

НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
КАФЕДРА ВЕТЕРИНАРНОЙ ГЕНЕТИКИ И БИОТЕХНОЛОГИИ

ОСНОВЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕНЕТИКИ

Методические указания к лабораторным занятиям

\

Новосибирск 2022

УДК 577.21+ 612.6.05 + 575.1

ББК 58

С28

Кафедра ветеринарной генетики и биотехнологии

Составитель: Себежко О.И., к.б.н., доц.

Рецензент: Тян Е.А., канд. биол. наук, доцент кафедры экологии НГАУ

Основы экологической генетики: метод. указания к лабораторным занятиям / сост. Себежко О.И.; Новосиб. гос.аграр. ун-т. Биолого-технолог. факультет.– Новосибирск, 2022 –110 с.

Методические указания предназначены для студентов Биологотехнологического факультета, обучающихся по направлению подготовки 06.03.01 «Биология».

Изложены основные разделы курса «Основы экологической генетики», которые студенты должны изучать на лабораторных занятиях. Приведены лабораторные работы, глоссарий, библиографический список.

Методические указания утверждены и рекомендованы к изданию учебнометодическим советом биолого-технологического факультета (протокол № 7 от 29.09 2022 г.).

ОСНОВЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕНЕТИКИ

Введение

Дисциплина “Основы экологической генетики” (Б1.В.ОД. 20) относится к обязательным дисциплинам вариативной части при подготовке студентов по специальности 06.03.01 «Биология», профиль «Экология и охотоведение».

Экологическая генетика - это область знаний, смежной между экологией и генетикой, исследующее взаимовлияние генетических процессов и экологических отношений.

В связи с бурным развитием научно-технического прогресса и промышленности, интенсивным сельским хозяйством, появлением новых лекарств, в последнее время в окружающую среду вводится всё больше самых разнообразных химических и физических агентов. Заметная часть из них продуцирует мутации и получила название мутагенов среды. Влияние на здоровье населения отрицательных мутаций в виде проявляющихся генных доминантных, рецессивных и кодоминантных изменений генотипа и их комплексов, а также структурных и численных мутаций хромосом, обозначается термином генетический груз.

Выделяют два основных направления экогенетических исследований, которые изучает данная область биологии:

1. Генетическую предопределенность экологических отношений.
2. Воздействие экологических факторов на генетические процессы (в первую очередь, мутагенез).

Антропогенные изменения окружающей среды, связанные с глобальным характером человеческой деятельности создают совершенно новые экологические условия для человека и природных сообществ. В связи с этим сложной задачей представляется научная оценка биологических и, прежде всего, генетических последствий изменения окружающей среды. Весьма важным является прогноз возможных генетических изменений, т.к. речь идет в конечном итоге о генетическом здоровье будущих поколений человека и о сохранении на планете всего разнообразия жизни. Такой прогноз возможен только на базе фундаментальных знаний в области общей генетики, теории мутагенеза, популяционной и экологической генетики.

Основная цель изучения «Основ экологической генетики» – приобретение студентами теоретических знаний и представлений о структуре и задачах экологической генетики как науки, изучающей взаимовлияние генетических процессов и экологических отношений. Будущим дипломированным специалистам необходимо показать возможности генетических методов в анализе устойчивости организмов к факторам окружающей среды, разработке эколого-генетических моделей и регулировании экологических отношений. Рассматривается фармакогенетика и генетическая токсикология как разделы экологической генетики. Кроме того, студенты должны ознакомиться с методиками определения

экогенетических отношений, необходимых для комплексной оценки последствий взаимодействия с экологическими факторами конкретных организмов.

При овладении дисциплины стоит ряд важных задач:

- изучение цитологических основ наследственности;
- изучение геномов различных видов сельскохозяйственных животных;
- изучение генетики иммунитета, главного комплекса гистосовместимости и иммунодефицитов;
- анализ влияния вредных веществ на наследственность;
- обеспечить понимание генетического и экологического подходов для естественно-научного объяснения биологических явлений и факторов;
- сформировать ответственное отношение к природе и готовность к активным действиям по ее охране на основе генетических и экологических знаний;
- обеспечить овладение современными методами экогенетических исследований живых организмов и применение их в теории и на практике;
- развить способности к творчеству, в том числе к научно-исследовательской работе, и выработать потребность к самостоятельному приобретению знаний.

Требования к уровню освоения содержания дисциплины

Знания по «Основам экологической генетики» главным образом базируются на знаниях генетики и экологии, а так же неорганической и аналитической химии, физики с основами биофизики, математики, органической и биологической химии, анатомии, цитологии, гистологии и эмбриологии, физиологии и этологии, зоологии и экологии животных.

После изучения курса “Основы экологической генетики” *студент должен знать:*

- Структуру и задачи экологической генетики;
- Типы экологических отношений;
- Эколого-генетические модели;
- Генетику устойчивости к факторам среды;
- Генетическую токсикологию;
- Факторы мутагенеза и их классификацию;
- Назначение мониторинга природной среды.

Должен иметь представление:

- об эколого-генетических моделях
- о популяции как элементарной единице эволюции.
- о генетических основах стабильности популяций
- о математической оценке состояния генофонда популяции (закон Харди - Вайнберга)
 - о генетике онтогенеза
 - о генетических основах иммунитета

- о биологическом многообразии как ведущем факторе устойчивости живых систем и биосферы в целом -фармакогенетике
- о мутационной изменчивости
- о мутагенных эффектах абиотических, биотических и антропогенных факторов среды
- о тест-системах, использующихся для оценки мутагенеза
- о репарации как биологическом феномене
- о методах молекулярно-генетических методах исследования

Студент должен владеть:

- основами теории современной экологической генетики;
- основами понятийно-терминологического аппарата;
- методами биометрической обработки и анализа данных экспериментальных исследований
- дигибридологического, цитогенетического, биохимического и генеалогического анализов *уметь:*
- использовать эколого-генетические модели.
- работать с литературой,
 - анализировать и оценивать состояние здоровья населения, влияние на него факторов окружающей и производственной среды.
- определить достоверность происхождения животных с использованием групп крови и биохимических полиморфных систем, -проводить эколого-генетическое консультирование.

ЛАБАРАТОРНЫЕ ЗАНЯТИЯ

Раздел 1 Предмет, методы и значение экологической генетики

Тема 1.1 Предмет экологической генетики

Лабораторное занятие не предусмотрено

Содержание темы:

В настоящее время экологическая генетика сформировалась как синтетическое научное направление, вобравшее в себя закономерности и постулаты двух базовых фундаментальных дисциплин – экологии и генетики.

Экологическая генетика - это отрасль знания, исследующая взаимодействие генетических процессов и экологических отношений. Она изучает влияние различных экологических факторов на наследственность животных, устойчивость к заболеваниям, сопряженную эволюцию микро- и макроорганизмов, генетическую обусловленность накопления или выведения из организма вредных веществ, генетически детерминированные реакции животных на лекарственные препараты.

Будучи частью генетики, эта наука использует мощную методологию генетического анализа и включает все разнообразие методов экологии.

Выделяют два основных направления экогенетических исследований:

- Генетическая предопределенность экологических отношений.
- Воздействие экологических факторов на генетические процессы (в первую очередь, мутагенез).

Проблемы оценки генетического риска, обусловленного факторами окружающей среды, – важнейшая задача экогенетики. Эти исследования сфокусированы на следующих вопросах:

1. каким образом данный фактор действует на генетический материал;
2. насколько широко подвергается популяция воздействию этого фактора;
3. каково вероятное увеличение частоты мутаций по сравнению с частотой спонтанных мутаций;
4. каковы долговременные последствия увеличения частоты мутаций для популяции.

Генетическая (прежде всего, мутагенная) активность факторов среды обитания может быть исследована на основе разнообразных критериев у широкого круга объектов: генные мутации у бактерий, дрожжей и водорослей; хромосомные aberrации и летальные мутации у животных и растений; активация промутагенов метаболической системой у различных объектов и т.д. Таким образом раскрывается содержание генетической токсикологии.

Генетический контроль самих экологических отношений исследуют у объектов, с генетически детерминированными различиями в чувствительности к экологическим факторам – физическим и химическим воздействиям, в том числе и антропогенного происхождения, а также к

факторам профессионального риска у человека. Выявление простых признаков (в частности, признаков метаболизма), объединяющих различные организмы в общую экологическую систему, предоставляет возможности для изучения генетического контроля этих отношений на элементарных экологогенетических моделях. Все эти подходы позволяют приблизиться к рассмотрению экологических отношений как фактора эволюции. Одна из задач экологической генетики в животноводстве – селекция животных на устойчивость к вредным физическим, химическим и биологическим факторам.

Исследованиями установлено негативное влияние радиации и химических загрязняющих веществ на хромосомную нестабильность, иммунный ответ к некоторым антигенам, гормональный статус и накопление химических элементов в тканях крупного рогатого скота. Проводится цитогенетический, иммуногенетический, иммунологический, гематологический, химический и биохимический мониторинг популяций сельскохозяйственных животных в относительно экологически чистых и загрязненных районах Западной Сибири.

Неблагоприятная экологическая среда, характеризующаяся возрастанием уровня ионизирующей радиации, интенсивным ультрафиолетовым излучением и особенно действием токсических химических соединений, которыми сейчас в ряде регионов перенасыщены воздух, вода, почва и растения, повышенная контактность животных с ретровирусами приводят к снижению уровня иммунитета и увеличению нестабильности генетического аппарата животных. Это может проявляться в форме образования мобильных генетических элементов, способных к трансформации в вирусы иммунодефицита – СПИДа у человека и аналогичные им у животных.

Ученые подчеркивают, что проблема СПИДа (и родственных ему заболеваний, вызываемых ретровирусами – автономными генами, которые во многом сходны с вирусом иммунодефицита у человека) – это совершенно новая биологическая ситуация, с которой начинается широкое распространение приобретенной генетической патологии. При этом резкое ухудшение экологической ситуации можно считать ведущей причиной того, что именно во второй половине XX в. стали выходить из-под контроля процессы образования подвижных генов.

Таким образом, можно выделить такие подразделы экологической генетики, как:

- 1) разработка элементарных эколого-генетических моделей;
- 2) исследование биологических факторов изменчивости;
- 3) изучение устойчивости организмов к абиотическим факторам окружающей среды;
- 4) генетическая токсикология, нацеленная на выявление генетически активных факторов среды и предотвраще-

ние их влияния, прежде всего на усугубление генетического груза.

Дальнейшее развитие экологической генетики, несомненно, связано с расшифровкой механизмов модификационной изменчивости, на базе которых происходит взаимодействие организмов в конкретных экосистемах. Современное сельское хозяйство и медицина в основном используют именно модификационную изменчивость сельскохозяйственных животных и растений, равно как и людей – пациентов в аспекте их реакции на внешние воздействия: питание, медикаменты, удобрения, пестициды.

Тема 1.2 Методы эколого-генетического мониторинга

Лабораторная работа № 1 "Выделение и анализ ДНК"

Цель работы: знакомство с методами выделения ДНК, получение экспериментальных навыков для конструирования и анализа рекомбинантных ДНК.

Задачи:

знакомство с лабораторией молекулярной генетики и биотехнологии; основные правила работы в лаборатории, техника безопасности; выделение ДНК из цельной крови крупного рогатого скота.

Внимание!

Инструктаж по технике безопасности работы в лаборатории молекулярной генетики и биотехнологии. Студенты без халатов не допускаются до лабораторных занятий!

Работы с генетическим материалом и при постановке ПЦР требуют специальных условий:

1. Все работы проводятся в перчатках, спецодежде (лабораторные халаты).
2. В лаборатории нельзя есть, пить, курить, разговаривать над открытыми пробирками.
3. До и после проведения работ необходимо тщательно вымыть руки.
4. Обо всех нестандартных ситуациях необходимо немедленно уведомить преподавателя.

Оборудование и материалы и реактивы

1. Центрифуга со скоростью вращения ротора 14000 об/мин "Eppendorf" с ротором для микропробирок 1,5 - 2,0 мл;

2. Термостат твердотельный, поддерживающий температуру 65°C;
3. Микроцентрифуга-вортекс фирмы "DioSan";
4. Система видеодокументирования гелей;
5. Мерные стаканы и колбы, одноразовые пластиковые пробирки;
6. Пробирки пластиковые объёмом 1,5 мл;
7. Пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объёмом 0,5-20 мкл, 20-200 мкл, 200-1000 мкл;
8. Наконечники одноразовые вместимостью 1-20 мкл; 1-200 мкл; 100-1000 мкл;
9. Наконечники одноразовые с аэрозольным барьером для автоматических пипеток объёмом 1-20 мкл;
10. Штативы для микропробирок на 0.2 мл
11. Штативы для микропробирок на 0.6 мл
12. Штативы для микропробирок на 1.5 мл
13. Перчатки одноразовые перчатки резиновые;
14. Холодильник с отделениями на 2-8°C и на (-18)-(-20)°C. ГОСТ 26678;
15. Весы лабораторные общего назначения 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 2000 г. ГОСТ 24104;
16. Пинцеты медицинские ГОСТ 21241-89;
17. Ножницы медицинские;
18. Скальпели хирургические ГОСТ 21240;
19. Ступки фарфоровые с пестиком.
20. Набор для выделения ДНК из цельной крови, x100 фирмы "Медиген";

Правила работы с тест-системами и оборудованием

1. Все компоненты наборов реагентов в используемых концентрациях являются нетоксичными.
2. Работать с наборами следует в одноразовых резиновых перчатках без талька.
3. При работе с наборами следует использовать только новые наконечники и пробирки.
4. Не допускается использование одних и тех же наконечников при обработке различных образцов биологического материала.
5. Все лабораторное оборудование, в том числе пипетки, штативы, лабораторная посуда, халаты, головные уборы и пр., а также растворы реагентов должны быть строго стационарными. Запрещается их перемещение из одного помещения в другое.
6. Выделение ДНК следует проводить в ПЦР-боксах или ламинарных шкафах с выключенным ламинарным потоком.

7. Химическая посуда и оборудование, которые используются при работе с набором, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно.

8. Поверхности рабочих столов, а также помещений, в которых проводится выделение, следует обрабатывать бактерицидными облучателями до и после проведения работ.

Ход работы:

1. Выделяем ДНК из цельной крови строго следуя инструкции прилагаемой к набору фирмы "Медиген".

2. Маркируем пробирки.

3. Хранение в морозильной камере до следующей лабораторной работы.

Вопросы

1. Основные положения, лежащие в основе молекулярно-генетических методов?
2. Каковы принцип выделения ДНК и РНК?
3. Основные методы выделения нуклеиновых кислот?

Лабораторная работа № 2" Анализ полученных препаратов ДНК с помощью электрофореза в агарозном геле

Цель работы: знакомство с методами рестрикционного анализа ДНК, получение экспериментальных навыков для конструирования и анализа рекомбинантных ДНК.

Задачи: оценка качества полученного препарата с помощью электрофореза в геле агарозы.

Для оценки количества и качества ДНК, а также размеров молекул ДНК используют электрофорез в гелях агарозы (горизонтальный) или полиакриламидных гелях (вертикальный электрофорез). Молекулы ДНК визуализируются интеркалирующими флуоресцентными красителями, например, бромистым этидием. Двухцепочечная ДНК эффективно связывает бромистый этидий и начинает ярко флуоресцировать при облучении ультрафиолетом (УФ). Результаты электрофореза документируют в проходящем УФ-свете с помощью цифровой фотокамеры или специальной системы для документирования гелей.

