

ПЕРВИЧНАЯ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ БАССЕЙНА
БАЛТИЙСКОГО МОРЯ.

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

Кафедра генетики и селекции, Санкт-Петербургский государственный университет

PRIMARY GENETIC ESTIMATION OF ENVIRONMENTAL STATE IN THE BALTIC SEA BASSIN.

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

Department of Genetics & Breeding, Saint Petersburg State University

Регион Балтийского моря, имеющий огромное значение для России и стран Балтии, в течение длительного времени подвергается антропогенным воздействиям, приводящим к усилению экологического стресса. После развала СССР Финский залив является единственным прямым выходом РФ в Балтийское море. Это привело к проектированию и строительству, как на северном, так и на южном побережьях, портовых сооружений с сопутствующей им инфраструктурой, прокладке газопровода, активизации строительства индустриально-промышленных комплексов.

Многочисленными исследованиями показано, что сильным воздействиям подвергаются сложившиеся природные комплексы, включающие растительность, животный мир, структуру почв и состав её микро- и макрофлоры и фауны, водные системы и ландшафты. В регионе Балтийского моря резко возросли концентрации основных веществ, загрязняющих окружающую среду. У животных, растений и микроорганизмов такая активная деятельность человека отражается, в первую очередь, на состоянии генетического аппарата клеток, что может быть оценено с помощью генетических методов. Любое резкое изменение в составе факторов окружающей среды ведет к возникновению напряженности, на которую в первую очередь реагирует геном самых чувствительных клеток организма. Одним из проявлений неблагополучия в окружающей среде является нарушение целостности хромосом в делящихся клетках быстро растущих тканей и органов. Подобные изменения могут происходить задолго до каких-либо заметных видимых проявлений на организменном, популяционном и, тем более, видовом уровнях. Поэтому возрастает прогностическая роль генетического мониторинга состояния окружающей среды.

Результатом влияния антропогенных факторов на организм является увеличение скорости мутационного процесса. В нормальных условиях на все спонтанные мутации эффективно воздействует система репарации, которая обуславливает достаточно низкий уровень частоты генетических нарушений и их незначительное влияние на организм. При

хроническом воздействии вредных для организма факторов эффективная работа систем репаративного синтеза ДНК и иммунной системы подавляется. Это приводит к цитогенетической нестабильности и накоплению в организме хромосомных и генных дефектов, то есть увеличивается частота аберрантных клеток, изменяются показатели цитогенетической стабильности (Ильинских, 1992).

В цитогенетике существует ряд широко используемых, эффективных и доступных методов учета аберрантных клеток и анализа цитогенетической стабильности. Высоко чувствительным цитогенетическим методом выявления действия среды на хромосомный аппарат является анализ хромосомных aberrаций, возникающих в результате повреждения ДНК на разных стадиях клеточного цикла. Учет количества перестроек проводится на препаратах метафазных хромосом. Для проведения подобной оценки необходимо использовать препараты тканей, где имеется большое число активно делящихся клеток. У позвоночных животных для этих целей чаще всего анализируют костный мозг, но использование только позвоночных животных не дает полной характеристики влияния условий окружающей среды.

Следует подчеркнуть, что в большинстве существующих методов генетического мониторинга делается упор на использование хорошо изученных лабораторных объектов. Однако для более адекватной оценки состояния окружающей среды необходимо привлекать природные виды, обитающие на изучаемых территориях. Некоторые из них могут служить в качестве биоиндикаторов экологического стресса, влияющего на состояние их генетического аппарата. В связи с этим актуальной является задача поиска новых тест-объектов для оценки степени антропогенного воздействия на различные экосистемы, в том числе, водные и почвенные (Захаров и др., 2000).

Многолетняя работа коллектива сотрудников кафедры генетики и селекции СПбГУ в области экологической генетики позволила среди множества изученных видов выделить группу организмов, наиболее пригодных для проведения комплексного эколого-генетического мониторинга.

Среди многочисленных беспозвоночных животных представители некоторых видов класса *Crustacea* характеризуются широким ареалом распространения и обитают как в условиях пресных и морских водоемов, так и в условиях суши. Благодаря этому представителей этого класса активно используют в качестве индикаторных видов при определении качества воды с помощью индексов биоразнообразия, биотических индексов

Вудивисса и т.п., а также в тестах на острую токсичность различных химических веществ (Крайнюкова, 1991). Ряд видов данной группы был использован нами для проведения генетического мониторинга отдельных районов Белого и Баренцева морей. В качестве основного метода исследования применяли цитогенетический анализ активно делящихся клеток на стадии анафазы-телофазы у организмов выбранных видов (Рис.1).

