поэтому эксперты ФЕМО рекомендуют: «Трансгенные штам-

мы не должны содержать генов, которые после их переноса в другие бактерии смогут дать опасный эффект».

*Уменьшение риска, связанного с генными технологиями.* Совершенно ясно, что главное при разработке правил и законов, регулирующих применение генных технологий – это создать рациональные концепции оценки риска. *Первый шаг* в этом направлении – установить, какие именно опасности могут возникнуть и как их избежать. *Следующий шаг* – оценить степень риска. Уменьшить риск можно, если определить категории опасности патогенов и использовать для работы с ними соответствующее защитное оборудование. По мере накопления конкретных знаний о конкретных опасностях оценки следует уточнять.

Есть *документы, регламентирующие применение генных технологий*. Это директивы, касающиеся правил безопасной работы в лабораториях и в промышленности, а также правила внесения генетически модифицированных организмов в окружающую среду. В большинстве европейских стран, как и положено, подобные директивы включены в свод национальных законов, а это, согласимся, уже немало.

Общий вывод *меморандума ФЕМО* таков: «При осмоттельном применении генных технологий польза от них сильно перевесит риск отрицательных последствий; технологии конструирования рекомбинантных ДНК внесут существенный вклад в здравоохранение, в развитие устойчивого сельского хозяйства, в производство пищи, в очистку окружающей среды».

*Клонирование.* Одним из самых современных и перспективных методов генной инженерии для получения новых микробных штаммов является генетическое копирование

(клонирование). По принятому в науке определению, клонирование – это точное воспроизведение того или иного живого объекта в каком-то количестве копий. Вполне естественно, что все эти копии должны обладать идентичной наследственной информацией, т. е. нести одинаковый набор генов.

Особенно большой резонанс у мировой общественности получили работы шотландских ученых из Рослинского Университета, которым удалось из клетки молочной железы беременной овцы получить генетически точную ее копию. Клонированная овца по кличке Долли нормально развивалась и произвела на свет сначала одного, а затем еще трех нормальных ягнят. Вслед за этим появился ряд новых сообщений о воспроизведении генетических близнецов коров, мышей, коз, свиней, обезьяны из соматических клеток этих животных. В 2000 г. появились сведения о клональном размножении потомства приматов путем деления зародыша. Американским исследователям удалось получить генетически идентичные эмбрионы обезьяны-резус путем разделения бластомеров зародыша на стадии деления. Из эмбриона родилась вполне нормальная обезьянка. Тетра – генетический близнец первоначально зачатой особи. Такой тип клонирования обеспечивает генетически идентичное потомство и в результате можно получить двойню, тройню и более генетических близнецов. Следовательно, есть возможность повторять сложные научные эксперименты на абсолютно генетически идентичном материале. Имплантируя последовательно зародыш одной и той же суррогатной матери, можно изучить влияние ее организма на развитие плода. Разработанные методы клонирования животных пока еще

далеки от совершенства. В процессе экспериментирования наблюдается высокая смертность и большой процент уродств новорожденных (из 226 опытов, проведенных в лаборатории Я. Вильмута в Рослинском институте, удачным оказался лишь один – на свет появилась овца Долли).

Еще не ясны многие механизмы клонирования и развития животных из соматической клетки. Тем не менее, успех, достигнутый на данный момент, показал теоретическую возможность создания генетических копий даже человека из отдельной клетки, взятой из какого-либо органа. Многие ученые с энтузиазмом восприняли идею клонирования человека. Например, «отец» первого ребенка «из пробирки» Л. Эдвардс, заявил, что этот метод можно использовать для получения «запасных» органов, которые пересаживались бы больному человеку. Опрос общественного мнения в США 2000 г. показал, что 7 % американцев готовы подвергнуться клонированию. Вместе с тем, многие ученые и общественные деятели озабочены потенциальной опасностью (в том числе моральной) и высказываются против клонирования человеческих особей. Существует и биологическая проблема. Известно, что в процессе культивирования клеток в пробирках и получения соматоклонов могут возникать различного рода мутации в геноме, вредные для организма. К тому же, как установлено, клональные особи имеют особенность быстрого старения и угнетения многих жизненных функций за короткий промежуток времени. Следовательно, клонирование людей может привести к возрастанию в человеческой популяции генетически неполноценных, в т. ч. психически больных людей. Кроме того, возникает целый

ряд моральных, этических и даже юридических проблем, связанных с манипуляциями над эмбрионом человека.