Оборудование и материалы и реактивы

1. Центрифуга со скоростью вращения ротора 14000 об/мин "Eppendorf" с ротором для микропробирок 1,5 - 2,0 мл;
2. Термостат твердотельный, поддерживающий температуру 65°C;
3. Микроцентрифуга-вортекс фирмы "DioSan";
4. Система видеодокументирования гелей;
5. Оборудование для горизонтального ДНК гель-электрофореза;
6. Источник постоянного тока;
7. Камера с заливочным столиком;
8. Мерные стаканы и колбы, одноразовые пластиковые пробирки;
9. Пробирки пластиковые объемом 1,5 мл;
10. Пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объемом 0,5-20 мкл, 20-200 мкл, 200-1000 мкл;
11. Наконечники одноразовые вместимостью 1-20 мкл; 1-200 мкл; 100-1000 мкл;
12. Наконечники одноразовые с аэрозольным барьером для автоматических пипеток объемом 1-20 мкл;
13. Штативы для микропробирок на 0.2 мл
14. Штативы для микропробирок на 0.6 мл
15. Штативы для микропробирок на 1.5 мл
16. Перчатки одноразовые перчатки резиновые;
17. Холодильник с отделениями на 2-8°C и на (-18)-(-20)°C. ГОСТ 26678; 18. Весы лабораторные общего назначения 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 2000 г. ГОСТ 24104;
19. Пинцеты медицинские ГОСТ 21241-89;
20. Ножницы медицинские;
21. Скальпели хирургические ГОСТ 21240;
22. Ступки фарфоровые с пестиком.
23. Буферы и реактивы для проведения агарозного электрофореза: ТВЕбуфер, агароза.

Ход работы:

1. Приготовить буфер ТАЕ (40 мМ Трис-ацетат, 2 мМ ЭДТА, рН 8,0) для электрофореза разведением стокового раствора ТАЕх50.
2. Приготовить 1 % гель агарозы на ТАЕ-буфере путем расплавления навески агарозы в микроволновой печи. После остывания до умеренно горячего состояния добавить бромистый этидий до 0,25 мкг/мл и залить гель в форму.
3. Нанести 1 и 2 мкл полученного препарата рядом с 1 мкл маркерной ДНК в лунки приготовленного 1 % геля агарозы. Образцы перед нанесением

- смешивают с 1 мкл буфера для нанесения и электрофорезным буфером так, чтобы наносимый объем составил 10–15 мкл, для равномерного распределения ДНК по толщине геля.
4. Провести электрофорез в течение 30 мин при напряжении 100 В.
 5. С помощью системы видеодокументации получить фотографию геля в проходящем УФ-свете при длине волны 260 нм.
 6. Идентифицировать полосы ДНК в препарате. Оценить суммарное количество ДНК во внесенной в гель пробе путем сопоставления интенсивности свечения полос полученного препарата с интенсивностью свечения стандартной ДНК. После этого пересчитать количество полученной ДНК на общий объем препарата.
 7. Записать вывод о качестве и количестве полученного препарата ДНК.

Вопросы

1. На чем основано разделение макромолекул ДНК при агарозном гель-электрофорезе?
2. Как можно определить размер молекул ДНК?
3. С какой целью используют маркерную ДНК?
4. Виды электрофореза?
5. Ошибки при проведении электрофореза.

Лабораторная работа № 3 "Рестрикционный анализ полученного препарата ДНК" (2 ч)

Цель работы: знакомство с методами рестрикционного анализа ДНК, получение экспериментальных навыков для конструирования и анализа рекомбинантных ДНК.

Задачи: рестрикционный анализ выделенной ранее ДНК, определение размеров рестрикционных фрагментов ДНК.

Рестриктазы, или, более корректно, рестрикционные эндонуклеазы, являются важнейшими инструментами создания рекомбинантных ДНК и физического картирования ДНК-молекул. Рестриктазы расщепляют двухцепочечную ДНК внутри молекулы. При этом каждая рестриктаза узнаёт определённый участок ДНК длиной от четырёх пар нуклеотидов (сайт узнавания) и расщепляет нуклеотидную цепь внутри участка узнавания или вне его (сайт расщепления).

Наиболее широкое применение в генной инженерии нашли высокоспецифичные рестриктазы, узнающие палиндромные последовательности ДНК и расщепляющие ДНК-молекулу внутри сайта

узнавания. При этом могут образовываться концы цепей трех структурных типов. Если разрыв происходит посередине сайта рестрикции, то образуются фрагменты с полностью спаренными ("тупыми") концами. Когда расщепление ДНК происходит в стороне от середины сайта, образуются выступающие одонитевые концы, получившие название "липких", т. е. способных "слипаться" с комплементарным концом, образующимся в противоположной цепи в результате ее разрыва. Число нуклеотидов в одонитевом концевом участке может варьировать от одного до пяти. Молекулы ДНК из разных источников, обработанные одной и той же высокоспецифичной рестриктазой, расщепляющей палиндромные последовательности, будут иметь одинаковые гибридизующиеся между собой липкие концы. Наличие таких липких концов у фрагментов ДНК существенно облегчает их ковалентное сшивание специальным ферментом ДНК-лигазой (лигирование) в рекомбинантную молекулу.

Поскольку рестриктазы узнают специфические последовательности в молекуле ДНК, становится возможным физически определить месторасположение таких последовательностей, обрабатывая ДНК соответствующими рестриктазами. Физическую карту молекулы ДНК по рестрикционным сайтам можно составить, анализируя длины фрагментов ДНК после расщепления различными рестриктазами.

Оборудование и материалы и реактивы

1. Центрифуга со скоростью вращения ротора 14000 об/мин "Eppendorf" с ротором для микропробирок 1,5 - 2,0 мл;
2. Термостат твердотельный, поддерживающий температуру 65°C;
3. Микроцентрифуга-вортекс фирмы "DioSan";
4. Система видеодокументирования гелей;
5. Оборудование для горизонтального ДНК гель-электрофореза;
6. Источник постоянного тока;
7. Камера с заливочным столиком;
8. Мерные стаканы и колбы, одноразовые пластиковые пробирки;
9. Пробирки пластиковые объемом 1,5 мл;
10. Пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объемом 0,5-20 мкл, 20-200 мкл, 200-1000 мкл;
11. Наконечники одноразовые вместимостью 1-20 мкл; 1-200 мкл; 100-1000 мкл;
12. Наконечники одноразовые с аэрозольным барьером для автоматических пипеток объемом 1-20 мкл;
13. Штативы для микропробирок на 0.2 мл
14. Штативы для микропробирок на 0.6 мл
15. Штативы для микропробирок на 1.5 мл
16. Перчатки одноразовые перчатки резиновые;

17. Холодильник с отделениями на 2-8°C и на (-18)-(-20)°C. ГОСТ 26678; 18. Весы лабораторные общего назначения 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 2000 г. ГОСТ 24104;
19. Пинцеты медицинские ГОСТ 21241-89;
20. Ножницы медицинские;
21. Скальпели хирургические ГОСТ 21240;
22. Ступки фарфоровые с пестиком.
23. Рестриктазы ("Медиген")
24. Буферы и реагенты для проведения агарозного электрофореза: TBE-буфер, агароза.

Ход работы:

1. Выбрать рестриктазы для проведения расщепления полученного препарата ДНК в двух вариантах реакции гидролиза двумя рестриктазами одновременно.
2. Для каждого из вариантов из каталога фирмы-поставщика (Сибэнзим, Медиген) выбрать состав реакционной смеси, в которой одновременно активны обе из используемых рестриктаз.
3. По данным определения содержания ДНК в полученном препарате выбрать объемы пробы для рестрикционного анализа. Определить необходимое количество единиц активности рестриктазы для полного гидролиза полученного препарата за 30 мин и в соответствии с этим добавляемый объем фермента. Записать состав реакционной смеси.
4. Собрать реакции в двух вариантах и инкубировать 30 мин при оптимальной температуре расщепления для конкретных ферментов. В качестве отрицательного контроля ставится проба ДНК без добавления ферментов – всего 3 микропробирки.
5. Провести электрофорез гидролизованных образцов в 1 % геле агарозы вместе с маркерными ДНК.
6. Оценить полноту расщепления пробы и размер полученных рестрикционных фрагментов. Сопоставить полученный размер с ожидаемым. Записать выводы.

Вопросы

1. Каково происхождение рестрикционных эндонуклеаз (рестриктаз)?
2. Каково значение открытия рестриктаз для развития методов клонирования и физического картирования ДНК?
3. Почему рестриктазы I и III типа практически не используются в генной инженерии?
4. Физическое картирование.
5. Сколько всего известно рестриктаз и сколько используется в генной инженерии?

Раздел 2 Проблемы экологической генетики

Тема 2.1 Мутации и мутагенез

Лабораторная работа № 4 "Анализ препаратов с СХО"

Основные теоретические положения

Сестринские хроматидные обмены (sister chromatid exchanges, SCE) – процесс обмена участками между сестринскими хроматидами. В норме СХО происходят достаточно часто (3-8 в разных случаях в расчете на 1 клетку у человека), однако их частота может существенно увеличиваться при действии некоторых мутагенов.

Генотоксическое действие химических веществ *in vivo* часто сопровождается дестабилизацией генома и его перестройками. Если контакт с мутагенами приводит к образованию разрывов ДНК, в процессе их репарации наблюдают обмены гомологичными участками сестринских хроматид в интерфазных ядрах, частота которых является мерой мутагенного воздействия на клетки.

Именно первичные повреждения ДНК являются причиной, запускающей цепь биохимических реакций, приводящих к индуцированному сестринскому хроматидному обмену. Образование сестринских хроматидных обменов происходит в S-фазе клеточного цикла, и для этого необходимы разрывы в родительских нитях ДНК.

Разработаны методы, позволяющие обнаруживать СХО в соматических клетках животных и растений. Анализ частоты сестринских хроматидных обменов в лимфоцитах крови дает возможность установить наличие генетической активности при воздействии на организм того или иного химического агента. Метод является высокочувствительным для всех химических мутагенов и позволяет выявлять их действие в очень малых дозах, а число индуцированных СХО растет линейно с увеличением концентрации химического вещества независимо от типа мутагена в лимфоцитах человека и животных.

Этот метод в 1972 г. предложили А. Ф. Захаров и Н. А. Еголина. Сущность его состоит в том, что в культивируемые *in vitro* лимфоциты, стимулированные для прохождения митозов фитогемагглютинином, вводят аналог тимидина 5-бромдезоксимуридин (БДУ). В зависимости от времени его добавки в среду (первый или второй клеточный цикл) он включается в одну или обе сестринские хроматиды. Флуоресцентный краситель по-разному взаимодействует с такими гомологичными хроматидами, что выявляется с помощью микроскопа по интенсивности окраски - одна из гомологичных хроматид выглядит светлее другой. При использовании красителя Гимзы под микроскопом можно видеть хромосомы с одной окрашенной (БДУ включился) и с другой неокрашенной хроматидами. В отдельных хромосомах наблюдают дифференциальную окраску хроматид - чередование темных и светлых участков. Это значит, что произошли изменения, т. е. обмены между сестринскими хроматидами. Высокая частота СХО свидетельствует о мутагенном действии изучаемого вещества, с которым контактировали клетки крови (рис. 1.34).

В то же время анализ данных литературы показывает, что не только химические вещества, но и воздействие α -частиц в малых дозах может повышать частоту СХО в клетках. Так, показано существенное увеличение СХО при облучении альфа-частицами в дозе от 0,4 до 0,8 сГр культуры нормальных человеческих диплоидных фибробластов легкого (Deshpande et al., 1996).

В исследованиях М.В. Белкина (2007) проведён анализ сестринских хроматидных обменов в клетках человека при контакте с плутонием-239. Среднее число СХО на клетку в лимфоцитах периферической крови у работников ядерно-химического производства составляет $6,03 \pm 0,63$, а у



Рис. 1.34. Сестринские хроматидные обмены в митотических митохондриях ячменя населения, проживающего в 10-километровой зоне от производства – $5,26 \pm 0,44$. Плутоний-239 в дозах от 10 до 37 нКи достоверно увеличивает частоту СХО на клетку в лимфоцитах лиц, контактирующих в ходе своей производственной деятельности с плутонием-239 ($P < 0,01$) по сравнению с контрольной выборкой.

Этот метод дополняется анализом частоты разрывов хромосом, других аббераций. Полученных от тех же животных, но лучше при сплошной окраске.

А. И. Жигачёв (2000) изучил частоту СХО у крупного рогатого скота в 5 хозяйствах Ленинградской области (табл.1.1).

Таблица 1.1

Частота СХО у крупного рогатого скота их разных экологических зон разведения (Жигачёв, 2000)

Хозяйство	Порода	Половозрелая группа	Количество животных	Среднее число СХО на клетку
Пушкинское предприятие		Быки	22	$8,410 \pm 0,42$
Сосновское племпредприятие	Чёрнопёстрая	Быки	22	$8,850 \pm 0,89$
Волховское племпредприятие	Айршир-ская	Быки	20	$5,080 \pm 0,43$
Совхоз «Красная Балтика» Ломоносовского района	Чёрнопёстрая	Коровы	20	$10,00 \pm 0,89$
Совхоз «Осничевский»	Айршир-ская	Коровы	38	$18,60 \pm 0,91$

Установлено значительное повышение частоты СХО у коров из совхоза «Осничевский» в равнении с популяциями скота из других относительно экологически благополучных зон разведения. Хозяйство «Осничевское»

находилось в 1,5 км от Киршевского нефтеперегонного завода. Рядом расположены комбинат по производству белково-витаминного концентрата и ГРЭС. Роза ветров была направлена в сторону этого хозяйства. Приведённые данные убедительно показывают влияние антропогенных факторов на частоту СХО в популяции скота, находящейся в зоне воздействия поллютантов.

По данным А.И. Жигачёва (2000), наблюдалось увеличение частоты СХО у коров, больных лимфосаркомой ($9,360 \pm 0,349$) в сравнении со здоровыми животными ($3,59 \pm 0,328$).

Таким образом, частота СХО может быть одним из маркёров неблагоприятного воздействия физических и биологических факторов на живые организмы.

Недавно был описан новый кластер генов *Zscan4* (Falco et al., 2007), локализующийся в теломерных участках хромосом. *Zscan4* ингибирует спонтанный обмен сестринскими хроматидами (рис. 1.35). Экспрессия этих генов необходима для поддержания целостности кариотипа, ассоциированной с регулируемой рекомбинацией теломер в нормальных недифференцированных эмбриональных стволовых клетках (ЭСК). Исследователи отмечают, что, по всей видимости, нарушения кариотипа в ЭСК с подавленной экспрессией

Zscan4 ассоциированы с укорочением теломер и одновременным увеличением спонтанного СХО, не связанного с теломерами. *Zscan4* действует как активатор спонтанного теломерного обмена сестринскими хроматидами (Т-СХО), что ведет к удлинению теломер у недифференцированных ЭСК. Таким образом, описана новая модель регуляции длины теломер у мышинных ЭСК с участием *Zscan4*, отличающаяся от ранее описанных механизмов. Основными характеристиками представленной новой модели являются:

- 1) *Zscan4*⁺ клетки претерпевают быстрое удлинение теломер за счет рекомбинации теломер или Т-СХО. Основной функцией белка *Zscan4* является индукция экспрессии медиаторов мейотической гомологичной рекомбинации с образованием конфигурационного взаимодействия этих молекул с участками теломер;
- 2) в недифференцированных ЭСК, экспрессирующих *Zscan4*, активна

теломеразы. В клетках, где обычно происходит Т-СХО (ЭСК, выживающие после нокаута теломеразы

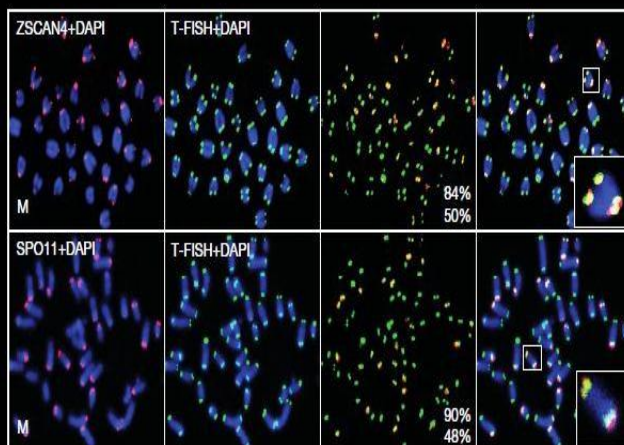


Рис.1.35.
Конфокальная
микроскопия ЭС

клеток на стадии

митоза :а) белок

Zscan4 (красный, иммуноокрашивание) локализован на концах хромосом (синие, окраска DAPI) и ассоциирован с теломерами (зеленые,

T-FISH с использованием пробы

ДНК, конъюгированной

с Alexa488);б) маркер гомологичной рекомбинации *SPO11* (красный, иммуноокрашивание) локализуется на теломерах через 3 суток после индукции *Zscan4с*.