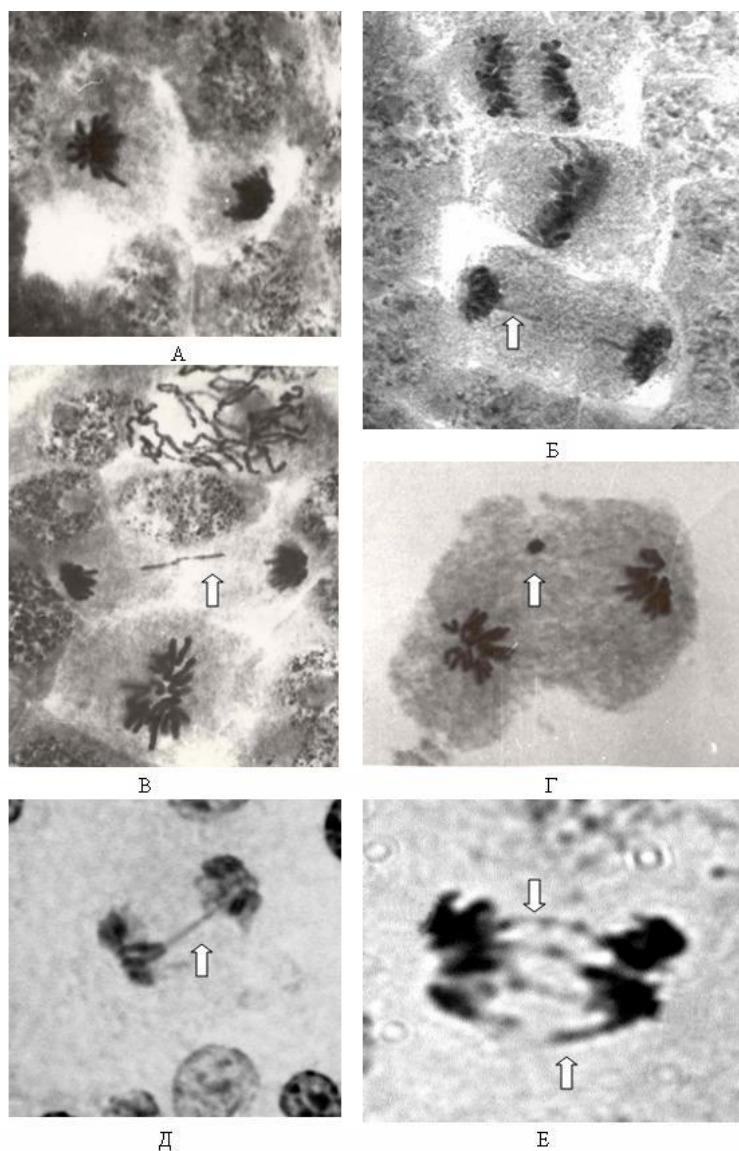


Рис.1. Делящиеся клетки на стадии ана-телофазы. А – нормальная анафаза, Б – анафаза с отставшими хромосомами, В и Г – анафазы с фрагментом, Д - анафаза с мостом, Е - анафаза с множественными перестройками. Перестройки отмечены стрелками.

Он позволяет выявлять и давать объективную количественную оценку повреждения генетического материала на хромосомном уровне. Такого рода исследования широко

используются в последнее время, например, в мониторинге генетических последствий Чернобыльской аварии. Данный метод предполагает наличие активно делящихся клеток у организма-индикатора. Равноногие раки отвечают данному требованию, поскольку имеют в своем развитии соответствующую стадию. В качестве критерия генетической оценки степени повреждения генома внешними воздействиями была выбрана общая частота нарушений структуры хромосом, включающая в себя частоты хромосомных aberrаций различных типов.

На основании полученных данных по частоте хромосомных aberrаций и на основании литературных данных был сделан вывод, что Баренцево море в районе Кольского залива испытывает гораздо бо́льшую антропогенную нагрузку, чем Белое море в районе Чупинской губы, где практически отсутствуют предприятия тяжелой и горнодобывающей промышленности, а на побережье нет крупных промышленных городов, производящих сброс сточных вод в пресноводные водоемы или непосредственно в морской бассейн (Вислянская, 1998; Лозовик, 1998). В целом, полученные результаты продемонстрировали, что морские представители видов *Crustacea* могут служить биоиндикаторами генетических последствий влияния различных факторов водной среды на примере популяций йер Белого и Баренцева морей.

На протяжении ряда лет нами проводится цитогенетический мониторинг состояния воды и почв в бассейне Финского залива Балтийского моря с использованием ряда видов-биоиндикаторов класса *Crustacea*.