Интеграция биологического и социогуманитарного знания. Естествознание и нравственность.

*Биоэтика.* Связи между естествознанием и нравственностью многочисленны и двусторонни. Естествознание, как и вся наука в целом, оказывает сильное влияние на общественную мораль, испытывая на себе ее обратное воздействие. Общество не может не ограничивать научный поиск, если сам поиск или его результаты могут входить в противоречие с актуальными нормами нравственности или представлениями о гуманности. Вопрос «можно ли запрещать истину во имя спасения морали?» ответа не имеет. Те, кто находят у истины приоритет перед моралью, основывают это на том соображении, что мораль относительна и изменчива, а истина абсолютна и вечна. Их оппоненты считают, что не всякие истины людям нужны. Немецкий философ А. Шопенгауэр (1788–1860) однажды заметил: «Вы превозносите достоверность и точность математики, но зачем мне с достоверностью и точностью знать то, что мне знать не нужно?»

*Биоэтика* – это сложный социокультурный феномен, возникший как ответ на угрозы моральному и физическому благополучию человека, порождаемые бурным прогрессом биомедицинской науки и практики. Защита фундаментальных моральных ценностей, определяющих человеческое существование, является условием выживания человечества в современной ситуации. Ключевые вопросы биоэтики:

В ЮНЕСКО действуют два комитета по биоэтике – международный и межправительственный. В Совете Европы



этой тематикой занимается Руководящий комитет по биоэтике. Рабочая группа по биоэтике существует и в рамках Всемирной Организации Здравоохранения. Этическое и правовое регулирование в области биоэтики осуществляется на основе международных нормативных документов:

Всеобщая декларация о геноме человека и правах человека (ЮНЕСКО, 1997);

Всеобщая декларация о биоэтике и правах человека (ЮНЕСКО, 2005);

Декларация о клонировании человека (ООН, 2005);

Юридически обязывающая Конвенция о защите прав и достоинства человека в связи с применением достижений биологии и медицины;

Конвенция о правах человека и биомедицине (Совет Европы, 1997) и дополнительные протоколы к ней, касающиеся запрета клонирования человека, трансплантологии, биомедицинских исследований;

Высоким международным авторитетом пользуется такой документ, как Хельсинкская декларация Всемирной медицинской организации (1964, последняя редакция – 2000) «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека»;

Нефть и природный газ и уголь – не только источники химической продукции. В настоящее время на производство энергии расходуется значительная часть этих невозобновляемых природных ресурсов. Кроме того, нефть и природный газ по-прежнему остаются основным видом топлива для транспорта и получения тепла, и такое их потребление во многих странах воспринимается как должное. Однако за каждым кубометром природного газа и тонной нефти нужно

идти все дальше на север или на восток, зарываться все глубже в землю, поэтому стоимость природных энергетических и сырьевых ресурсов будет с каждым годом возрастать.

## Выводы

1. Основная операция генной технологии заключается в извлечении из клеток организма гена (кодирующего нужный продукт) или группы генов и соединении их с молекулами ДНК, способными проникать в клетки другого организма и размножаться в них.

2. Основная цель генных технологий – видоизменить ДНК, закодирав ее для производства белка с заданными свойствами. Современные экспериментальные методы позволяют анализировать и идентифицировать фрагменты ДНК и генетически видоизмененной клетки, в которую введена нужная ДНК.

3. Генные технологии развиваются в двух основных направлениях.

*Первое направление* – улучшение уже существующих вакцин. Вакцины должны стать более эффективными, работать в меньших дозах и не давать побочных эффектов.

*Второе направление* – генные технологии получения вакцин против болезней, при которых сам метод вакцинации еще не использовался (СПИД, малярия, язвенная болезнь желудка и др.).

4. *Биоэтика* – это сложный социокультурный феномен, возникший как ответ на угрозы моральному и физическому благополучию человека, порождаемые бурным прогрессом биомедицинской науки и практики. Защита фундаментальных моральных ценностей, определяющих человеческое

существование, является условием выживания человечества в современной ситуации.

