

Министерство образования и науки Российской Федерации
Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова

Современные проблемы биологии, экологии, **ХИМИИ**

*Материалы Всероссийской конференции
молодых ученых*

Ярославль
ЯрГУ
2013

УДК (54+57):001.12/.18
ББК Е0я431+Гя431
С56

*Рекомендовано
Редакционно-издательским советом университета
в качестве научного издания. План 2013года*

С 56 Современные проблемы биологии, экологии, химии : Материалы Всероссийской конференции молодых ученых / отв. ред. канд. хим. наук, доц. Р.С. Бегунов ; Яросл. гос. ун-т. – Ярославль : ЯрГУ, 2013. – 108 с.

ISBN 978-5-8397-0064-5

В сборнике опубликованы материалы международной научной студенческой конференции по актуальным проблемам современной биологии, экологии и химии. В центре внимания находятся вопросы экологического мониторинга, экологии человека, генетической токсикологии, физиологии и биохимии, химии и химической технологии.

Материалы издаются в авторской редакции.

УДК (54+57):001.12/.18
ББК Е0я431+Гя431

ISBN 978-5-8397-0064-5

©ЯрГУ, 2013

Раздел 1. Генетика

УДК 575.1

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВОДЫ ОЗ. НЕРО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ *CHLORELLA VULGARIS* В КАЧЕСТВЕ ТЕСТ-ОБЪЕКТА

Ильина К. Г.

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова

Одним из показателей состояния водоема может служить уровень генотоксической активности воды. К генотоксикантам относят собственно мутагены, которые обладают способностью повреждать наследственные структуры всех живых организмов, включая человека. Кроме этого, генотоксическими являются факторы, нарушающие генетические процессы и влияющие на выход мутаций. Особая опасность мутагенного воздействия заключается в наследуемости произошедших негативных изменений и проявлении их в последующих поколениях. Поэтому в настоящее время большое внимание уделяется выявлению и оценки генотоксических факторов.

Особенно важно изучение токсикогенетической ситуации в водоемах, которые являются источниками питьевого водоснабжения и рекреационными зонами для больших групп населения. К таким водоемам относится оз. Неро. Оно является самым крупным озером Ярославской области и обладает некоторыми особенностями. Озеро относится к высокоэвтрофным, содержит большое количество отложений сапропеля. Иловые отложения могут достигать до 20 м, при небольших глубинах (до 6 м) (Гунова, 2002). Кроме этого водоем испытывает значительную антропогенную нагрузку за счет сточных вод г. Ростова и поселков, расположенных по берегам озера, маломерного флота, поверхностного стока с сельскохозяйственных угодий, ферм и крупных автомагистралей. До 60% водосбора озера представляют собой

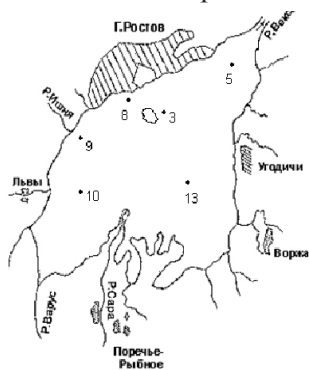
© Ильина К. Г., 2013

земли, используемые для культурного земледелия. При этом из озера осуществляется питьевой водозабор.

На озере проводятся регулярные гидрохимические и гидробиологические и другие исследования (Лазарева, 2008). Наша работа является продолжением мониторинга генотоксической активности воды озера Неро, проводимого лабораторией генетики ЯрГУ (Проخورова и др., 2008).

Цель работы: изучение генотоксической активности воды оз. Неро в сезон 2012 года. В ходе работы решались следующие задачи: изучение пространственного распределения и временной динамики генотоксичности воды.

О генотоксической активности воды судили по суммарному показателю (СМА), который определяется в цельной пробе и отражает сумму всех взаимодействующих факторов (Журков, 1998). В качестве материала в работе использовались пробы воды, отобранные из поверхностного слоя с июня по сентябрь 2012 г. ежемесячно на шести стандартных станциях (Бикбулатов, 2003, рис. 1):



- Ст. 3. У Городского острова, в 50 м.
- Ст. 5. Место добычи сапропеля.
- Ст. 8. Напротив предприятия Русь-квас, в прибрежной зоне, в 100м от берега.
- Ст. 9. Против устья р. Ишня.
- Ст. 10. В центре Лёвского залива.
- Ст. 13. Напротив села Воржа.