Terc ^{-/-}, опухолевые клетки с невозстановленной или недостаточной активностью теломеразы) такая картина не наблюдается. *Zscan4*-опосредованное удлинение теломер не требует теломеразы;

3) большинство генов-регуляторов длины теломер (ген ДНК метилтрансферазы *DNMT1* и *DNMT3*, ген синдрома Вернера *WRN*), являются ингибиторами Т-СХО. Подавление экспрессии этих генов ведет к увеличению частоты Т-СХО или/и длины теломер. Исключение составляет ген *Rtll*. В ЭСК *Rtll*^{-/-} происходит укорочение теломер после индукции дифференцировки. *Zscan4* демонстрирует схожий фенотип на недифференцированных ЭСК;

4) в противоположность обычному Т-СХО, который происходит в результате общей хромосомной нестабильности и сопровождается увеличенной частотой СХО нетеломерных последовательностей, *Zscan4*опосредованный Т-ОСХ не ассоциирован с увеличением общего СХО, и нормальный кариотип остается стабильным на фоне низкого уровня спонтанного СХО.

Цель лабораторной работы: знакомство с методами оценки мутагенной активности на основы изучения препаратов с СХО.

Задачи:

знакомство с лабораторией молекулярной генетики и биотехнологии; основные правила работы в лаборатории, техника безопасности; выделение ДНК из цельной крови крупного рогатого скота.

Задача лабораторной работы

познакомиться с методическими особенностями выявления сестринских хроматидных обменов.

МЕТОДИКА СХО - ОКРАШИВАНИЯ

Для регистрации СХО в подготовленные клеточные культуры на 24 часа роста вводят 5-БДУ в конечной концентрации 10 мкг/мл. С этого момента флаконы должны быть защищены от света (для предотвращения фотолиза

БДУ-замещённой ДНК), поэтому их обворачивают тёмной бумагой. Фиксацию проводят через 72 часа культивирования. Посткультуральная обработка – по стандартному протоколу (колхицин-гипотоническая обработка – фиксация).

Подготовленные препараты в течение 3-х суток «состаривают» в термостате при 37⁰С в темноте. Далее окрашивают по следующему протоколу:

1. Готовят раствор флюорохрома – Хехст 33258.

Маточный раствор: 100мкг/мл в дистиллированной воде хранится при 4⁰С до 6 месяцев.

Рабочий раствор: 1 мл маточного раствора+9 мл фосфатного буфера Серенсена

Буфер Серенсена:

Na₂PO₄ 2г 485 мг на 250 мл

H₂OK₂PO₄ 2г 380 мг на 250 мл H₂O₂.

Окрашивают раствором Хехста в темноте в течение 10 мин. Затем промывают дистиллированной водой и сушат.

3. Готовят цитратный буфер Мак-Ильвена (перед каждым окрашиванием готовят свежий):

а) 0,2М Na₂PO₄ (2,82 г –100мл H₂O);

б) 0,1 М лимонная кислота (2,1 г –100мл H₂O) смешать 19, 45 мл (а) и 0,55 мл (б).

4. На препараты капают 3 капли цитратного буфера, закрывают покровными стеклами, ставят на светлое основание и облучают УФ-лампой мощностью 250 Вт с расстояния 12 см от поверхности препарата до края колпака лампы в течение 15 мин.

5. После облучения препаратам дают остыть и погружают в стакан с дист. водой. Легким покачиванием способствуют смыванию покровных стекол.

Высушивают препараты.

6. Препараты окрашивают 1%-ным раствором Гимза. Промывают проточной водой. Высушивают и анализируют.

Оборудование и материалы и реактивы

1. Готовые препараты метафазных пластинок крупного рогатого скота с сестринскими хромосомными обменами
2. Световой микроскоп
3. Иммерсионное масло

Ход работы:

1. Законспектировать теоретический раздел методики окрашивания препаратов
2. Подготовить микроскоп к работе.

3. Оценить качество окраски. Проанализировать 30 митозов.

Тема 2.2 Антимутагенез

Лабораторная работа № 5 "Определение количества антиоксидантов"

Определение содержания аскорбиновой кислоты в молоке (стандартный упрощенный метод)

Оборудование:

1. Штатив с пробирками;
2. Микробюретка;
3. Колбы или стаканы на 50 мл;
4. Пипетки на 2, 5, и 10 мл;
5. Воронки стеклянные;
6. Фильтры бумажные диаметром 11 см. **Реактивы:**
 1. 2%-й раствор соляной кислоты;
 2. 0,001н раствор 2,6-дихлорфенолиндофенола.

Ход работы

Разводят 5 мл молока в 15 мл воды в колбе. К 5 мл полученного раствора прибавляют 1 мл 2%-й соляной кислоты и доводят водой до объема 15 мл. Осторожно взбалтывая содержимое колбы, титруют из микробюретки 0,001н раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до появления слабо-розового окрашивания, сохраняющегося 0,5-1 мин.

Содержание аскорбиновой кислоты (С) вычисляют по следующей формуле:

$$C = A \cdot K \cdot 5,28,$$

где С – содержание аскорбиновой кислоты, мг%;

А- количество рабочего раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола, затраченное на титрование, мл;

К – поправка к титру индикатора; 5,28

– постоянный коэффициент.

В среднем концентрация витамина С в сыром молоке составляет 0,3-2 мг%, однако при хранении и последующей переработке продукта уровень аскорбиновой кислоты резко снижается. Для повышения ее содержания молоко витаминизируют, но если происходит его хранение в открытой упаковке, то витамин быстро окисляется кислородом воздуха. Чтобы замедлить процесс окисления аскорбиновой кислоты, в молоко вводят антиоксиданты, одним из которых является биофлавоноид «Аква-прополис» (ГОСТ 28886-90) в концентрации 0,0008-0,004 об.%. Обычно «Аквапрополис» вносится после тепловой обработки молока в дозе 0,004 об.%, что способствует замедлению снижения витамина С в готовом продукте почти в

2 раза.

Интерес к использованию биофлавоноидов в последнее время объясняется прежде всего широким спектром их биологической активности: Рвитаминная активность, антимикробное и антиоксидантные действия.

Раздел 3 Эколого-генетические модели

Тема 3.1 Типы экологических отношений.

Лабораторная работа не предусмотрена

Основные теоретические положения:

Отношения популяций, живущих на одной территории и контактирующих между собой можно обозначить условными знаками "минус" -, что означает неблагоприятное влияние (вид испытывает угнетение или вред), "плюс" + обозначает благоприятное влияние (вид извлекает пользу), "ноль" 0 показывает, что отношения безразличны (отсутствие влияния).

Так все биотические связи можно разделить на 6 групп и рассмотреть их основные черты.

Если две популяции не влияют друг на друга, то имеет место *нейтрализм* (00). В природе истинный нейтрализм очень редок, поскольку между всеми видами возможны опосредованные, или косвенные, взаимодействия, эффекта которых мы не видим просто в силу неполноты наших знаний. Пример: гриб, лягушка, трава.

Для одного из совместно обитающих видов влияние другого отрицательно (он испытывает угнетение), в то время как угнетающий не получает ни вреда, ни пользы - это *аменсализм* (- 0). Пример аменсализма -

светолюбивые травы, растущие под елью, страдают от сильного затемнения, тогда как самому дереву это безразлично.

Форма взаимоотношений, при которой один вид получает какое-либо преимущество, выгоду, не принося другому ни вреда, ни пользы, называется *комменсализмом* (+ 0). Отношения такого типа широко распространены в природе. Например, крупные млекопитающие (собаки, олени) служат разносчиками плодов и семян с зацепками (вроде репейника), не получая от этого ни вреда, ни пользы.

Комменсализм - одностороннее использование одного вида другим без нанесения ему ущерба. Связи комменсалов могут быть условно разделены на несколько вариантов комменсализма.

Нахлебничество - потребление остатков пищи хозяина. Таковы взаимоотношения львов и гиен, подбирающих остатки недоеденной пищи, или акул с рыбами-прилипалами.

Сотрапезничество - потребление разных веществ или частей их одного и того же ресурса. Таковы взаимодействия между различными видами почвенных бактерий-сапрофитов, перерабатывающих разные органические вещества из перегнивших растительных остатков, и высшими растениями, которые потребляют образовавшиеся при этом соли.

Квартиранство - использование одними видами других (их тел или жилищ) в качестве убежища или жилища. Такой тип взаимоотношений широко распространен у растений - примером могут служить лианы и эпифиты (орхидеи, лишайники, мхи), поселяющиеся непосредственно на стволах и ветвях деревьев. В гнездах и норах грызунов обитает множество видов членистоногих, некоторые рыбы прячутся под зонтиками медуз со стрекательными нитями. Рыба горчак откладывает икру в убежище - мантию двустворчатого моллюска, не принося ему вреда.

В природе часто встречаются взаимовыгодные связи видов, при которых организмы и популяции получают обоюдную пользу от этих отношений. К этой группе взаимопользных биотических связей относятся многообразные *симбиотические* отношения организмов. Обязательное условие подобных отношений - *совместная жизнь*, определенная степень сожительства организмов.

Самый простой тип симбиотических связей - *протокооперация* (буквально: первичное сотрудничество)(++). При этой форме совместное существование выгодно для обоих видов, но не обязательно для них, т.е. не является непременным условием выживания популяций. Примером таких отношений можно назвать распространение муравьями семян некоторых растений леса, опыление пчелами разных луговых растений - в этих случаях отсутствует необходимая тесная связь конкретной пары партнеров.

Симбиотические отношения, при которых присутствие каждого из двух видов становится обязательным для другого партнера, называется *мутуализмом* (++) . Таковы например, взаимоотношения узкоспециализированных к опылению растений (инжир, купальница, дурман,

орхидные) с опыляющими их видами насекомых. Другой пример - птицы кормятся насекомыми-паразитами на коже бизона, а их взлет служит ему сигналом опасности. Кедровка, питающаяся только семенами (орешками) кедровой сосны, является единственным распространителем ее семян.

Собственно *симбиоз* (++) - неразделимые взаимопользные связи двух видов, предполагающие обязательное тесное сожительство организмов, иногда даже с элементами паразитизма. Классический пример симбиоза - лишайники, представляющие собой тесное взаимовыгодное сожительство грибов и водоросли. Благодаря симбиозу лишайники достигли высокого видового разнообразия (более 20 тысяч видов) и получили способность жить в самых суровых условиях: в полярных областях, на голых скалах, на коре деревьев, в высокогорьях.

Если в экологической системе два или более вида (популяции) со сходными экологическими требованиями обитают совместно, между ними возникают взаимоотношения отрицательного типа, которые называют *конкуренцией* (--).

В общем смысле слово "конкуренция" означает столкновение, соперничество, соревнование. В самом деле, когда две популяции используют одни и те же ресурсы среды (тем более, если какие-то из них находятся в недостатке), то между видами неизбежно возникает соперничество за овладение этими ресурсами. При этом каждая популяция испытывает угнетение со стороны другой, что отрицательно сказывается на их росте и выживании, и может даже привести к вытеснению и исчезновению одной из них, менее приспособленной.

Конкуренция чрезвычайно широко распространена в природе. Так, например, все растения конкурируют (соревнуются) за свет, влагу, питательные вещества почвы и, следовательно, за расширение территории своего обитания. Животные борются за пищевые ресурсы и за убежища (если они в дефиците), то есть, в конечном счете, также за территорию. Однако если популяция невелика и состоит из немногих, редко встречающихся особей, экологическое значение конкуренции будет незначительно: например, в арктических или пустынных областях почти нет конкуренции растений за свет.

Хищничество такой тип взаимоотношений популяций (-+), при котором представители одного вида поедают (уничтожают) представителей другого, то есть организмы одной популяции служат пищей для организмов другой. Хищник обычно сам ловит и умерщвляет свою жертву, после чего съедает ее полностью или частично. Поэтому для хищников характерно охотничье поведение. Но кроме хищников-охотников существует еще и большая группа хищников-собирателей, способ питания которых заключается в простом поиске и сборе добычи. Таковы, например, многие насекомоядные птицы, собирающие пищу на земле, в траве или на деревьях.

Хищничество - широко распространенная форма связей, причем не только между животными, но и между растениями и животными. Так,

травоядность (поедание растений животными), в сущности, тоже хищничество, с другой стороны, ряд насекомоядных растений (росянка, непентес) также можно отнести к хищникам. Однако в узком, экологическом смысле принято считать хищничеством только поедание животных животными.

Паразитизм это форма взаимосвязей между видами, при которой организмы одного вида (паразита, потребителя) живут за счет питательных веществ или тканей организма другого вида (хозяина) в течение определенного времени. Обычно паразит использует живого хозяина не только как источник пищи, но и как место постоянного или временного проживания. В роли паразитов могут быть и растения и животные.

В отличие от хищничества при нападении паразита хозяин не погибает сразу, но испытывает угнетение (нередко в течение длительного времени). Другими словами, паразит изнуряет, но не губит хозяина, поскольку это обеспечивает его существование. Таким образом, паразитизм можно рассматривать как ослабленную форму хищничества. В природе нередко встречаются и такие взаимодействия, которые можно назвать переходными от хищничества к паразитизму: например комары и пиявки, сосущие кровь у млекопитающих.

Тема 3.2 Эколого-генетические модели.

Лабораторная работа № 6 "Анализ биопрепаратов с заражением описторхозом"

Цель работы: изучение эколого-генетической модели на примере заражения описторхозом человека

Основные теоретические положения:

Вопрос о предрасположенности к гельминтозам впервые поставлен еще в начале 20-го века на основании наблюдений распространенности гельминтозов в разных этнических группах. Убедительные доказательства вовлеченности генетической компоненты в развитие резистентности гельминтозам у животных получены в 80-х годах. Дальнейшее исследование этого вопроса у человека проходило с использованием подходов к анализу мультифакторных заболеваний: анализ сцепления, кандидатное картирование, широкогеномное исследование, анализ экспрессионных профилей.

Важным для исследования генетики хозяина в контексте взаимоотношений с гельминтом является выявление фенотипических различий между индивидами. Особенностью генетического исследования гельминтозов является сосредоточенность на оценке интенсивности инвазии и анализе количественных клинических признаков, свидетельствующих о

тяжести течения заболевания, нежели на факте наличия или отсутствия инвазии.

Интенсивность инвазии, то есть количество взрослых или личиночных форм в организме, во многих случаях коррелирует с патологическими признаками, развивающимися у хозяина. Количество гельминтов, в свою очередь, коррелирует с количеством яиц, которые определяют в различных экскреторных продуктах хозяина в зависимости от характерной для конкретного гельминта локализации. Таким образом, во многих исследованиях об интенсивности инвазии судят по количеству яиц гельминтов, определяемому лабораторными методами.