### **Вопросы и задания для самоконтроля**

1. Дайте определение основных принципов генных технологий.
2. Что включают в себя современные генные технологии.
3. Перечислите основные этапы проекта «Геном человека».
4. Какая роль проекта «Геном человека» в развитии генных технологий.
5. Этические проблемы и проблемы биобезопасности, связанные с геном человека.
6. Какие основные направления развития генных технологий?
7. Перечислите потенциальные риски генных технологий.
8. Что такое биоэтика, ее основные задачи.

## 9 ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИГ БУДУЩЕГО

1. Базы данных генетического мониторинга
2. Целевая терапия человека
3. Генетический мониторинг и этика

Рассмотрение генетического мониторинга, как научного направления, было бы не полным, если не остановится на перспективах его развития в будущем. Не вызывает сомнения тот факт, что основные усилия будут сконцентрированы на геноме человека. Генетический мониторинг будущего, по-видимому, будет базироваться на создании генетического паспорта каждого человека, в котором будет отмечено наличие аллелей наследственных заболеваний, предрасположенность индивидов к различным заболеваниям, непереносимость тех или иных химических веществ, повышенная чувствительность к различным факторам внешней среды и другая информация, необходимая для обеспечения наилучшего здоровья как каждого индивида, так и популяции в целом. Создание баз данных, содержащих огромное количество информации, а также обработка всей этой информации возможна только с помощью мощных автоматических программ.

Понимание генетических основ широко распространенных заболеваний будет способствовать развитию скрининговых инструментов и медицинских средств, которые могут помочь предотвратить распространение этих серьезных болезней в самых быстроразвивающихся странах мира. При этом в будущем большие надежды возлагаются на генную терапию.

Использование полученной информации практической медициной пока ещё только прогнозируется в достаточно отдалённом будущем. Должна быть создана благоприятная инфраструктура здравоохранения, гарантирующая доступ к новым скрининговым тестам, вакцинам и лекарствам, должны быть

преодолены культурные, экономические и политические преграды на пути перемен.

Для начала необходимо осуществить возможность секвенирования (определения последовательности) ДНК отдельных людей в максимально короткие сроки и за разумную цену. Основную надежду на преодоление скоростного и стоимостного барьера связывают с новыми технологиями. Многообещающим может стать новый метод секвенирования, разработанный группой ученых под руководством Массимилиано Ди Вентра (Massimiliano Di Ventra) из университета штата Калифорния (г.Сан-Диего). Метод позволяет секвенировать геном человека в течение нескольких часов и с относительно небольшими финансовыми затратами.

Последние достижения в области генетики человека и современные методы генетического мониторинга создают базу для зарождения новой персонализированной медицины, учитывающей генетические особенности пациентов. Задача состоит в том, чтобы осуществлять профилактику, более раннюю диагностику и более эффективную терапию за счет осуществления процедур, соответствующих конкретным генным характеристикам пациента. Определенные практические шаги в сторону воплощения в жизнь идеи о персонализированной медицине уже делаются. Однако для ее осуществления науке еще необходимо пройти длинный путь исследований и контрольных экспериментов. Процесс персонификации лечения будет состоять из последовательных этапов. И первым этапом станет генетический скрининг, который позволит поставить более точный диагноз и подобрать наименее безопасное и эффективное лекарство. *В будущем совершенствование «целевой терапии», ориентированной на биологические основы заболевания, должно резко улучшить безопасность и эффективность лечения.*

В настоящее время накоплен огромный материал по генным мутациям у человека. Часть из них уже внесена в базы данных, однако нет глобальных систематических способов

сбора и распространения этой информации среди ученых мира. Создание такой базы данных значительно продвинуло бы исследования в области диагностики и эффективного лечения наследственных заболеваний.

Ф.Коллинз, руководитель программы «Геном человека» сформулировал прогноз геномных исследований на ближайшие 40 лет.

**2010 год.** Генетическое тестирование, профилактика и меры, снижающие риск заболеваний и генная терапия до **25** наследственных болезней.

Прогноз геномных исследований на ближайшие 40 лет.

**2030 год.** Определение последовательности нуклеотидов всего генома отдельного индивида станет обычной процедурой, стоимость которой менее 1 тыс.долл.

Каталогизированы гены, участвующие в старении.

**2040 год.** Все общепринятые меры здравоохранения основаны на геномике. Определяется предрасположенность к большинству заболеваний (при/до) рождения.