Рис.1 Станции отбора проб в озере Неро

После отбора пробы концентрировались методом вымораживания в 25 раз (Дубинина, 1996). Генотоксическая активность проб воды оценивалась с использованием метода макроколоний у одноклеточной зеленой водоросли *Chlorella vulgaris* (штамм ЛАРГ-1), полученного из Института Общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН.

В работе оценивалось два токсикогенетических показателя:

1. Мутагенная активность (МА) оценивалась по частоте видимых мутаций (ВМ) на уровне макроколоний. Этот показатель отражает уровень возникающих генных мутаций у хлореллы.

2. Митотоксическая активность проб оценивалась по выживаемости клеток хлореллы.

Для изучения мутагенной активности любого фактора необходимо знание контрольного уровня спонтанных мутаций. В условиях лаборатории генетики ЯрГУ частота спонтанных мутаций у *Chlorella vulgaris* штамм ЛАРГ-1 составляет $1,71 \pm 0,20\%$.

На первом этапе работы было проведено изучение пространственного распределения мутагенной активности (пробы от 17 июля 2012 г.). Результаты представлены в табл. 1. Выраженность МА (ВМА) отражает кратность превышения контрольного уровня.

Таблица 1

Частота ВМ у хлореллы при воздействии проб воды оз. Неро

Станция	ВМ, %	Выраженность МА
контроль	$1,71 \pm 0,20$	-
Ст. 3	$2,19 \pm 0,37$	1,28
Ст. 5	$1,94 \pm 0,39$	1,13
Ст. 8	$2,60 \pm 0,83$	1,52
Ст. 9	$2,08 \pm 0,18$	1,22
Ст. 10	$1,47 \pm 0,54$	0,86
Ст. 13	$1,26 \pm 0,25$	0,74

Как видно из представленных данных пространственное распределение МА неоднородно. Максимальная частота ВМ отмечена на станциях 3 и 8. Обе станции расположены в зоне влияния г. Ростова. Хотя на изученных станциях частота мутаций достоверно не превышает контрольный уровень следует отметить, что МА воды поверхностных водоемов может меняться достаточно быстро (в течение нескольких дней). Проведенное в 2004 г. исследование показало наличие на этих станциях мутагенного загрязнения (Прохорова и др., 2008). Следовательно, говорить о безопасности воды на этих участках нельзя.

Проведенные исследования позволили оценить не только мутагенную активность, но и митозмодифицирующую активность. В ходе работы показано, что на станциях 3 и 8 отмечает-

ся также снижение выживаемости клеток хлореллы, свидетельствующее о митотоксической активности воды. Следовательно, на этих станциях можно говорить о наличии генотоксического загрязнения, влияющего как на частоту видимых мутаций, так и на прохождение митоза.

Для изучения динамики МА проводилась оценка частоты ВМ у хлореллы про воздействию проб воды, отобранной на одной и той же станции в разные сезоны (табл. 2, рис. 2).

Таблица 2

Динамика мутагенной активности воды оз. Неро в 2012 г.

	Частота ВМ, %		
	Станция №3	Станция №5	Станция №8
контроль	1,71±0,20		
июнь	2,00±0,55	3,06±1,22	2,76±0,42
июль	2,19±0,37	1,94±0,39	2,60±0,83
сентябрь	2,67±1,57	4,63±1,67	3,32±1,06

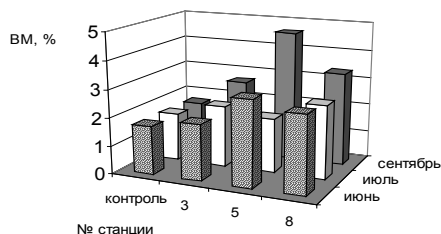


Рис. 2. Временная динамика мутагенной активности проб воды оз. Неро

В течение изученного сезона 2012 года МА воды на всех изученных станциях увеличивается к осени и достигает максимума в сентябре. Обычно для поверхностных водоемов пики МА регистрируются в весенний и осенний паводок. В нашем исследовании мы видим традиционный результат для водоемов Верхневолжского региона (Прохорова, Ковалева, 2005).