Доказательства влияния генетических факторов на развитие и клиническое течение гельминтозов получены в исследованиях модельных животных. Многие из этих исследований направлены главным образом на выявление факта наличия или отсутствия генетической компоненты предрасположенности гельминтозам, не выявляя ее структуры. У разных инбредных линий мышей показана существенная вариабельность в клиническом течении некоторых гельминтозов: эхинококкоза, вызываемого *Echinococcus multilocularis* (Kroeze, Tanner, 1987), филяриоза, вызываемого *Dipetalonema viteae* (Storey et al., 1985) и *Brugiamalayi* (Fanning, Kazura, 1984), шистосомоза вызываемого *Schistosoma mansoni* (BinDajem et al., 2008), ангиостронгилеза обусловленного *Angiostrongylus costaricensis* (Ishii, Sano, 2004). Также показаны различия в продукции антител в ответ на инвазию цестодами *Taeniataeniaeformis* в различных инбредных линиях (Gibbens et al., 1986). Аналогичные результаты получены на мышинных моделях относительно эозинофилии при гельминтозах, вызванных *Trichinella spiralis*, *Necator americanus* и *Mesocostoides corti* (Lammas et al., 1990). Подобные исследования с использованием более крупных млекопитающих подтвердили существенный генетический вклад в предрасположенность к гельминтозам. Например, у овец обнаружена индивидуальная резистентность к инвазии *Trichostrongylus colubriformis*, что позволило создать линии с высокой и низкой резистентностью к этому гельминту.

На роль генетических факторов в развитии и течении гельминтозов у человека указывает факт того, что эти заболевания сопровождаются разными клиническими проявлениями у представителей разных популяций.

Различия в предрасположенности к гельминтным инвазиям между этническими группами обнаружены еще в начале XX века. Исследования жителей южных штатов США выявили большую распространенность и интенсивность анкилостомоза у европеоидов относительно африканцев (Keller et al., 1937). Сравнительный анализ двух этнических групп Эквадора выявил значительную вариабельность в клиническом течении онхоцеркоза (De Angelis et al., 2012). Однако в исследовании шистосомоза в Бразилии различий между африканцами и европеоидами не установлено (Rupert, Quinnell, 2003).

В 80-х годах XX века исследования выявили важный эпидемиологический феномен, касающийся реинвазии после проведения антигельминтной терапии.

В пролонгированных исследованиях количество яиц гельминтов до и после лечения статистически значимо коррелировали, что позволило высказать предположения о предрасположенности к гельминтной инвазии.

Индивидуальные особенности в развитии реинвазии аскаридами и другими интестинальными гельминтами обнаружены в популяциях Нигерии, Мексики, Тайланда, Малайзии и южной Индии.

Оборудование и реактивы:

1. Желчь человека, зараженного **Opisthorchis felineus** (O. Felineus).
2. Световой микроскоп.
3. Стекла предметные.
4. Покровные стекла.

Ход работы

1. Приготовление микропрепаратов из желчи.
2. Микроскопия под малым увеличением (7x10) – поиск яиц **Opisthorchis felineus**
3. Микроскопия под большим увеличением (7x40) – подтверждение нахождения яиц **Opisthorchis felineus**.



4. Формулирование заключения.

Лабораторная работа № 7 "Интерпретация серологических исследований крови на описторхоз"

Цель работы: Изучить специфические ответные реакции хозяина на воздействие паразитов на протяжении длительного времени в системе человек – *Opisthorchis felinus*.

Задача работы: оценить реакцию организма человека на инвазию на основе серологических маркеров описторхоза.

Основные теоретические положения:

Описторхоз – гельминтоз, вызываемый мелкой трематодой семейства *Opisthorhidae*. Заражение человека происходит при употреблении недоваренной или непрожаренной зараженной личинками описторхисов рыбы семейства карповых. Инкубационный период заболевания составляет около 2-3 недель. Описторхисы паразитируют преимущественно в желчных путях печени и протоках поджелудочной железы. Инвазия может протекать без клинических проявлений, возможны недомогание, лихорадка, желтуха. Ведущую роль в патогенезе описторхоза играют аллергические реакции на продукты обмена веществ гельминтов; механическое воздействие на стенки желчных, панкреатических протоков и желчного пузыря, раздражение нервных элементов протоков, возникновение условий, благоприятных для присоединения вторичной инфекции желчевыводящих путей, железистая пролиферация эпителия желчных и панкреатических протоков.

Высокая частота бессимптомных вариантов инфекции ведут к риску недостаточной диагностики и развитию хронических инфекций. Основной патологический процесс - хронический холангит и поражение протоков поджелудочной железы. Хронический описторхоз может продолжаться годами, проявления его полиморфны и могут варьировать от бессимптомной инвазии до тяжелого заболевания с осложнениями в виде развития гнойного холангита, панкреатита, камней желчного пузыря, описаны случаи развития холангиокарциномы. В патогенезе хронической стадии описторхоза большую роль играют повторные заражения с обострением воспалительного процесса. Единичный случай воздействия и связанная с ним интенсивность инфекции несет меньшие риски развития тяжелых осложнений.

Среди лабораторных методов диагностики описторхоза основное значение принадлежит исследованиям кала на яйца глист, которые следует проводить серийно при низкой интенсивности инфекции. Часто наблюдается выраженная эозинофилия. В комплексе с другими лабораторными и клиническими методами обследования при подозрении на описторхоз используют серологические тесты (определение антител к антигенам описторхиса).

Специфические IgG-антитела к антигенам описторхиса можно обнаружить через 6-8 недель после заражения, их концентрация достигает максимума через 2-3 месяца, держась на таком уровне довольно долго. Но, при длительных сроках заболевания, у больных нередко наблюдается

значительное снижение уровня антител, вплоть до уровня ниже порогового. Положительный результат будет сопровождаться дополнительным комментарием с указанием коэффициента позитивности пробы (КП*).

- $KП \geq 1.0$ положительно
- $KП \leq 0.85$ отрицательно
- $0.85 < KП < 1.0$ сомнительно

Положительный результат:

1. описторхоз;
2. ложноположительный результат вследствие перекрестных реакций и индивидуальных сывороточных интерференций (редко).

Отрицательный результат:

1. отсутствие инфицирования описторхисом;
2. ранняя стадия заболевания;
3. длительные сроки заболевания.

Сомнительный результат:

□ пограничное значение, которое не позволяет достоверно (с вероятностью более 95%) отнести результат к "Положительно" или "Отрицательно". Следует учитывать, что такой результат возможен при очень низком уровне антител, который может иметь место, в частности, при слабо выраженном гуморальном иммунном ответе, сывороточной интерференции или в начальный период заболевания. В зависимости от клинической ситуации может быть полезным повторное исследование уровня антител через 10-14 дней для оценки динамики или применение альтернативных видов исследований.

**Коэффициент позитивности (КП) - это отношение оптической плотности пробы пациента к пороговому значению. КП - коэффициент позитивности, является универсальным показателем, применяемым в иммуноферментных тестах. КП характеризует степень позитивности исследуемой пробы и может быть полезен врачу для правильной интерпретации полученного результата. Поскольку коэффициент позитивности не коррелирует линейно с концентрацией антител в пробе, не рекомендуется использовать КП для динамического наблюдения за пациентами, в том числе контроля эффективности лечения.*

Оборудование

1. результаты серологических иммунологических исследований на описторхоз. Например:

Описторхоз IgM/IgG/ЦИК
 Исследование Результат **ЦИК**
отрицат.
IgG отрицат.
IgM отрицат.

(843) 276-86-86
 ИАМ 10 ЛЕТ
 ООО "Ситилаб"
 Бизнес, единая сервисная служба

МЕДИЦИНСКИЕ АНАЛИЗЫ
 420027 РТ - Казань, пос. Космодемьянская,
 3/1. Железнодорожный, 42
 www.sitilab.ru

Амб. карта: _____ Дата взятия биоматериала: _____
 Ф.И.О. пациента: _____ Пас. М. Адрес: _____ Номер проб: _____
 Дата рождения: _____
 ЛПУ: ЦОП на К.Маркса (Гочех. Аг.) Отделение: _____
 Ф.И.О. направившего врача: _____
 Биоматериал: Сыворотка крови
 Примечание: _____

Серологические исследования

Показатель	Результат	Комментарий	Ед. изм.	Референтные значения
Антитела к антигенам лямблий (суммар, кач)	отрицательный			
Антитела к антигенам описторхозов (IgG кач)	отрицательный			

Примечание: _____

Дата выполнения анализа 13.08.20 Врач: Шарягова Н. И.
 Дата выдачи результата 13.08.20

Показатель	Результат	Единицы	Референтный интервал
Пакет № 4.4.4 (Антитела к гельминтам)			
Toxocara canis, антитела к IgG	5,4	R	<0,85 – негативный результат 0,85-1,15 – сомнительный результат >1,15 – позитивный результат
Echinococcus granulosus, антитела IgG	0,45	R	≤0,85 – негативный результат 0,85-1,0 – сомнительный результат ≥1,0 – позитивный результат
Аскарида, антитела IgG	3,043	R	<0,85 – негативный результат 0,85-1,15 – сомнительный результат >1,15 – позитивный результат
Trichinella spiralis, антитела IgG	0,19	R	до 0,85 – негативный результат 0,85-1,0 – сомнительный результат >1,0 – позитивный результат
Opistorchis felineus, антитела суммарные	0,07	Индекс	<0,9 – негативный результат 0,9-1,1 – сомнительный результат >1,1 – позитивный результат
Giardia (лямблии), антитела суммарные	0,09	Индекс	<0,9 – негативный результат 0,9-1,1 – сомнительный результат >1,1 – позитивный результат

Ход работы

Интерпретация серологических исследований на описторхоз и формулирование заключений.

Тема 3.3 Симбиогенетика.

Лабораторная работа № 8 "Интерпретация исследований микрофлоры ЖКТ человека и животных"

Цель работы: Изучить симбиотические отношения на примере микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека

Задача работы: оценить количественный качественный состав микрофлоры ЖКТ человека.

Основные теоретические положения

Симбиотические микроорганизмы выполняют важную роль в жизнедеятельности человека. Изменение состава микрофлоры кишечного тракта может быть связано с кишечными заболеваниями и ожирением. Подсчитано, что суммарное количество клеток микроорганизмов, обитающих в нашем организме (в основном в кишечнике), составляет 100 триллионов, что в 10 раз превышает количество клеток, из которых построено тело человека. И эти микроорганизмы содержат в 100 раз больше уникальных генов, чем геном человека.

Для оценки влияния микроорганизмов и изменения их состава на здоровье человека проводят секвенирование (определение последовательности ДНК) так называемого метагенома микрофлоры кишечника (т.е., суммарной ДНК всех микроорганизмов, выделенной из проб, полученных от человека, например, из проб кала).

Более простой подход предполагает определение последовательностей только одного гена, а именно – гена 16S рибосомальной РНК (рРНК). Ранее с помощью этого подхода удалось показать, что более 90% всей микрофлоры дистальных отделов кишечника человека составляют бактерии из двух систематических отделов: Bacteroidetes и Firmicutes. Также было выяснено, что между здоровыми людьми наблюдается существенное разнообразие в составе микрофлоры кишечника. Однако возможности данного подхода лимитированы.

В случае же секвенирования метагенома ученые не ограничиваются определением последовательности только одного гена, что позволяет анализировать сложные по составу микробные сообщества, подобные тем, что обитают в кишечнике человека.

Например, исследователи, участвующие в работе международного консорциума MetaHIT (эта аббревиатура означает «метагеномика кишечного тракта человека»), определили последовательность всей («суммарной») ДНК, выделенной из образцов кала, полученных от 124 взрослых европейцев (жителей Северной Европы и Средиземноморья). Полученные данные составили объем 576,7 гигабаз (при этом один «баз», от англ. слова base, представляет собой информацию об одном нуклеотиде в составе ДНК). С помощью специальных компьютерных программ в этом массиве данных удалось предсказать (исходя из наличия и взаимного расположения в ДНК определенных характерных последовательностей) 3,3 млн. потенциальных генов. Это приблизительно в 150 раз больше, чем количество генов в геноме человека. Почти все эти гены (99,1%) являются бактериальными, всего 0,1% являются эукариотическими или принадлежат вирусам, а оставшиеся – принадлежат археям.

Также оказалось, что в группе из 124 европейцев в сумме обнаружилось 1000-1150 преобладающих видов бактерий, при этом у каждого индивидуума кишечнике обитало по меньшей мере 160 видов бактерий. Интересно, что примерно 40% бактериальных генов, найденных в пробах конкретного

индивидуума, присутствовали также не менее чем у половины участников исследуемой группы. Часть генов удалось соотнести с определенными видами бактерий, используя знания о последовательности геномов некоторых бактерий. Исследователи надеются, что дальнейшие работы по расшифровке геномов микроорганизмов, составляющих микрофлору кишечника человека, позволят определить принадлежность всех выявленных в данном исследовании генов. Например, в ближайшем будущем планируется расшифровка геномов по меньшей мере 1000 видов бактерий, ассоциированных с организмом человека.

Однако даже имеющиеся ограниченные возможности для анализа позволили определить 75 видов бактерий, которые присутствовали у более чем 50% участников исследования, 57 видов, которые присутствовали у более чем 90% участников и 18 видов, которые присутствовали у всех участников. Однако относительная представленность каждого такого вида могла сильно различаться у разных индивидуумов, например, различаться в 12 раз и даже вплоть до 2200 раз у разных людей.

Оборудование

1. Результаты микробиологических исследований микрофлоры ЖКТ человека. Например:

МЛДЦПТ

Мелит, б-ца № 2

Бактериология

№ 49

Дата 15/06/09

Анализ кала на дисбактериоз

Фамилия

Возраст

Адрес

Диагноз

45 лет

Виды исследований	Норма	Результат
Патогенные микробы сем. кишечных		
Кишечная палочка нормальная	10^8-10^9	$2 \cdot 10^8$
Кишечная палочка лактозонегативная		
Кишечная палочка с изменен. ферментативными свойствами	$<10^4$	
Гемолизирующие микроорганизмы		
Бифидобактерии		$3 \cdot 10^8$ (Enteroc. f-1)
Лактобактерии	$>10^8-10^9$	10^8
Условно-патогенные кокковые формы	$>10^7-10^8$	10^7
Стафилококк патогенный (плазмокоагулирующий)	$<10^4$	$2 \cdot 10^4$
Грибы рода Candida	$<10^3$	$8 \cdot 10^4$ (Kb. aureus)
Условно-патогенные энтеробактерии	$<10^4$	$>10^8$ (Kib. jni)
Прочие микробы		

ВРАЧ

10.06

2009г.