Болезни определяются на ранних стадиях путем молекулярного мониторинга.

Замена лекарств продуктами генов, вырабатываемыми организмом при ответе на терапию.

Средняя продолжительность жизни достигнет 90 лет благодаря социэкономическим мерам. Проходят серьезные дебаты о возможности человека контролировать *собственную Эволюцию*.

Неравенство в мире сохраняется, создавая напряженность на международном уровне.

Проведение генетического мониторинга человека, помимо вышеперечисленных аспектов, открывает возможности изучения и других сторон жизни человека. Так, например, большой интерес представляет возможность определять способности и таланты человека по наличию у него тех или иных аллелей определенных генов. В настоящее время исследования в этом направлении уже ведутся.

## **Генетический мониторинг и этика**

По мере проведения генетического мониторинга человека с использованием новейших методов анализа мы получаем все более полную картину генетической структуры разных популяций и отдельных индивидов, составляющих их. Наряду с положительными сторонами данного процесса могут возникнуть проблемы этического плана. Например, не приведут ли сведения о распространенности в той или иной популяции определенных аллелей (патогенности, предрасположенности, непереносимости и т. д.) к ее дискриминации и, соответственно, преобладанию других популяций, характеризующихся иной структурой генофонда. Еще больше проблем возникает в отношении сохранения неприкосновенности частной жизни людей. Разглашение информации о генетическом статусе человека может принести ему вред. Если будет известна генетическая предрасположенность человека к какому-либо тяжелому заболеванию, ему может быть отказано в страховании жизни, медицинской страховке и даже в приеме на работу. Да и вообще, очень уж некомфортно самому человеку жить в постоянном ожидании болезни.

Очевидно, что в ряде случаев интересы общества и интересы индивида не совпадают. Повышение жизнеспособности лиц с тяжелыми наследственными патологиями, вплоть до возможности иметь детей, благо для человека, но не для популяции в целом, так как приводит к увеличению объема генетического груза. Именно на этой основе возникали евгенические программы насильственной стерилизации людей с отклонениями в умственном и физическом развитии. Современные моральные принципы основаны на компромиссе между интересами общества и индивида, а иногда интересы индивида ставятся выше интересов общества. Сейчас для решения возникающих проблем создаются этические комитеты. В 1996 г. Советом Европы была подписана «Конвенция о правах человека и биомедицине», в которой были установлены положения о генетических исследованиях и геномных технологиях.

Ведется работа по созданию биоэтических регламентаций в области генетики человека, эмбриологии, репродукции и социальным аспектам здравоохранения.

### **Выводы**

1. Понимание генетических основ широко распространенных заболеваний будет способствовать развитию скрининговых инструментов и медицинских средств, которые могут помочь предотвратить распространение этих серьезных болезней в самых быстроразвивающихся странах мира.
2. Последние достижения в области генетики человека и современные методы генетического мониторинга создают базу для зарождения новой персонализированной медицины, учитывающей генетические особенности пациентов.
3. В будущем совершенствование «целевой терапии», ориентированной на биологические основы заболевания, должно резко улучшить безопасность и эффективность лечения.

### **Вопросы и задания для самоконтроля**

1. Укажите основные характеристики генетического мониторинга в будущем.
2. Какие базовые этапы характерны для генетического мониторинга человека.
3. Роль знаний о геноме человека в целевой терапии человека.
4. Какие вопросы затрагивают этические аспекты генетического мониторинга человека.
5. Какие существуют опасения в генетическом мониторинге будущего?



## 10 ЭЛЕКТРОННЫЕ БАЗЫ ДАННЫХ

Учебное пособие, построено по типу конспекта лекций, который следует рассматривать как источник информации по конкретной дисциплине или группе дисциплин. Любой источник информации содержит лишь некоторый набор сведений, далеко не исчерпывающий существующие точки зрения, статистические данные, аналитические выкладки, касающиеся прямо или косвенно данной тематики. В силу этого обстоятельства конспект лекций рекомендуется расширять и обогащать, активно используя дополнительную литературу.

В качестве дополнительных источников информации рекомендуются электронные базы данных по курсу «Генетический мониторинг в агроэкологии», которые отражают темы:

Л. В. Цаценко

### МУЛЬТИМЕДИЙНЫЕ ЛЕКЦИИ ПО КУРСУ «ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ»

Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2009620412 от 11.01.2011, Заявка № 201062067 от 13.08.2009.