Максимальные колебания МА отмечаются на ст.5. Следовательно, в районе добычи сапропеля МА воды не зависит от сезона и связана с другими (не климатическими) факторами.

Проведенное исследование подтвердило полученные ранее данные о наличии генотоксической активности воды оз. Неро. Пробы воды содержат факторы, которые приводят к увеличению частоты индуцированных генных мутаций, а также снижают выживаемость клеток у одноклеточной водоросли *Chlorella vulgaris*. При этом следует отметить, что в 2012 году отмечено снижение МА по сравнению с 2008 годом.

Литература:

1. Бикбулатов Э. С., Бикбулатова Е. М., Литвинов А. С., Поддубный С. А. Гидрология и гидрохимия озера Неро. Рыбинск: Изд-во ОАО «Рыбинский Дом печати», 2003. 192 с.

2. Гунова В. С., Лефлат О. Н. Четвертичные отложения и палеогеография озера Неро // Экологические проблемы озера Неро и городских водных объектов. Ростов Великий, 2002. С. 17–30.

3. Дубинина Л. Г. Мутагенная активность природных отложений и искусственных водоемов Астраханской области // Генетика. 1996. Том 32. №4. С.584-589.

4. Журков В. С. Методология интегральной оценки мутагенных загрязнений водных объектов // Мутагены и канцерогены в окружающей среде. С.-Пб., 1998. С.126-130.

5. Прохорова И. М., Ковалева М.И. О сезонной изменчивости генотоксической активности волжской воды на территории Ярославской области / Актуальные проблемы экологии Ярославской области: Материалы третьей научно-практич. конференции. Вып.3, том 1. Ярославль: издание ВВО РЭА, 2005. С. 255-258.

6. Прохорова И. М., Ковалева М. И., Фомичева А. Н., Бабаназарова О. В. Пространственная и временная динамика мутагенной активности воды оз.Неро // Биология внутренних вод: прил. к журн. № 2. М. : Наука, 2008. – 59 с. 17-24.

7. Состояние экосистемы оз. Неро в начале XXI века (ред. В. И. Лазарева). М.: Наука, 2008. 406 с.

*Работа выполнена под руководством
к.б.н., доц. М.И.Ковалевой (ЯрГУ)*

**ЭМБРИОГЕНЕЗ
ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА
ЛЯГУШКИ ТРАВЯНОЙ
В НОРМЕ И ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

Уварова Ю. Е., Жукова М. И.

Ярославский государственный университет им. П. Г. Демидова

Лягушка травяная (*RANA TEMPORARIA*, ANURA, AMPHIBIA) объект который на протяжении многих лет используется в различных областях биологии. Прежде всего, это связано с относительной простотой содержания и неприхотливостью животных. Помимо этого Лягушка может быть прекрасным объектом дня наблюдения за формированием, развитием и закладкой различных систем, что связано с уникальным циклом развития земноводных. Преимущество исследования эмбрионального развития земноводных по сравнению с другими позвоночными (млекопитающими, птицами) в том, что есть возможность исследовать развитие не только путем изучения постоянных эмбриологических препаратов, но и непосредственно визуально оценивать особенности развития.

Развитие пояса и конечностей является важным показателем стадии формирования не только скелета, но и других внутренних органов. Задние конечности начинают прорываться на 39 стадии и формируются полностью к 52 стадии. Эти показатели, прежде всего, учитываются в определение общего развития головастика.

Цель: изучить анатомо-гистологическое строение опорно-двигательного аппарата личинки лягушки травяной.

Задачи:

- изучить особенности развития личинок по стадиям;
- определить по показательным признакам стадии развития головастиков;
- выявить возможные изменения в развитии личинок при наличии в водной среде кадмия и тиреоидного гормона

© Уварова Ю. Е., 2013

© Жукова М. И., 2013

в различных концентрациях и разном времени воздействия.