№	Наименование	Возраст	
		До 1 года	1-3 года
1	Патогенные представители семейства <i>Enterobacteriaceae</i>	0	0
2	Бифидобактерии	$10^{10}-10^{11}$	менее 10^{10}
3	Лактобактерии	10^8-10^7	менее 10^6
4	Энтерококки	10^8-10^7	10^6
5	Спорообразующие анаэробы	$=10^7$	менее 10^3
6	Эшерихии с нормальной ферментативной активностью	10^7-10^8	$9 \cdot 10^7$
7	Лактозонегативные эшерихии	$<10^4$	нет
8	Гемолитические эшерихии	0	нет
9	Другие условно-патогенные энтеробактерии	$<10^4$	$3 \cdot 10^7$ K. oxytoca
10	<i>S. aureus</i>	0	нет
11	Стафилококки (<i>S. epidermidis</i> , <i>S. saprophiticus</i>)	$=10^4$	нет
12	Грибы рода <i>Candida</i>	$=10^4$	нет

АНАЛИЗ КАЛА НА ДИСБАКТЕРИОЗ № БШ0000050

Дата взятия материала: 08.06.2011
 Ф.И.О. владельца: Анохина Н. А.
 Вид животного: Собака
 Порода: питбуль терьер
 Возраст (лет, мес.): 9,0
 Лечащий врач:

Микрочип №:
 Пол: Ж
 Кличка: Юкка
 Клиника:

Результаты исследования:

микроорганизмы	количество микроорганизмов в 1 грамме кала (норма)	кол-во микроорганизмов (данные исследования)
E.coli ферментирующая лактозу	$10^7 - 10^9$	5,3x100000
E.coli не ферментирующая лактозу	менее 10^7	2,1x1000
E.coli гемолитическая	0	0
LAC-<> энтеробактерии	менее 10^4	4,7x100
Salmonella	0	0
Shigella	0	0
Staphylococcus spp. Коагулаза <->	$10^4 - 10^5$	1,1x10000
Staphylococcus spp. Коагулаза <->(S.aureus)	0	0
Энтерококки	$10^5 - 10^6$	0
Лактобациллы	более 10^6	8,6x100000
Бифидобактерии	$10^8 - 10^9$	2,4x1000000
Клостридии	менее 10^7	3,1x1000
Протеи	менее 10^4	x100
Дрожжеподобные грибы Candida	менее 10^4	9,7x100
Pseudomonas	0	0

Заключение:
 В исследуемом материале патогенных бактерий сем-ва Enterobacteriaceae не обнаружено Установлено дисбактериоз обусловленный снижением не гемолитической Lac + E.coli, Enterococcus spp, а также лактобацилл и бифидобактерий Содержание других микроорганизмов находится в пределах физиологической нормы

Врач КЛД, эксперт: Саженева Е.В. к.б.н.
 Дата выдачи: 18.06.2011
 Лаборатория является частью Национальной федеральной системы внешней оценки качества лабораторных исследований (МЗ РФ сертификат под номером 10700)
 Претензии по результатам анализа принимаются в течение двух недель с даты готовности. Адрес: г. Москва, ул. Мясницкая, д. 26/1, стр. 1

2. Референсные значения для микрофлоры ЖКТ человека. Например:

Таблица 2

Распространение микрофлоры в желудочно-кишечном тракте

Виды	Частота выделения	Виды	Частота выделения
Полость рта и носоглотки			
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	<i>Actinomyces</i>	++
<i>S. epidermidis</i>	+++	<i>Treponema</i>	++++
<i>Streptococcus A и B</i>	++++	<i>Fusobacterium</i>	++++
<i>S. pneumoniae</i>	++	<i>Candida</i>	++
<i>Enterococcus</i>	+	<i>Bacteroides</i>	+++
<i>Lactobacillus</i>	+++	<i>Peptostreptococcus</i>	+
<i>Neisseria</i>	+++	<i>Prevotella</i>	++++
<i>Porphyromonas</i>	++++	<i>Haemophilus</i>	+
<i>Streptococcus veridans</i>	++++	<i>Veilonella</i>	++++
Пищевод и желудок			
Выжившие бактерии из дыхательных путей и пищевых масс	+	<i>Helicobacter pylori</i>	+++
Тонкая кишка			
<i>Enterococcus</i>	++	<i>Staphylococcus</i>	++
<i>Lactobacillus</i>	++++	<i>Peptostreptococcus</i>	+
<i>Enterobacteriaceae</i>	++++	<i>Bifidobacterium</i>	++++
Толстая кишка			
<i>Bacteroides</i>	++++	<i>Enterococcus</i>	+++
<i>Clostridium</i>	++	<i>Peptostreptococcus</i>	+++
<i>Candida</i>	+	Плесневые грибы	++
<i>Enterobacteriaceae</i>	++	<i>Staphylococcus</i>	++

«++++» – выделяют практически всегда, «+++» – обычно выделяют, «++» – выделяют часто, «+» – выделяют редко.

Ход работы

Интерпретация микробиологических исследований микрофлоры ЖКТ человека.

Раздел 4 Биоиндикация антропогенных загрязнений

Тема 4.1 Методы выявления и оценки мутагенов

Лабораторное занятие не предусмотрено

Содержание темы:

Развитие биоиндикационных исследований стимулировало необходимость в соотношении измеряемых параметров физико-химического состояния среды с их биологическим значением.

Наверное, первый самый известный индикатор был описан Ч. Дарвином – эффект меланизма городских бабочек, т.е. приобретение в результате естественного отбора более темной окраски бабочек, мимикрирующих под темную кору закопченных деревьев.

Существует множество классификаций биоиндикаторов, но в принципе все они базируются на адаптивных возможностях биосистем в зависимости от уровня их организации. Начальный уровень организации – субмолекулярный или биохимический, а завершающим является биосфера. Несомненно, что начальный уровень очень устойчив к воздействию радиации и химическим загрязнениям и по этому показателю сравним с неживой материей. Следующий уровень организации биосистем – клеточный (микробы, одноклеточные, водоросли) – также обладает высокой степенью устойчивости вследствие способности организмов образовывать споры. Последующие уровни указывают на то, что устойчивость всех органов выше устойчивости всего организма. От молекулярного до популяционного уровня организации устойчивость определяется в большей степени их приспособляемостью, т.е. пассивной защитой. Начиная с уровня сообщества, характер биологических механизмов, обеспечивающих устойчивость, становится принципиально другим – создаются системы круговорота веществ, природоохранительные экраны – озоновый и т.д. Получается, что организм – самая неустойчивая, но и самая пластичная единица структурной организации биосферы.

В зависимости от уровня организации биосистем меняются адаптационные возможности живых организмов, меняется устойчивость к воздействию радиоактивных и химических агентов. Для каждого уровня характерен свой специфичный набор биоиндикаторных тестов, соответствующий выполняемым функциям.

В настоящее время выделен ряд ключевых ферментов, которые изменяют свою активность в зависимости от степени загазованности окружающей среды: глюкозо-6-фосфат, супероксиддисмутаза, пероксидаза. Как правило, внутриклеточные макромолекулярные структуры достаточно надежно

защищены от вредного антропогенного воздействия, и если в них возникают нарушения, то это приводит к гибели организма.

Большой интерес представляет явление «молекулярной мимикрии», т.е. встраивание изотопов ^{131}I , ^{90}Sr и др. в молекулярные комплексы живых организмов, накопление их и распространение в популяции, приводящее при достижении определенного критического уровня к развитию патологических процессов.

Что касается клеточного уровня, загрязнение окружающей среды приводит к образованию экологических ниш, которые в первую очередь занимают микроорганизмы. Об этом свидетельствует появление новых инфекционных заболеваний, формирование лекарственно устойчивых штаммов микроорганизмов, следовательно, постоянный контроль видообразия и численности микроорганизмов является одним из основных показателей состояния окружающей среды. Например, рост количества синезеленых водорослей в проточных водоемах – характерный показатель загрязнения и деградации.

Изучение биоиндикации на клеточных культурах даёт возможность прижизненного мониторинга клеток и может заменять исследования на лабораторных животных.

Биоиндикация органов и физиологических систем у животных и растений носит, как правило, неспецифический характер и связана с общим адаптационным ответом организма на внешние воздействия. В то же время дифференцированная способность на накопление различными органами вредных техногенных веществ позволяет весьма успешно при использовании физико-химических методов выявлять уровни загрязненности среды обитания.

Появление и развитие злокачественных новообразований у животных указывает на полное несоответствие окружающей среды адаптационным возможностям организма. Хроническое действие электромагнитных полей вызывает раковые заболевания кожи, мозга, грудных желез; радиация – лейкозы; выхлопы автотранспорта, аэрозоли угольной и нефтяной промышленности – рак легких.

Морфологические изменения у растений также используются для биоиндикации. В настоящее время методом, основанным на морфологических изменениях, построен ряд картосхем антропогенных влияний, влияние хлоридов вызывает пожелтение краев листьев у лиственных деревьев. Под влиянием соли, используемой для таяния снега, происходит осыпание хвои у елей, опадение листвы у лип.

Выявление частоты встречаемости онкологических заболеваний у животных – перспективное направление биоиндикационной оценки состояния природной среды. Методики определения онкологических заболеваний животных сравнительно нетрудоемки, позволяют определить очаги заболеваний и сделать ретроспективные выводы о вероятном развитии

онкогенеза у проживающих в данном районе людей. Например, кадмий, являясь одним из самых ядовитых тяжелых металлов, способен долго сохраняться в организме животных, концентрируясь в печени, и поэтому у долгоживущих рыб в печени его концентрация возрастает в 30 тыс. раз. Ртутные соединения могут накапливаться в птичьих перьях. Разработан метод, позволяющий оценивать общую загрязненность среды обитания птиц.

Основной наблюдаемой единицей на уровне организмов является особь, семья или группа особей. Наиболее чувствительная реакция – комплекс поведенческих изменений, позволяющих особи выжить при изменившихся условиях. Уже у амёбы можно наблюдать изменение реакции в зависимости от концентрации растворенных в воде химических веществ. При низкой концентрации токсических веществ амёба сокращает свои ложноножки, при увеличении концентрации она превращается в клубок и затем погибает.

Класс насекомых – самый многочисленный и самый многообразный. Большое разнообразие в поведении характерно для пауков. Являясь хищниками, пауки концентрируют в своем организме токсические вещества, изменяющие их поведение.

Особый интерес в биоиндикационном отношении представляет строительная деятельность пауков – их ловчие сети как вполне определенная структура. Пауки строят сети на довольно открытых пространствах и подвергаются влиянию антропогенных факторов, которые существуют в данной местности: радиации, химических веществ, аэрозолей, которые вместе с конденсатом накапливаются на клейких ловчих сетях паука и поедаются им вместе с нарушенными участками ловчих сетей (паутинные нити состоят в основном из аминокислот). Необходимо отметить, что пауки очень устойчивы к действию радиации. При повышении уровня радиации и химического загрязнения увеличивается число структурных нарушений в сети паука. Учеными было проанализировано более 10 тыс. сетей. Была выявлена прямая зависимость количества аномалий сетей паука от уровня загрязнения.

Рыбы. Наиболее чувствительной формой поведения рыб при изменении физико-химических свойств водоемов является нерестовая миграция промысловых рыб: лосося, осетра, хариуса. Всякое химическое и электромагнитное загрязнение рек и озер нарушает нерестовую миграцию рыб.

Земноводные и пресмыкающиеся в большей степени, чем остальные виды, подвергались отрицательному антропогенному влиянию и почти повсеместно они взяты под формальную или реальную охрану. Поэтому само наличие этих представителей в природе можно рассматривать в качестве индикатора относительного экологического благополучия. В качестве индикаторов рассматриваются и морфологические изменения этих животных. В 1992 г. в районе г. Северска Томской области частота морфологических уродств у сеголетков остромордой лягушки достигала 3446%. В качестве одного из

эмбриотропных тестов используется икра амфибий, позволяющая в зависимости от стадии ее созревания по количеству отклонений оценивать степень антропогенного воздействия.

Птицы. В качестве биоиндикаторов используются нарушения и изменения в гнездовании, путях миграции. Птицы как биоиндикаторный объект представляют большой интерес. Эта группа животных обладает интенсивным метаболизмом и потребляет большое количество пищи на единицу массы тела. У них наблюдается более высокая, чем у других животных, аккумуляция экотоксикантов во внутренних органах. Птицы – кальцефоры, что очень важно при контроле экосистем, загрязненных ^{90}Sr , а так же, как и все позвоночные, обладающие развитой мускулатурой, – аккумуляторы ^{137}Cs .

Все виды животных организмов в естественных условиях представлены конкретными популяциями. Под влиянием антропогенных факторов, разрушающих среду обитания, одни популяции вымирают, другие – более устойчивые, и, как правило, более просто организованные, расширяют свои ареалы обитания.

К первому типу видов животных и растений можно отнести сокращающиеся популяции видов, занесенных в Красную книгу. Численность этих видов является индикатором экологического благополучия. Исчезновение среды обитания ведёт к деградации эволюционно сложившихся природных сообществ. Например, размеры ареалов популяций растений существенно зависят от газо-дымных выбросов. Пихта очень чувствительна к атмосферным загрязнениям.

В качестве биоиндикаторов используют, как правило, такие виды животных, жизненные функции которых скоррелированы с факторами внешней среды.

Тема 4.2 Методы биоиндикации

Лабораторное занятие не предусмотрено

Содержание темы:

Существуют требования, предъявляемые к видам-биоиндикаторам:

1. Постоянно высокая численность, они должны быть массовыми.
2. Относительная оседлость, т.е. низкая подвижность.
3. Ограниченность индивидуальных участков обитания.
4. Доступность их добычи в природе.
5. Заселенность как на загрязненных, так и на чистых территориях.
6. Широкая распространенность.
7. Исследованная популяционная структура.
8. Широкая индикационная пластичность.

Наблюдаемые изменения показателей состояния популяции необходимо соотносить друг с другом или с контролем по схеме:

I. Абсолютные стандарты.

□□ Сравнение с характеристиками объекта, находящимися вне зоны воздействия.

□□ Сравнение с экспериментальными результатами.

□□ Сравнение с характеристиками объектов, полученными в прошлом.

□□ Изучение изменений одного и того же объекта во времени.

II. Относительные стандарты.

1. Выявление корреляций с изменениями условий обитания.

2. Выявление эталонных объектов, реагирующих на незначительные антропогенные влияния.

3. Сравнительный перекрестный анализ по относительным и абсолютным стандартам.

Выделяют две группы индикаторов:

1. Реагирующие на нарушение экологической ниши – виды-указатели (сине-зеленые водоросли, черви, промысловые сорта рыб и т.д.).

2. Тест-виды – аккумулирующие загрязняющие вещества (птицы, долгоживущие рыбы).

Интересная группа беспозвоночных, используемая в качестве биоиндикаторов антропогенного загрязнения, – дождевые черви. Длительность жизни червей составляет 4-6 лет, они могут накапливать токсины, тяжелые металлы, радионуклиды. Численность червей и их возрастной состав легко поддаются учету в пересчете на 1м^2 и могут служить в качестве одного из основных биоиндикаторов, а последующее изучение химического состава всего организма животных позволяет определить доминирующие токсические факторы.

В водоемах пресноводных оценка степени загрязненности проводится на основе анализа данных сообществ и зоопланктона. Разработана система показателей, которая включает в себя численность, биомассу, индекс видового разнообразия.

Характерная биоиндикационная черта – виды рыб, обладающие высокими вкусовыми качествами, живут и нерестятся в чистых незагрязненных водоемах. Соотношение численности высокопромысловых рыб к численности популяций низкопродуктивных рыб является индикатором степени загрязненности водоемов.

Самыми устойчивыми к органическим, радионуклидным и загрязнением тяжелыми металлами являются популяции карася, корюшки, гольяна. А показатели чистой воды – таймень, хариус, минога.

Мелкие дикие млекопитающие часто используются как модели для оценки интенсивности нарушений, произошедших в экосистеме. Однако уровень численности и темпы размножения мелких млекопитающих не могут

служить надежным критерием общего нарушения популяции на загрязненных территориях, поскольку численность этих животных подвержена значительным естественным колебаниям, которые происходят вне зависимости от действия внешних повреждающих факторов.

Плодовитость самок, по данным большинства исследователей, не отличалась на загрязненных и контрольных территориях. Среди всех популяционных параметров мелких млекопитающих в зонах экологических катастроф наиболее надежным показателем повреждающего действия могут служить патологии беременности (наличие уродств, резорбции эмбрионов, несоответствие числа имплантированных эмбрионов числу желтых тел в яичниках). В обычных ситуациях у мелких млекопитающих показатель числа самок с резорбцией эмбрионов не превышает 2-3%. Значительное его увеличение демонстрирует существенные популяционные нарушения.