Обследование акватории Финского залива в районе строительства причальных сооружений в поселке Стрельна позволило обнаружить в пробах воды ряд планктонных форм, которые оказались пригодными для дальнейшего генетического мониторинга. Проведенный у них предварительный цитогенетический анализ не выявил существенного повышения уровня анализируемых митотических нарушений (Табл. 1).

Одновременно с обследованием акватории Финского залива в районе строительства проводили генетический мониторинг прилегающих водных резервуаров прибрежной зоны на пресноводном рачке *Asellus aquaticus* и рачках-циклопах (сем. *Cyclopyidae*) (табл. 2).

Было показано, что частота выявленных ХА колеблется в пределах 2,9-5,4%. Ранее полученные данные (на протяжении 1987 – 2001 годов) для «чистых» мест обитания водяных осликов Ленинградской области демонстрируют значения спонтанного уровня нарушений хромосом, укладываемые в пределы варьирования от 2 до 5 %, что, видимо, характерно для беспозвоночных животных в целом.

Табл. 1. Частота хромосомных aberrаций в митотических клетках ряда видов планктонных форм, собранных в акватории Финского залива в районе строительства.

Анализируемый вид	Частота ХА (%)
<i>Diopanosoma brachyurum</i>	2,3 ± 1,28
<i>Bosmina sp.</i>	1,5 ± 1,04
<i>Leptodora kindti</i>	2,3 ± 1,31

Таблица 2. Частота хромосомных нарушений в клетках водяного ослика *Asellus aquaticus* и веслоногих рачков-циклопов семейства *Cyclopidae* в местах сбора на территории строительства в Стрельне в 2009 году (%).

Место сбора материала	Частота хромосомных aberrаций в делящихся клетках	
	водяного ослика	рачков-циклопов
Точка 1	3,5 ± 0,69	-
Точка 2	5,4 ± 0,56*	-
Точка 3	4,4 ± 0,64	2,6 ± 1,2
Точка 4	2,9 ± 0,52	3,3 ± 1,6

Примечание: «-» - объект не найден. * - отличие от точки 4 достоверно (P<0,05).

В тех же пределах колеблется этот показатель и у рачков-циклопов (сем. *Cyclopidae*), хотя они были выявлены не во всех местах сбора (табл.2). Выявленные различия между

точками сбора материала указывают на возможность оценки «неравномерности» распределения загрязнений.

Сравнение полученных данных с анализом уровня хромосомных aberrаций у *Asellus aquaticus* в районе строительства портовых сооружений в пос. Вистино выявило клинальную изменчивость показателя, соответствующую степени антропогенной нагрузки на пресноводные водоемы: частота ХА возрастала с 3 до 11% (Табл.3).

Таблица 3. Частота хромосомных aberrаций в митотически делящихся клетках водяного ослика *Asellus aquaticus*, обитающего в «чистых» водоемах Карельского перешейка и в районе строительства Усть-Лужских портовых сооружений в районе пос. Вистино в 2008 году.

№№ точек сбора	Частота aberrаций (%)
14	4,9 ± 0,93
20	7,6 ± 0,90 ^a
26	11,3 ± 1,06 ^{a,б}
29	8,2 ± 1,03 ^a
31	6,8 ± 0,94 ^a
Контроль	3,0 ± 0,29

Примечание: ^a - отличие от контроля достоверно (t-критерий Стьюдента, P<0,05); ^б - отличие от данных по всем другим точкам.

Сходные результаты были получены при оценке загрязненности почвы в ряде мест Карельского перешейка, являющегося водосборной территорией Финского залива, с использованием мокриц *Porcelio scaber* в качестве вида-биоиндикатора. В «условно чистых» местах сбора уровень хромосомных перестроек варьировал от 2,4 до 8,2%. В «условно грязных» точках частота хромосомных aberrаций достигала 20 %.

Таким образом, полученные данные позволяют судить о достаточной чувствительности использованного метода в проведении цитогенетического мониторинга

состояния окружающей среды и получении количественной оценки стабильности генетического материала при действии различных факторов в естественных условиях среды обитания данных организмов. Результаты подтверждают возможность и необходимость проведения эффективного комплексного экологического мониторинга с обязательным использованием генетических методов.

Представленные материалы прошли апробацию на международных и всероссийских научных конференциях и съездах (Вологда, 2005; Санкт-Петербург, 2006; Москва, 2006, 2009; Тольятти, 2006; Санкт-Петербург, 2007, 2008, 2011).

Работа поддержана грантом ФЦП (ГК 02.740.11.0698) и грантом Президента РФ по поддержке ведущих научных школ.