Экспериментальными загрязнителями в нашей работе стали кадмий и тиреоидные гормоны. Сведения о токсичности кадмия довольно противоречивы. Верно, то, что кадмий ядовит, бесспорно: спорят ученые о степени опасности кадмия.

Содержании кадмия в незагрязненной воде порядка 0.02 - 0.3 мкг/л.

Предельно безопасная доза составляет 6,7—8,3 мкг/к.

В нашем эксперименте использовалась концентрация 10 мкг/л, 100мкг/л и 500 мкг/л

Гормоны щитовидной железы необходимы для развития организма. При их отсутствии головастики, например, не может превратиться в лягушку. Тиреоидные гормоны — тироксин и трийодтиронин, гормоны, синтезируемые щитовидной железой.

Казалось бы: с чего бы гормону щитовидной железы оказываться в окружающей среде о оказывать влияние на развитие личинок лягушки?» Однако, во-первых, сами головастики в результате своего развития способны выделять у окружающую среду, таким образом, самостоятельно контролируя размер своей популяции. Во-вторых, сейчас становится все больше людей регулярно применяющих гормональные препараты этой группы, и как результат часть их вместе с продуктами метаболизма попадают в сточные воды, а от туда в водоемы.

В общебиологических и эмбриологических исследованиях показано, что тиреоидные гормоны способны регулировать не только развитие особей в популяции, но и регулировать численность животных, их размеры и др.

Нами был выбран препарат Эутирокс, так как он наиболее сходен по действию у холоднокровных с таковым у человека.

У особей выращенных в среде с добавлением кадмия по основным отличительным признакам (степень развития ротового аппарата, степень развития конечностей) наблюдается десинхронизация в 2-3 стадии. Так, например, брюшные присоски исчезающие в норме на 38-39. У исследуемых же экспериментальных образцов они сохранялись вплоть до 41 стадии когда начиналась закладка задних конечностей. Наиболее

сильно десинхронизация в развитии показательных признаков наблюдается на 44 стадии развития. Так, в ротовом аппарате (представленным на верхней губе 1 непрерывным и 2 прерывистыми рядами, на нижней - 4 непрерывных ряда) соответствующим стадиям с 44 по 49, задние конечности сформированы лишь до уровня 42 - 43 стадий. Зачаток конечности заметно укорочен и не сформирована «лопаточка» дающая начало закладки фаланг пальцев, костей плюсны и предплюсны.

Для задних конечностей например на 45 стадии наблюдается формирование молодого хряща во всех пяти пальцах. В среде с кадмием этого не происходит, хрящ по прежнему не оформлен, представляет собой слабо дифференцированную массу с неоформленной лапкой. Конечность значительно укорочена. Длина конечности в норме - 3,81 мм, в эксперименте - 1,45мм. Для 46 стадии в норме характерно оформление хрящевых зачатков костей голени и берцовой кости. У экспериментального образца к 46 стадии происходит ускоренное формирование зачатков пальцев, однако бедро сильно укорачивается, а голень вытягивается. Сама конечность по размерным показателем меньше нормы. Длина конечности в норме - 2,69 мм, в эксперименте - 2,08 мм.

Аналогичный эффект и для передних конечностей. На 45й стадии оформляются зачатки пальцев. Соотношение плеча и предплечья так же остаётся нарушенным по сравнению с нормой – плечевая часть почти вдвое меньше предплечья. Размеры головастиков в опыте с кадмием по сравнению с нормой отличаются не достоверно. Но в тоже время длина конечности различаются достоверно в эксперименте сна треть и вдвое, что свидетельствует о паталогических процессах происходящих в конечностях в период развития. По данным окрашивания конечностей нарушена закладка и оссификация костей. При помещении в парфин ведут себя плохо.

Рассмотрим действие териойдного гормона. Гормон как выяснилось оказывает различное влияние на морфогенез. Прежде всего это ускорение развития. Интересный эффект наблюдается при добавлении его в низких(6,3 мкг/л) концентрациях на в среду с головастиками разной стадии развития. Добавление ти-