Еще одним из методов биоиндикации с участием мелких млекопитающих является изучение паразитофауны животных в зонах загрязнения. Под воздействием радиохимического загрязнения происходит изменение сообществ гельминтов. Установлена прямая корреляция между степенью зараженности отдельными видами гельминтов и уровнем загрязнения (увеличивается количество пораженных животных, повышается степень пораженности животных паразитами).

Следующий метод – так называемый метод зародышевых леталий. По их разнице определяется число зародышей, погибших в начале беременности до имплантации.

В отношении биоиндикации степени нарушения экосистем может быть широко использовано правило Тинемана: «Чем больше отклонения от оптимума, тем меньше видовое разнообразие, но относительно больше количество оставшихся видов».

С целью оценки степени антропогенной нарушенности ландшафта проводят сравнительный анализ современных карт с картами, построенными на архивных данных. Такое сравнение позволяет моделировать потенциальную естественную растительность.

Тема 4.3 Тест-системы для оценки риска возникновения мутаций

Лабораторная работа № 9 " Скрининговое тестирование мутагенов и промутагенов

Цель работы: оценить влияние мутагенов и промутагенов на окружающую биоту

Задача работы: изучить влияние радиоактивного загрязнения на рисунок паутины

По чувствительности тесты с использованием биоиндикаторов делятся на 2 группы:

- 1-я группа тестов – ориентировочная. Это рефлекторный или поведенческий уровень. Производится оценка поведения насекомых, пауков, аквариумных рыб, для млекопитающих разработано большое количество лабораторных тестов.
- 2-я группа – наиболее чувствительная группа тестов – эмбриотропные тесты, с помощью которых возможно оценить степень влияния токсикантов на эмбриональное развитие – самый чувствительный период индивидуального развития организма. При этом учитывается количество потомков по отношению к числу зародышей, количество и типы аномалий развития.

По специфичности выделяют тесты:

- 1) специфичные;
- 2) неспецифичные.

Эмбриональные тесты носят, как правило, неспецифичный характер, т.е. они оценивают общую экологическую напряженность и только в отдельных случаях может быть выявлен специфический характер.

Биологические индикаторы имеют определенные преимущества перед другими методами оценки экологической ситуации:

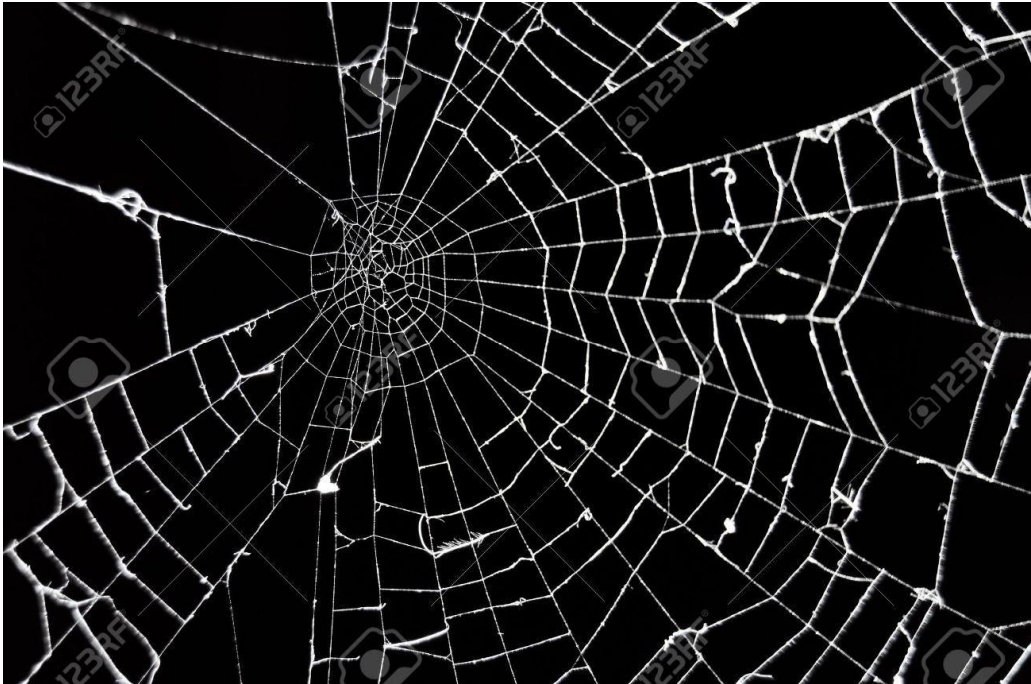
- реагируют на слабые антропогенные нагрузки;
- суммируют действие всех биологически важных антропогенных факторов;
- отражают физические и химические параметры, характеризующие состояние окружающей среды;
- фиксируют скорость происходящих в окружающей среде изменений;
- способны вскрывать тенденции развития окружающей среды;
- способны указывать пути к местам скопления в экологических системах раз личного рода загрязнений и возможные пути попадания этих агентов в пищу человека;
- позволяют судить о степени вредности любых синтезируемых человеком веществ для живой природы, давая возможность контролировать их действие.

Разрабатывается 4 вида мер, направленных на сохранение и устойчивое использование биоразнообразия:

1. Защита особой среды обитания – создание национальных парков, биосферных заповедников и других охранных зон.
2. Защита отдельных видов или групп организмов от чрезмерной эксплуатации.

3. Сохранение видов в виде генофонда в ботанических садах или в банках генов.
4. Сокращение загрязнения окружающей среды.

Оборудование: фотографии и рисунки паутина из зон с разной степенью радиоактивного загрязнения лесных районов Томской области



Ход работы: интерпретация полученных данных и формулирование заключения

Раздел 5 Сохранение генофонда биосферы

Тема 5.1 Проблема сохранения биоразнообразия

Лабораторное занятие не предусмотрено

Содержание темы:

Биоразнообразие – все виды растений, животных, микроорганизмов, а также экосистемы и экологические процессы, частью которых они являются.

Биоразнообразие рассматривается на трех уровнях: генетическом, видовом и экосистемном.

Генетическое разнообразие представляет собой объём генетической информации, содержащейся в генах организмов, населяющих Землю.

Видовое разнообразие – это разнообразие видов живых организмов, обитающих на Земле.

Разнообразие экосистем касается различных сред обитания, биотических сообществ и экологических процессов в биосфере, а также огромного разнообразия сред обитания и процессов в рамках экосистемы.

Число видов организмов, населяющих Землю, очень велико, но оценки этой величины сильно отличаются, варьируя от 5 до 80 млн. Чёткая таксономическая принадлежность установлена всего для 1,4 млн видов. Из этого известного числа видов примерно 750000 – это насекомые, 41000 – позвоночные животные, 250000 – растения. Остальные виды представлены сложным набором беспозвоночных животных, грибов, водорослей и микроорганизмов.

Видовое богатство различных климатогеографических зон сильно отличается, хотя чётко прослеживается тенденция к увеличению от полюсов к экватору. Так, например, число насекомых в тропических лесах в 3-6 раз больше, чем в умеренных. На единицу площади в тропических лесах приходится наибольшее на Земле количество видов млекопитающих. Во влажных тропических лесах Латинской Америки на одном гектаре встречается 40 – 100 видов деревьев, тогда как на востоке Северной Америки 10 – 30 видов. В долинах Малайзии, в районе Куала-Лумпур, на одном гектаре насчитывается около 600 видов деревьев, диаметр ствола которых более 2 см, а на территории Дании в 2 раза меньше видов всех размеров.

В морской среде наблюдается такая же закономерность распределения, как и на суше. Так, число видов асцидий в Арктике едва превышает 100, а в тропиках оно больше 600.

Биоразнообразие является основой жизни на Земле, одним из важнейших жизненных ресурсов. Трудно переоценить значение всего количества товаров и услуг, которые обеспечиваются разнообразием. Некоторые виды при этом являются жизненно необходимыми. Так, люди используют в пищу около 7000 видов растений, но 90 % мирового продовольствия создаётся за счёт всего 20, а 3 вида из них (пшеница, кукуруза и рис) покрывают более половины всех потребностей.

Биологические ресурсы являются также значительным источником сырья для фармакологической промышленности.

В последнее время человечество осознало полезность диких видов растений и животных. Они не только содействуют развитию сельского хозяйства, медицины и промышленности, но и полезны для окружающей среды, являясь обязательным компонентом – биотической составляющей – природных экосистем. Биоразнообразие – главный фактор, определяющий устойчивость биогеохимических циклов вещества и энергии в биосфере.

Эволюционные процессы, происходившие в различные геологические периоды, привели к существенным изменениям видового состава

обитателей Земли. Около 65 млн лет назад в конце мелового периода произошли наиболее крупные исчезновения видов, особенно птиц и млекопитающих. Полностью вымерли динозавры. Позже биологические ресурсы утрачивались быстрее, причём в отличие от великого вымирания мелового периода, вызванного, скорее всего, природными явлениями, утрата видов происходит вследствие деятельности человека.

Выделяют 4 основные причины утраты видов:

- 1) утрата среды обитания, фрагментация и модификация;
- 2) чрезмерная эксплуатация ресурсов;
- 3) загрязнение окружающей среды;
- 4) вытеснение естественных видов интродуцированными экзотическими видами.

Все эти причины носят антропогенный характер.

Подсчитано, что каждый год погибают тропические леса на площади 11,1 млн га (т.е. 21 га каждую минуту). Сокращение же лесов ведет не только к исчезновению тех видов, которые обитали на уничтоженных участках леса, но и к сокращению до 30 % численности видов, обитающих на соседних участках леса.

Техногенное развитие цивилизации привело к глобальному загрязнению окружающей среды. Истощение озонового слоя планеты, парниковый эффект и кислотные дожди – лишь немногие неблагоприятные процессы, лежащие на поверхности. Эти процессы ведут к изменению климата, что, в свою очередь, может привести к изменению видового состава многих экосистем на Земле, так как количество одних видов уменьшается, а других – возрастает.

Большую опасность антропогенного воздействия на окружающую среду представляет её загрязнение, особенно токсичными химическими веществами и ксенобиотиками, в частности пестицидами. Например, ДДТ, который уже давно был запрещён как экологически опасное вещество, до сих пор обнаруживается не только в почве, и в составе тканей живых организмов. Причиной этого явления является стабильность ДДТ (как и других хлорорганических соединений), а также его распространение с воздушными потоками, перелётными птицами.

Еще один неоспоримый факт негативного влияния человека на окружающую среду – сокращение видового разнообразия жизни. За последнее столетие человеческая деятельность привела к тому, что с лица Земли исчезли и близки к исчезновению 25 тыс. видов высших растений и более одной тысячи видов позвоночных животных. Из них 66 % видов позвоночных животных являются обитателями континентов. Крупные наземные животные, в частности африканский слон, находятся под угрозой исчезновения вследствие чрезмерной антропогенной нагрузки на зоны их естественного обитания. На грани вымирания или уже вымерли сотни уникальных пород домашних животных – якутский скот и якутская лошадь,

сибирская северная и кемеровская породы свиней. По оценкам ученых, к 2010 – 2015 гг. биосфера может утратить до 10-15% составляющих ее видов. Это от 15 000 до 50000 видов в год, или от 40 до 140 видов в день. За последние 80-90 лет вызванный антропогенным воздействием темп вымирания превышает все, что известно на этот счет из палеонтологической летописи.

Кроме радиационных, химических неблагоприятных воздействий, влияющих на биоразнообразие, есть еще один, не столь явный фактор, ответственный за сокращение биоразнообразия – нерациональная хозяйственная деятельность, игнорирующая системную организацию видов и структуру внутривидовой наследственной изменчивости.

Отрицательные последствия сопровождают не только промышленную эксплуатацию биологических ресурсов, но и вполне благие намерения, связанные с воспроизводством, селекцией и специализацией пород.

По данным академика Алтухова Ю.П. (1999), в настоящее время постоянно сокращается количество пород сельскохозяйственных животных и сортов растений. Например, в птицеводстве отмечается резкое сокращение числа пород, используемых в коммерческих целях. В состав теперешних промышленных кроссов входят лишь 4-7 пород из более тысячи, известных во всем мире. В России из 80 старых пород к настоящему времени не сохранилось (или не найдено) около 30, что соответствует сокращению генетических ресурсов в плане породного состава на 37,5% за последние 50 лет. Внедрение новых сортов риса на Среднем Востоке и в Азии повлекло за собой утрату генетических банков в Турции, Ираке, Иране, Афганистане и других странах. У местных старых пород и сортов уровень генетической изменчивости выше по сравнению с современными. Высокая специализация пород приводит к снижению уровня гетерозиготности, потере внутривидового разнообразия, а снижение генетического разнообразия ведет к утрате адаптивности, в том числе неблагоприятному воздействию радиоактивных и химических веществ.

Важным средством сохранения биоразнообразия является разработка международных и национальных программ и конвенций, направленных на осуществление этих мер. Однако все эти меры пока недостаточны, и процесс утраты видов продолжается в глобальном масштабе.

ООН принята конвенция о биологическом разнообразии. Она подписана 153 странами и отражает остроту ситуации. Это результат длительных усилий по согласованию противоречивых интересов различных государств.

В настоящее время работает международная программа DIVERSITAS. Она предполагает проведение мониторинга биоразнообразия. Ведутся работы по выбору участков с учётом иерархического уровня репрезентативности экосистем, которые будут представлять различные биогеографические и экологические регионы Земли. В РФ принята научнотехническая программа «Биологическое разнообразие». Эти

программы дали стимул рассмотреть динамику биоразнообразия в условиях радиоактивного и химического загрязнения.

Тема 5.2 Генетические процессы в популяциях животных при антропогенном загрязнении

Лабораторное занятие не предусмотрено

Содержание темы:

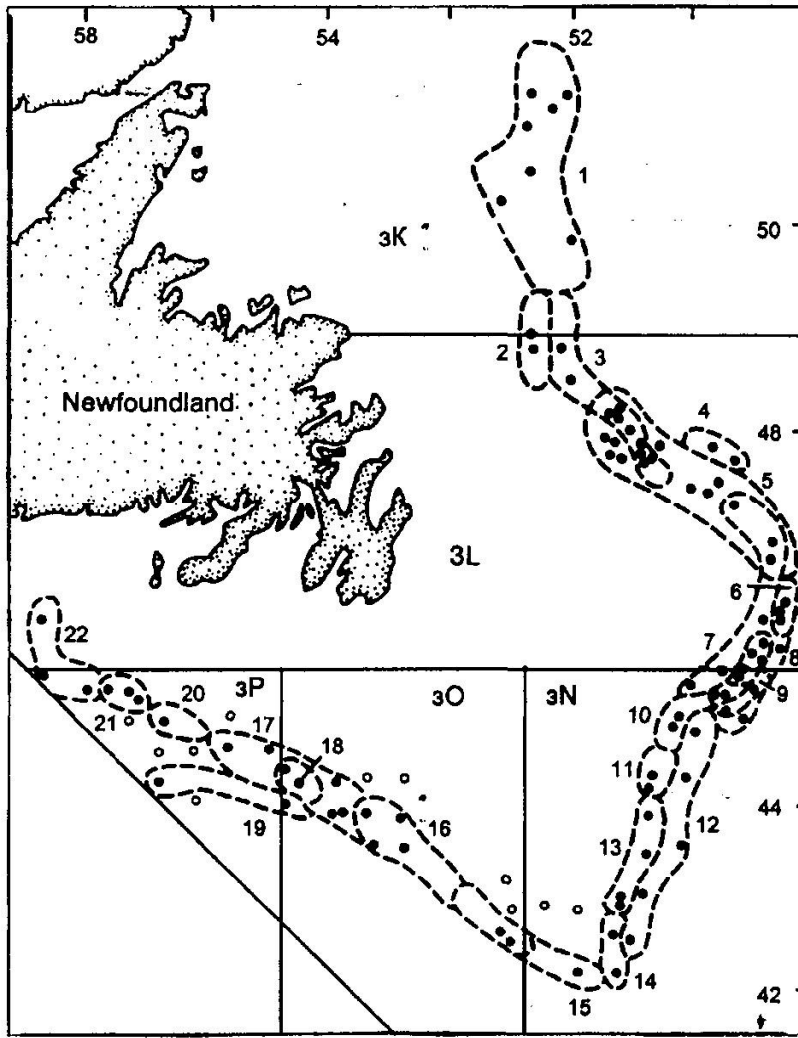
Благодаря мониторингу генетических процессов на популяционном уровне обнаружено сокращение генного разнообразия искусственно поддерживаемых популяций по сравнению с нативными. Однако не менее важно открытие отрицательных эффектов увеличения внутривидовой гетерозиготности, сопряженного с селективным промыслом и переносами популяционных генофондов из одних участков видовой ареала в другие.