**Аннотация:** мультимедийные лекции по курсу «Генетический мониторинг», являются самостоятельным курсом, который успешно может быть использован для магистерских программ. База данных по курсу – генетический мониторинг, представленная как мультимедийные лекции, отражает основные этапы становления биологических наук, поиска методологии исследования, теории эксперимента, борьбу идей.

В мультимедийных лекциях представлен «каркас» знаний по всему курсу, начиная с задач дисциплины, ее месте среди

других наук, основных подходов, анализа техногенных факторов среды, их влияние на хромосомы и на все процессы жизнедеятельности клетки характеристики тест-систем, объектов исследований для тест-систем, уровни генетического мониторинга, генетический мониторинг агропопуляций, генетический мониторинг человека, анализ трансгенов, нанотехнологии в генетическом мониторинге, генетический мониторинг будущего.

Для более эффективной оценки усвоения в конце каждой лекции приведены основные выводы в виде заключения. Каждая лекция имеет список рекомендуемых источников литературы. Материал является уникальным, т.к. включил в себя все имеющиеся русские источники по вопросам истории биологических наук и имеет ряд уникальных переводных статей и книг по современным направлениям развития современных биологических наук, уникальные фотографии как самого автора, так и работы исследователей, работающих в этой области.

Данная база данных может быть использована для подготовки к семинарам, коллоквиумам, экзамену, а также магистерских программ по курсу «Генетический мониторинг».

Объем базы данных: 202 Мб.

Л. В. Цаценко

**МЕТАМОРФОЗЫ ТЕЛА ЧЕЛОВЕКА  
В ПРОИЗВЕДЕНИЯХ ИСКУССТВА. АТЛАС**

Свидетельство о государственной регистрации база  
№ 2013621136 от 12.09.2013, Заявка № 2013620793  
от 16.07.2013.

**Аннотация:** база данных, построенной по типу атласа в основу которого вошли образы метаморфоз тела человека или мутаций на основе произведений искусства, охваты-

вающая период с XIV по XIX в. В базе данных нашли отражения такие мутации человеческого тела: карлики, великаны, близнецы, близнецы сиамские, альбинизм, а также различные отклонения в развитии тела человека.

База данных является уникальной, поскольку содержит многообразный иллюстративный материал различных эпох: картины, скульптуры, что все вместе составляет атлас образов мутаций человеческого тела.

В базе данных уделено внимание методологии анализа изображения, что позволяет проводить научный поиск по определенному признаку. Представленный материал в таком разрезе времени позволяет проанализировать и динамику развития знаний человека о генетике, о роли различных факторов в формировании того или иного заболевания.

База данных оформлена в виде презентации в программе Power Point.

База данных предназначена в качестве основного материала к лекционному курсу для бакалавров, занимающихся по дисциплине «Генетический мониторинг», магистров, занимающихся по дисциплине «Биоэтика и вопросы биобезопасности» и аспирантов, биологического профиля, обучающихся по дисциплине «Генетика».

Объем базы данных: 48,2 Мб.

Л. В. Цаценко, А. С. Синельникова

## **ПЫЛЬЦЕВОЙ АНАЛИЗ В ИЛЛЮСТРАЦИЯХ И КОММЕНТАРИЯХ**

Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2012620192 от 15.02.2012 года. Заявка № 2011620973 от 15.12.2011.

**Аннотация:** Данная база данных является частью базового материалом для лекционных курсов по цитологии, цитогенетики и генетическому мониторинга. Имеет уникальную смысловую и иллюстративную наполненность, отражает основные понятия, термины, методы анализа с использованием иллюстраций, фотообразов пыльцевых зерен выполненных с помощью световой и электронной микроскопии.

База данных структурирована по следующим разделам: морфометрические характеристики пыльцевого зерна; строение пыльцевого зерна; пыльцевые зерна сельскохозяйственных культур; цветочных растений; деревьев; диплоидные, полиплоидные, аномальные пыльцевые зерна; микроспорогенез; влияние поллютанов и других факторов на пыльцевое зерно. Каждый раздел насыщен ссылками на основные источники и интернет-ресурсы по пыльцевому анализу.