Изучение природных рыбных популяций (Алтухов, 1999) обнаруживает их внутреннюю гетерогенность, дифференцированность на более мелкие, генетически отличающиеся субпопуляции. Это, например, было показано более 30 лет тому назад для американского морского окуня *Sebastes mentella* Travin, чьи стада обитают на больших глубинах в районах п-ва Лабрадор и о. Ньюфаундленд (рис. 5.1).

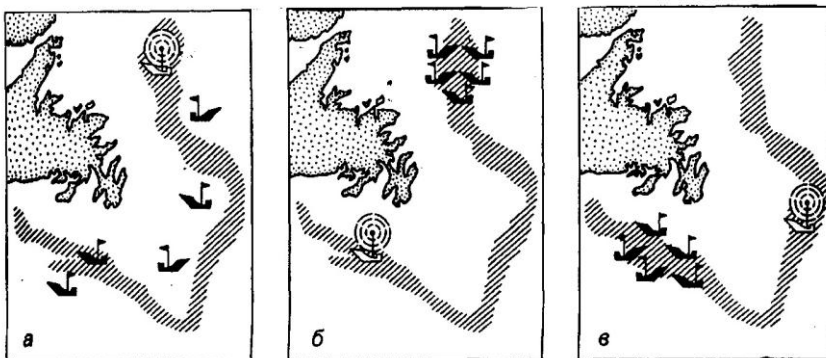
На рис. 5.1 прерывистыми линиями выделены субпопуляции, слагающие структуру локального стада. Каждая субпопуляция характеризуется специфическим генофондом и своеобразными биологическими особенностями (длина тела, стадия половой зрелости, соотношение полов, численность и др.).

Обнаружение такой системной организации популяций имеет принципиальное практическое значение. Если человек хочет осуществлять рациональный промысел, имея дело с системой, то должен подходить к ней как к целому с учетом ее внутренней структуры. Вместе с тем, рыбаки обычно игнорируют эту организацию стада, вследствие чего происходит разрушение популяционных систем.

Стратегия морского рыбного промысла включает две главные акции – разведку достаточно плотных скоплений рыб поисковым судном и, после их обнаружения, вылов флотилией промысловых судов. Это можно представить в виде серии следующих друг за другом «кадров», которые демонстрируют вскрытую цепь генетически отличающихся субпопуляций морского окуня.



На рис. можно видеть, как флотилия траулеров постоянно перемещается по ареалу в районы максимальных концентраций рыб, обнаруживаемых поисковым судном. Это приводит к неравномерному облову стада. Понятно, что при подобном типе промысла, когда суда всякий раз устремляются в тот участок ареала, где скопление рыб характеризуется максимальной плотностью, одни субпопуляции перелавливаются, другие недолавливаются. В конечном счете происходит нарушение естественно сложившихся каналов миграционной связи между элементами системы, разрушается генетическая структура популяции.



Такая абстрактная схема получила прямые доказательства в сравнительно недавнем изучении последствий промыслового воздействия на популяции тихоокеанского лосося нерки. Их важнейшая биологическая особенность — своеобразная социальная структура, представленная тремя генетически отличающимися группами рыб, одновременно присутствующими на нересте: мелкими и крупными самцами и средними по длине тела самками. В процессе промысла можно видеть, как со временем в облавливаемой популяции существенно возрастает доля мелких половозрелых самцов. Такие, как правило, трехлетние самцы (их местное название на Камчатке — каюрки, канадцы и американцы называют их Джек) лишь с небольшой частотой встречаются в нативных, мало облавливаемых стадах. Напротив, в популяциях, испытывающих систематическое промысловое воздействие, количество мелких, рано созревающих самцов резко возрастает.

Ярким примером, иллюстрирующим это правило, может служить стадо нерки о. Дальнего (п-ов Камчатка), биология которого, начиная с 30-х годов, детально изучена благодаря работам Ф.В. Крогиус (1979). Если в 30-х годах численность нерестовой части дальнеозерского стада составляла около 100 тыс. производителей, а доля каюрок среди половозрелых самцов не превышала 0,2%, то в 60 - 70-е годы численность производителей сократилась до 2 - 5 тыс., а доля каюрок увеличилась до 38%.

В чем же причина столь резких изменений? Исследования показали, что главный фактор — *селективный морской промысел*, из поколения в поколение нарушающий генетическую структуру стад нерки из-за непропорционального изъятия жаберными сетями крупных, более гомозиготных, 5 - 7-летних старых самцов. Другие рыбы, идущие на нерест, отличающиеся генетически от крупных самцов, облавливаются промыслом либо равномерно (самки, возраст 4-5 лет, средний уровень гетерозиготности), либо недолавливаются (мелкие самцы, максимальная гетерозиготность), что и приводит к резкому изменению исторически сложившейся популяционно-генетической структуры стада (Алтухов, 1999).

В нерестовых стадах нерки существует весьма консервативная система так называемых избирательных скрещиваний. При формировании брачных пар на нерестилищах самки отдают предпочтение медленно растущим, более гомозиготным крупным самцам, и лишь в маловодные годы и на мелководных нерестилищах, куда крупные самцы не могут проникнуть, репродуктивный успех сопутствует быстрорастущим молодым, более гетерозиготным самцам. Промысел нарушает естественную систему воспроизводства, и гетерозиготные мелкие самцы во все большей мере передают свои гены последующим поколениям. Доля крупных рыб в стаде уменьшается, нарушается равновесное соотношение полов, увеличивается скорость полового созревания, сокращается средняя продолжительность жизни и, как следствие, возрастает темп смены поколений. Одновременно падает численность стада, так как мелкие самки имеют более низкую

плодовитость. Таким образом, в условиях снижения воспроизводительной способности стада даже постоянный по интенсивности промысел, вполне совместимый с изначальными продукционными возможностями популяции, приводит к сокращению ее численности в поколениях только из-за непропорционального изъятия рыб определенных типов.

Обнаруженные процессы свойственны не только стадам тихоокеанских лососей, но и другим видам рыб объектам промысла. Во всех исследованных стадах картина была однотипной: измельчение промысловых стад, их омоложение, возрастание доли рано созревающих мелких самцов. Поскольку направление отбора оказывается неизменным (в пользу гетерозигот), внутрипопуляционная компонента генного разнообразия возрастает, тогда как межпопуляционная – падает, приводя к снижению локальной генетической дифференциации.

Более сложная картина наблюдается при искусственном воспроизводстве рыбных популяций.

Генетические последствия искусственного воспроизводства природных популяций лучше всего рассмотреть на примере лососей. Как уже подчеркивалось, их стада — это сложноструктурированные популяционные системы, состоящие из множества дискретных субпопуляций, в разное время заходящих на нерест в реки или озера. Если мы воспроизводим такие системы искусственно на рыбоводных заводах, то должны осуществлять сбор половых продуктов на всем протяжении нерестового хода, а не ограничиваться использованием лишь части дифференцированного фонда. Чем более рельефна субпопуляционная структура популяции, тем меньше шансов воссоздать целое по его отдельной части. К сожалению, это обстоятельство на рыбоводных заводах нередко игнорируется и, как следствие, нарушается структура внутри- и межпопуляционной генетической изменчивости.

При сравнении двух искусственно поддерживаемых популяций атлантических лососей — семги (*Salmo solar*) и кумжи (*S. tmtta*) обнаруживаются два противоположно направленных процесса, связанных распределением внутри- и межгрупповой компонент генного разнообразия. У семги, воспроизводимой на рыбоводных заводах, популяционная генетическая дифференциация существенно выше, а внутрипопуляционный полиморфизм ниже, чем в природных условиях. Прямо противоположная, но еще более рельефная картина характерна для испанских и французских стад кумжи. Очевидно, что в случае с семгой рыбоводная деятельность приводит к нарастанию инбридинга, чему способствует малая численность производителей, используемых для воспроизводства, тогда как в случае с кумжей увеличение внутрипопуляционной гетерозиготности и стирание межпопуляционной генетической дифференциации есть следствие перемешивания генофондов различных по происхождению маточных линий либо отбора в пользу гетерозигот. В первом случае стада лососей страдают от

инбридинга, во втором — от аутбридинга, что приводит к плохой выживаемости молодняка и падению численности (Алтухов, 1999).

Наблюдается довольно однотипная картина изменений при антропогенных воздействиях на подразделенные популяции хозяйственноценных рыб. Практически во всех изученных случаях имеют место неблагоприятные генетические процессы, т.е. такой тип воспроизводства видовых генофондов, при котором нарушается эволюционно сложившееся соотношение внутри- и межпопуляционной компонент генного разнообразия. Эти процессы порождаются игнорированием в хозяйственной деятельности исторически сложившейся субпопуляционной структуры. Даже рыбоводная практика, преследующая такую цель, как искусственное воспроизводство биологических ресурсов, может приводить к нежелательным последствиям. Они связаны с перераспределением генетического разнообразия таким образом, что его внутрипопуляционная компонента уменьшается, тогда как межпопуляционная нарастает. Ситуация — типичная для лососевых рыбоводных заводов, использующих либо недостаточное число производителей и тем самым провоцирующих инбридинг, либо ведущих бессознательный отбор в пользу гомозигот. Этот процесс инадаптивен и может привести к необратимой деградации популяций даже после прекращения соответствующего воздействия.

Перераспределение разнообразия за счет увеличения внутрипопуляционной гетерозиготности обнаруживается при мониторинге самовоспроизводящихся популяций объектов промышленного рыболовства, а также при искусственном воспроизводстве атлантических лососей на рыбоводных заводах и при садковом выращивании. Этот процесс адаптивен, однако конечный его результат — та же деградация популяций, например, замена проходных (мигрирующих) высокопродуктивных популяций на малопродуктивные жилые формы, а кроме того, повышенная эмбриональная смертность.

Таким образом, эволюционно сложившееся соотношение внутри- и межпопуляционной компонент генетического разнообразия является оптимальным: как убыль гетерозиготности, так и ее чрезмерное нарастание неблагоприятны для нормального функционирования популяционной системы.

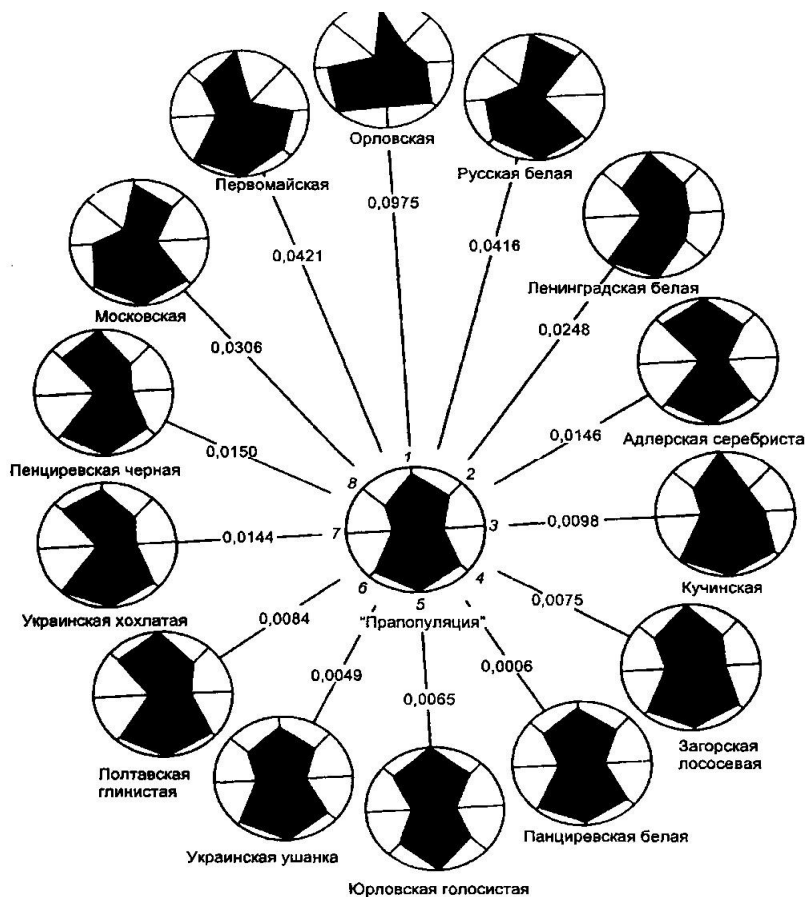
Этот факт позволил разработать концепцию оптимального генного разнообразия как важнейшего условия благополучного существования популяций в нормально колеблющейся природной среде. Зная соотношение внутри- и межгрупповой компонент наследственной изменчивости в условиях протекания процессов нормального воспроизводства либо непосредственно перед тем или иным антропогенным воздействием, возможно детально изучить генетику любой популяционной системы и разработать практические рекомендации по ее рациональному хозяйственному использованию. Тот же подход оказывается эффективным и

в приложении к сельскохозяйственным популяциям (Алтухов, 1999). На сегодняшний день наиболее надежная информация получена для сортов ячменя (*Hordeum vulgare*), возделываемых в Восточной Сибири, и для различных пород кур (*Gallus gallus*).

За последние десятилетия было выведено, районировано и внедрено в производство около 60 новых сортов ячменя. Учитывая, что их районирование проводится в различных агроэкологических зонах, существенное значение приобретает вопрос о направлении отбора и его влиянии на генетическое разнообразие таких популяций.

Гетерогенность этих популяций существенно изменилась: раньше они были представлены смесью различных генотипов, в настоящее время преобладают линейные сорта. Уровень генетической изменчивости существенно выше у местных, стародавних сортов по сравнению с современными: у первых доля разновидностей с 3 - 4 аллелями по генам, кодирующим синтез белков семян гордеинов, достигает 30%, тогда как в преобладающей части вторых обнаружен лишь один, в лучшем случае, два аллеля исследованных гордеиновых локусов. За последние 60 лет в генотипическом составе сортов ячменя, возделываемых в Восточной Сибири, произошли значительные сдвиги, связанные с сокращением наследственного разнообразия. Эти изменения вызваны сложившейся селекционной практикой новые сорта являются потомством одного или нескольких растений.

Тенденция утраты генетического разнообразия во времени отчетливо прослеживается и при мониторинге популяций кур. Многие породы находятся на грани исчезновения. Исследование динамики генетической изменчивости в птицеводстве и более точная количественная ее оценка согласуются с изложенными выше фактами. Были использованы экспериментальные данные по биохимическому полиморфизму 48 популяций кур иностранного (средиземноморского и азиатского) и отечественного (российского) происхождения, включая диких предков домашних кур подвид *Gallus gallus gallus* (Алтухов, 1995). Анализ основывался на 16 локусах, кодирующих белки крови и яиц. Шесть локусов полиморфны. Путем усреднения частот, характерных для 47 изученных пород, реконструирована генетическая структура гипотетической прапопуляции (рис.5.3). Число аллелей на локус оказывалось ниже в группах коммерческих и средиземноморских пород.