Весь материал оформлен в виде презентации в программе Power Point.

Каждая раздел имеет следующую структуру: тема, содержание; базовый материал, список использованных источников.

В базе данные использовались фотообразы и рисунки из собственных исследований авторов, а также проработанных литературных источников, в том числе и ресурсов Internet. Содержатся уникальные фотографии и рисунки, впервые данные в таком объеме и представлены на русском языке.

Объем базы данных: 77,12 Мб.

Л. В. Цаценко, С. А. Мосунов  
**РАСТЕНИЯ В ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ**  
Свидетельство о государственной регистрации базы  
Данных № 2010620021 от 11.01.2010, Заявка № 2009620546  
от 26.10.2009.

**Аннотация:** данная база данных является логическим продолжением ряда курсов, таких как: история генетической науки, генетики, генетический анализ, цитологии и цитогенетики растений, генетический мониторинг.

База данных «Растения в генетических исследованиях», содержит информацию о растениях, краткое описанием тех явлений или законов, которые были открыты с их помощью. База данных содержит достаточно большое количество материала из различных книг, статей, собственных исследований. Имеющийся материал систематизирован, проработаны надписи и ссылки, который затем и лег в основу данного проекта. В базу данных вошло около 80 видов. Весь имеющийся материал мы оформили по типу отдельного веб-узла, который регулярно может пополняться новыми материалами.

**В состав проекта вошли следующие разделы:**

- ✓ Главная страница;
- ✓ О проекте;
- ✓ Структура проекта;
- ✓ Поиск по виду растений;
- ✓ Поиск по ключевому слову;
- ✓ Библиографический список.

Данная база данных может быть успешно использоваться при разработке лекционного и практического материала для студентов биологических специальностей сельскохозяйственных вузов, а также рекомендуется как дополнительный материал при самостоятельной работе студентов, обучающимся на магистерских курсах по дисциплинам история генетики, генетика, цитогенетика, генетический мониторинг.

Объем базы данных: 41 Мю.

Л. В. Цаценко

### **ТЕРАТОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ**

Свидетельство о государственной регистрации базы  
данных № 201262186

от 7.12.2012, Заявка № 2012621181 от 29.10.12

**Аннотация:** База данных посвящена всестороннему анализу тератологии растений, которая встречается у многих представителей различных видов и семейств растительного царства. В основу базы данных легли знания о различных типах тератологии растений, приведена обширная их классификация, рассмотрены области биологической науки, где изучаются эти вопросы, а также каждый раздел подкреплен иллюстративными образами. В предоставленном иллюстративном материале имеются рисунки, фотографии различных исследователей и самого автора.

База данных включает в себя определение понятий «тератология», главнейшие типы уродливостей; уродливости растений, состоящие в нарушении нормальной формы органов; уродливости растений, возникающие от уменьшения или увеличения числа органов или их частей; уродливости растений,

возникающие на почве внутренних (клеточных) изменений; использование тератологии растений в селекции.

База данных построена по типу мультимедийной презентации в программе Power Point.

В базе данных использовались информационные образы собственных исследований автора, а также проработанных литературных источников, в том числе и ресурсов Internet. Визуальное представление материала в виде различных фотографий и рисунков делает его доступным в понимании и запоминающимся по смысловой нагрузке.

Данная база данных предназначена для бакалавров, занимающихся по дисциплинам: «Цитология» и «Генетический мониторинг», а также магистров, обучающихся по дисциплине «Биологическое тестирование почвы» и аспирантов биологического профиля, обучающихся по направлению подготовки «Генетика» и «Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений».

Объем базы данных: 27,7 Мб.

Л. В. Цаценко, С.А. Нековаль, А.С. Синельникова  
**ИЛЛЮСТРИРОВАННЫЙ ГИД ПО ТЕМЕ  
«МЕЙОЗ У РАСТЕНИЙ»**

Свидетельство о государственной регистрации база  
данных № 2014620098 от 15.01.2014,  
Заявка № 2013621519 от 18.11.2013

**Аннотация:** представленная база данных является частью базового материала для лекционных курсов по курсов цитология, цитогенетика и генетический мониторинг. Имеет уникальную смысловую и иллюстративную наполненность, от-

ражает основные понятие, термины, методы анализа с использованием иллюстраций, фотообразов, а также весь материал представлен в виде схем и пояснениями и комментариями.

База данных структурирована по следующим разделам: основные события мейоза, фазы мейоза, отличие митоза от мейоза, аномалии мейоза, мейоз у полиплоидов и гаплоидов, сенапномемный комплекс, нарушения мейоза. В иллюстрированном гиде имеются ссылки на основные источники и интернет-ресурсы.

Созданный материал содержит несколько смысловых разделов: базовые определения, цели и задачи, сравнение одного типа деления клетки с другим, типы и виды мейоза, значение мейоза для селекции. Весь материал оформлен в виде презентации в программе Power Point.

В базе данных использовались фотообразы и рисунки проработанных литературных источников, большой собственный материалов том числе и ресурсы Internet. Представленный материал в виде схем и комментариев облегчает восприятие всех тем, делает легче в понимании и способствует активному зрительному восприятию информационного ресурса.

**Объем базы данных:** 6,72 Мб.

Л.В. Цаценко, В.В. Казакова  
**ФАСЦИАЦИЯ У РАСТЕНИЙ**

Свидетельство о государственной регистрации база данных № 2013620985 от 23.08.2013, Заявка № 2013620726 от 05.07.2013

**Аннотация:** база данных посвящена всестороннему анализу фасциации у растений, которая встречается у многих представителей различных видов и семейств растительного



царства. В основу базы данных легли знания о различных типах фасциация растений, приведена обширная их классификация, рассмотрены области биологической науки, где изучаются эти вопросы, а также каждый раздел подкреплен иллюстративными образами. В предоставленном иллюстративном материале имеются рисунки, фотографии различных исследователей и самого авторов.

База данных включает в себя определение понятий «фасциация», главные типы фасциаций характер их проявления у различных групп растений; использование фасциации у растений в селекции.

В базе данных использовались информационные образы собственных исследований авторов, а также проработанных литературных источников, в том числе и ресурсов Internet. Визуальное представление материала в виде различных фотографий и рисунков делает его доступным в понимании и запоминающимся по смысловой нагрузке.

База данных оформлена в виде презентации в программе Power Point.

База данных предназначена для бакалавров, занимающихся по дисциплине «Генетический мониторинг» и аспирантов, биологического профиля, обучающихся по дисциплине «Генетика», в том числе по курсу «Частная цитогенетика».

**Объем базы данных:** 33,5 Мб.

Л.В.Цаценко, А.С.Звягина, Н.А. Цаценко

## **МОДЕЛИ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ**

Свидетельство о государственной регистрации база данных № 2014621088 от 05.08.2014, Заявка № 2014620790 от 11.06.2014

**Аннотация:** В базе данных представлены материалы по методу проектов «Модели в биологических исследованиях».

За основу построения данной базы данных взяты модели для исследований, сделанные из пластиковых бутылок. Структурно база данных разделяется на несколько блоков: описание сущности метода проекта, основные требования. Затем приводится историческая справка, а именно возникновение модели «Бутылочная биология».

Большую часть базы данных составляют разработки авторов, подкрепленными патентами на полезную модель РФ, приводятся схемы, чертежи, фотографии различных моделей: устройство для биотестирования почвы, сушилка для малых партий семян, многоярусная вертикальная грядка, контейнеры для хранения семян, демонстрационные контейнеры-подиумы, переносной контейнер для биотестирования почвы.

Отдельным блоком представлены модели других исследователей с иллюстративным рядом, где рассмотрены модели: подвесные бутылочные грядки, бутылочные огороды и плантации.

База данных оформлена в виде презентации в программе Power Point.

База данных подготовлена может быть использована при проведении практических занятий по курсу «Генетический мониторинг» для обучения бакалавров и магистров, а также может быть успешно применена в научном эксперименте в зависимости от целей работы.

**Объем базы данных:** 21,3 Мб.

## Список литературы

1. Алтухов Ю. П. Генетические процессы в популяциях / Ю. П. Алтухов – М. : Наука, 1989. – 328 с.
2. Биологический контроль окружающей среды: генетический мониторинг : учеб. пособие / С. А. Гераськин, Е. И. Сарапульцева, Л. В. Цаценко [и др.]; под ред. С. А. Гераськина и Е. И. Сарапульцевой. – М. : Академия, 2010. – 208 с.
3. Глазко В. И. Толковый словарь терминов по общей и молекулярной биологии, общей и прикладной генетики, селекции, ДНК-технологии и биоинформатике. В 2 т. Т. 1. А–О / В. И. Глазко, Г. В. Глазко. – М. : ИКЦ «Академкнига», «Медкнига», 2008. – 671 с.
4. Голубовский М. Д. Век генетики: эволюция идей и понятий / М. Д. Голубовский. – СПб. : Борей Арт, 2000. – 262 с.
5. Жиганова Л. П. Роль США в разработке международного проекта «Геном человека» / Л. П. Жиганова // США. Канада. Экономика-Политика-Культура. – 2011. – Т. 9. – С. 93–106.
6. Жученко А. А. Роль генетической инженерии в адаптивной системе селекции растений (мифы и реалии) / А. А. Жученко // С.-х. биология. Серия Биология растений. – 2003. – №1. – С.3–33.
7. Клещенко Е. Энциклопедия элементов ДНК: доступ открыт / Е. Клещенко // Химия и жизнь. – 2012. – № 10. – С. 8–10.
8. Коршунова Л. Г. Трансгеника и ее перспективы в птицеводстве / Л. Г. Коршунова, Р. В. Карапетян // Птицеводство. – 2000. – № 4. – С. 23–25.
9. Фандо Р. А. Биоэтика и евгеника: аксиологический диалог / Р. А. Фандо // Биоэтика. – 2014. – № 1. – С. 23–26.

10. Чесноков Ю. В. ГМО и генетические ресурсы растений: экологическая и агротехническая безопасность / Ю. В. Чесново // Вавилоский журнал генетики и селекции. – 2011. – Т. 15.– №4. – С. 818–827.
11. Цаценко Л. В. Растения в генетических исследованиях/ Л. В. Цаценко, Н. А. Щербаков. – Славянск-на-Кубани : ООО «Алев», 2010. – 116 с.
12. Цаценко Л. В. Пыльцевой анализ: монография / Л. В. Цаценко, С. Н. Нековаль. – Краснодар : КубГАУ, 2012. – 126 с.
13. Цаценко Л. В. Биоэтика и основы биобезопасности / Л. В. Цаценко. – Краснодар : КубГАУ, 2014. – 111 с.
14. Цаценко Л. В. Произведения живописи в преподавании дисциплины «Генетический мониторинг» / Л. В. Цаценко // Науч. журн. КубГАУ [Электронный ресурс ]. – Краснодар : КубГАУ, 2014. – № 10 (104). – С. 1497–1507. – IDA [article ID]: 1041410103. – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2014/10/pdf/103.pdf>, 0,688 у.п.л.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1. ЦЕЛИ, ЗАДАЧИ И МЕСТО ГЕНЕТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА В СИСТЕМЕ НАУК.....	5
2. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИХ И ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА НАСЛЕДСТВЕННЫЙ АППАРАТ КЛЕТКИ.....	15
3 ДЕЙСТВИЕ МЕТАЛЛОВ НА НАСЛЕДСТВЕННЫЙ АППАРАТ КЛЕТКИ.....	26
4 ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕСТ-СИСТЕМ, ПРИМЕНЯЮЩИХСЯ В ГЕНЕТИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ.....	35
5 РАСТЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ ТЕСТ-СИСТЕМ.....	42
6 КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РИСКА...	51
7 ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ТРАНСГЕНОВ.....	60
8 ГЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ.ДНК-ТЕХНОЛОГИИ, ТРАНСГЕНЕЗ, МОЛЕКУЛЯРНОЕ МАРКИРОВАНИЕ.....	74
9 ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ БУДУЩЕГО.....	92
10 ЭЛЕКТРОННЫЕ БАЗЫ ДАННЫХ.....	97
СПИСОК ЛИТЕРАТУРА.....	107

У ч е б н о е   и з д а н и е

**Цаценко Людмила Владимировна**

**ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ В АГРОЭКОЛОГИИ**

*Учебное пособие*

В авторской редакции

Подписано в печать 23.02.2016. Формат 60 × 84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>.

Усл. печ. л. – 6,4. Уч.-изд. л. – 5,0.

Тираж 50 экз. Заказ №

Типография Кубанского государственного  
аграрного университета.

350044, г. Краснодар, ул. Калинина, 13