Генетические «портреты» отечественных пород кур и их прапопуляции (Алтухов, 1999)

На радиусах отложены частоты аллельных генов, кодирующих синтез белков крови и яиц: 1— овальбумин; 2-4 — глобулины; 3 — трансферрин; 6 — альбумин; 7,8 — эстеразы. Интервал частот генов: 0 — в центре круга, 1— на периметре. На линиях, соединяющих отдельные породы с прапопуляцией отложены генетические расстояния (по Алтухову, 1995)

Относительно высокие оценки получены для диких кур, гипотетической прапопуляции и для группы азиатских кур. Примерно те же ранги занимают группы пород по показателю средней гетерозиготности и по числу аллельных генов, утраченных в сравнении с мировым генофондом.

Одни породы кур имеют уникальную структуру, другие, вследствие их синтетического происхождения, похожи на прапопуляцию.

К первой группе принадлежат пять популяций: орловская, первомайская, русская белая, ленинградская белая, московская; ко второй — девять популяций.

Кроме того, близкие к прапопуляции отечественные породы характеризуются более высоким уровнем внутривидовой гетерозиготности ($H_s = 0,213$) и низкой межпопуляционной изменчивостью ($G_{ST} = 0,0975$) в сравнении с породами, наиболее удаленными от прапопуляции ($H_s = 0,183$; $G_{ST} = 0,2311$).

Генетическая близость к прапопуляции оказывается связанной с меньшей породной специализацией: девять соответствующих пород имеют мясоичное направление продуктивности, тогда как пять удаленных более специализированы либо в сторону яичного (например, русская белая, московская), либо мясного (например, ленинградская белая) направлений, а в основании наиболее удаленной от прапопуляции орловской породы находятся бойцовые куры (Алтухов, 1995).

Значительная межпопуляционная генетическая дифференциация и пониженный уровень гетерозиготности, характерные для группы специализированных пород, ясно указывают: селекция сопровождалась потерей внутрипопуляционного генного разнообразия. Для группы неспециализированных пород характерна противоположная тенденция: рост гетерозиготности и утрата породного своеобразия. Очевидно, что это все те же неблагоприятные генетические процессы, отмеченные выше для природных популяций и порождаемые человеческой деятельностью. В свете этих выводов становятся понятными те нежелательные явления, с которыми постоянно сталкиваются работники сельского хозяйства (Алтухов, 1995).

При создании новых сортов и пород отбор ведется преимущественно по признакам продуктивности. Однако зачастую наряду с полезными признаками селекционеры отбирают и закрепляют вредные, нежелательные. Пример тому — сверхвысокомасличные сорта подсолнечника. На практике эти растения оказались неустойчивыми к болезням, и урожаи погибали на корню. Создавая новые сорта, вместе с генами высокой масличности «соотобрали» гены позднеспелости, и получился подсолнечник, созревающий под осень, в период дождей, когда условия наиболее благоприятны для развития корневой гнили. Высокая специализация сорта приводит к потере внутрипопуляционного наследственного разнообразия и, соответственно, к утрате адаптивности. Избегать таких ошибок позволяет разработанная методика селекции и семеноводства. Она дает возможность сочетать направленный отбор по признакам продуктивности со стабилизирующим отбором по признакам адаптивности, т.е. получать популяции, одновременно высокопродуктивные и устойчивые к неблагоприятным воздействиям среды.

Таким образом, теоретические и практические работы в области природоохранной генетики позволяют обосновать принципы оптимальной эксплуатации природных и искусственных популяций — принципы, которыми нельзя пренебрегать, если мы хотим пользоваться биологическими ресурсами нашей планеты, не истощая их.

Проблема рациональной промысловой эксплуатации и искусственного воспроизводства биологических ресурсов требует самого пристального внимания. Эволюционно сложившиеся уровни внутривидового наследственного разнообразия нарушаются не только в процессе промысла (например, рыбного), но и при вполне благих намерениях, связанных с селекцией и улучшением сельскохозяйственных растений и животных, или

же при искусственном воспроизводстве стад лососей на рыбноводных заводах. Во всех случаях непропорциональное изъятие одних генотипов и недоиспользование либо неравномерное воспроизводство других порождает неблагоприятные процессы, приводит к снижению жизнеспособности популяций. Механизм, лежащий в основе открытых явлений, сопряжен не только с уменьшением генетического разнообразия, но и с его увеличением по отношению к исторически сложившемуся оптимуму (Алтухов, 1995).

Во многих случаях, когда внутривидовой полиморфизм сокращается, а межвидовая пространственная дифференциация нарастает, пределы допустимых генетических изменений уже превышены. Это главный элемент долгосрочного прогноза генетических последствий антропогенного давления на природные и сельскохозяйственные популяции. Такой прогноз неблагоприятен. Поэтому, в противовес существующим представлениям о продолжающейся эволюции биосферы, по мнению Ю.П.Алтухова (1995), можно сделать иной вывод о ее происходящей деградации. Чтобы этого не допустить, нужно пересмотреть стратегию взаимодействия человека с природой таким образом, чтобы не разрушалась системная организация популяций, а соотношение внутри межвидовой наследственной изменчивости удерживалось на оптимальном уровне. Такой подход предполагает: 1) сохранение генетического разнообразия еще уцелевших популяционных систем в процессе их промысла и искусственного воспроизводства (неистощительное природопользование); 2) восстановление популяционных систем, чья структура уже нарушена; 3) создание новых систем популяций в тех регионах, где существуют необходимые естественно-исторические и экономические условия. Для сохранения генетического разнообразия сельскохозяйственных пород животных и сортов растений также следует опираться на популяционно-генетические принципы. Реализация всех этих подходов будет способствовать не экстенсивному росту и сопряженному с ним разрушению биосферных генофондов, а устойчивому существованию системы «человек – биосфера» в неограниченно долгом ряду поколений.

Тема 5.3 Проблема радиоактивных отходов, малых доз.

Лабораторная работа № 10 " Оценка риска и соотношения доза-эффект при лучевой терапии и диагностике

Цель работы: изучить биологические эффекты влияния радиации малых доз на организм

Задача работы: оценить влияние радиации на биологические системы человека при терапевтическом облучении

Основные теоретические положения:

Целью лучевой терапии, как и при других методах лечения, является излечение опухоли при условии щажения нормальных тканей. Однако в лечении рака терапевтический коэффициент, т.е. разница в эффекте облучения опухоли и здоровых тканей, невелик. Раковые клетки похожи на нормальные, и доступные методы лечения — операция, лучевая терапия, химиотерапия — относительно неспецифичны, по сравнению, например, с применением пенициллина в лечении пневмонии. В связи с этим особое внимание следует уделять обеспечению оптимальности терапии, чтобы извлечь максимальный лечебный эффект из разницы между уничтожением опухоли и повреждением здоровых тканей. Поскольку кривые “доза — эффект” для облучения имеют крутой наклон, первой целью являются достижение гомогенности в распределении дозы в облучаемом объеме.



Рис. Диаграмма, показывающая, как возрастают показатели удаления опухоли и частота осложнений с увеличением дозы.

Исключая осложнения из местного удаления опухоли, получаем кривую в виде колокола, которая отражает местное иссечение без осложнений, что является оптимальным результатом для определенных доз. Поскольку опухоль редко четко отграничена от окружающих тканей и чаще инфильтрирована в них, условие гомогенности должно точно соблюдаться. Если даже небольшая часть опухоли получит недостаточную дозу, лечение будет неэффективным. С другой стороны, если даже малые участки здоровых тканей будут значительно переоблучены, возникнут осложнения. Клиницист обычно придает большее значение перспективе полного излечения, чем риску осложнений, но это часто бывает неадекватным: серьезные инвалидизирующие хронические осложнения, к примеру рецидивирующая непроходимость кишечника и перфорация или поперечный миелит, могут стать причиной более быстрой смерти больного, чем рак. Отсюда вытекает сложная задача планировать курс радиотерапии с учетом клинического опыта и знаний для излечения опухоли без значительного риска серьезных

осложнений. Планирование лечения предусматривает определение объема облучения и дозы.

Появление в радиологических клиниках новых высокотехнологичных линейных ускорителей электронов поставило новые задачи перед радиационной защитой пациентов и персонала. В настоящее время существенно усложнилась предлучевая подготовка пациентов, направленная на выбор условий облучения опухолей с уменьшенными поглощенными дозами в окружающих их нормальных тканях и критических органах. Потребовались высокая точность подведения дозы к опухолевым очагам, верификация дозовых распределений. Усложнились процедуры контроля качества ускорителей, применяемых для облучения пациентов. Соответственно усложнились процедуры радиационного контроля облучения пациентов.

Оборудование: Дозы облучения пациентов в лучевой терапии и результаты состояния организма. Все данные получены из открытых источников.

Ход работы: интерпретация полученных результатов и формулирование заключения.

Раздел 6. Генетическая токсикология

Тема 6.1 Проблемы генетической токсикологии

Лабораторное занятие не предусмотрено

Содержание темы:

В настоящее время в связи с интенсивным загрязнением окружающей среды человек постоянно подвергается действию разнообразных физических, химических, биологических факторов в быту, на производстве, на отдыхе, причем последствия таких воздействий часто отделены во времени, иногда на многие годы, от момента контакта с агентом.

Многочисленные экспериментальные данные, начиная с работ Г. Меллера, М. Е. Лобашева, И. А. Раппопорта, Ш. Ауэрбах, доказали, что облучение и химические агенты могут индуцировать мутации как в соматических клетках (и как следствие к возникновению злокачественных новообразований), так и в половых (нарушение в развитии потомства).

Осознание опасности индуцированного мутагенеза для жизни и здоровья человека привело к развитию исследований по разработке методов, тактики и стратегии генетического скрининга, направленного на выявление и устранение потенциальных мутагенов из среды обитания, и формированию в 60—70-е годы XX века генетической токсикологии как самостоятельной научной дисциплины.

Генетическая токсикология — прикладная наука, и основная ее задача — оценка риска возникновения мутаций в соматических и генеративных клетках при действии агентов разной природы (с учетом поступления в организм, дозы, метаболизма, цепей питания, генотипа) с целью сведения к минимуму этого риска для конкретного индивидуума и популяции.

Генетическая токсикология базируется на результатах исследований в области молекулярной онкологии, медицинской генетики, химического и радиационного мутагенеза.

Изучение многостадийности процесса канцерогенеза, путей трансформации ксенобиотиков в организме выявило важную роль в происхождении новообразований мутаций, возникших под действием неблагоприятных факторов среды. Международным агентством по изучению рака (МАИР) создана программа по оценке канцерогенной опасности соединений, что делает более доступным получение сведений о мутагенной активности тех или иных агентов.

Между воздействием канцерогенов и появлением опухоли проходит обычно большой латентный период, поэтому необходимо создавать тестсистемы для раннего обнаружения мутагенных свойств агента. Разработка адекватных тест-систем с учетом информативности и затрат, создание батарей тестов для выявления различных типов генетических повреждений — одна из главных задач генетической токсикологии.

Важная проблема при прогнозировании опасности для человека контакта с тем или иным веществом заключается в способности разных компонентов экосистем преобразовывать и аккумулировать ксенобиотики. Учитывая, что одновременно на организм действуют многочисленные факторы среды обитания, которые могут модифицировать активность друг друга, оценка биологических последствий подобных взаимодействий очень важна, хотя и предельно трудна. Необходимо проводить мониторинг

канцерогенов и мутагенов в окружающей среде и разрабатывать системы их биоиндикации.

Эпидемиологические исследования обнаруживают связь многих распространенных заболеваний с неблагоприятными факторами среды, при этом в популяциях выявляется гетерогенность по реакции на внешние воздействия, в том числе на инфекции, токсины, лекарственные препараты. В медицинской генетике созданы отдельные направления по изучению полиморфизма генов, отвечающих за поступление в организм, метаболизм ксенобиотиков и поиску ассоциации аллелей этих генов с различными заболеваниями.

Индивидуальные и популяционные различия в реакции индивидуумов на физические и химические факторы необходимо учитывать при расчете допустимых уровней воздействия различных компонентов среды обитания человека, что требует внесения изменений в методологию проведения тестирования и создания специальных тест-систем.

Полностью исключить контакт с многими канцерогенами невозможно, поэтому особое внимание в настоящее время уделяется поиску соединений, обладающих антимутагенными и антиканцерогенными свойствами, с целью снижения риска возникновения негативных последствий при воздействии активных соединений, особенно на вредных производствах и при использовании жизненно необходимых лекарственных препаратов.

Технический прогресс, облегчая жизнь человека, создает много проблем, связанных и с изменениями в среде обитания. Задача генетической токсикологии, используя данные общей и молекулярной генетики, радиационной генетики, теории мутагенеза, молекулярной онкологии и других областей, уменьшить риск контакта с мутагенами и канцерогенами, и разработать принципы организации мониторинга загрязнений окружающей среды. Для этого необходимы комплексные разработки с участием специалистов разных профилей (медиков, биологов, физиков, химиков) для выработки общих подходов и методических рекомендаций к оценке состояния экосистем.

Тема 6.2 Фармакогенетика

Лабораторная работа № 11 " Определение однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) TNF α методом ПЦР. Электрофоретическая детекция»

Оборудование и материалы и реактивы

1. Центрифуга со скоростью вращения ротора 14000 об/мин "Eppendorf" с ротором для микропробирок 1,5 - 2,0 мл;
2. Термостат твердотельный, поддерживающий температуру 65°C;

3. Микроцентрифуга-вортекс фирмы "DioSan";
4. Система видеодокументирования гелей;
5. Оборудование для горизонтального ДНК гель-электрофореза;
6. Источник постоянного тока;
7. Камера с заливочным столиком;
8. Мерные стаканы и колбы, одноразовые пластиковые пробирки;
9. Пробирки пластиковые объемом 1,5 мл;
10. Пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объемом 0,5-20 мкл, 20-200 мкл, 200-1000 мкл;
11. Наконечники одноразовые вместимостью 1-20 мкл; 1-200 мкл; 100-1000 мкл;
12. Наконечники одноразовые с аэрозольным барьером для автоматических пипеток объемом 1-20 мкл;
13. Штативы для микропробирок на 0.2 мл
14. Штативы для микропробирок на 0.6 мл
15. Штативы для микропробирок на 1.5 мл
16. Перчатки одноразовые перчатки резиновые;
17. Холодильник с отделениями на 2-8°C и на (-18)-(-20)°C. ГОСТ 26678; 18. Весы лабораторные общего назначения 2-го класса точности с наибольшим пределом взвешивания 2000 г. ГОСТ 24104;
19. Амплификатор
23. Буферы и реагенты для проведения агарозного электрофореза: ТВЕбуфер, агароза.

Ход работы:

1. ДНК из венозной крови выделить стандартным методом фенольнопротеолитической экстракции.
2. Фрагмент гена TNF- α крупного рогатого скота исследовать с применением Метода ПЦР-ПДРФ с использованием прямого праймера 5'CCGAGAAATGGGACAACCT-3' и обратного праймера 5'GCCATGTATCCCCAAAGAAT-3'.
3. ПЦР проводить на амплификаторе в течение 35 циклов при температуре Отжига 60°C.
4. Реакция в ПЦР в SE буфере G.
5. Продукт ПЦР оценивать в вертикальном электрофорезе в 4% ПААГ, Окрашенном бромистым этидием.

6. В продукт амплификации внести эндонуклеазу рестрикции EcoICRi (СибЭнзим, Россия),
7. Оценка в 4% ПААГ, окрашенном бромистым этидием.
8. Определение однонуклеотидного полиморфизма 1703С/Т проводить методом аллель-специфической ПЦР в SE буфере G с использованием Праймеров 5'-1872-GGCTGCCAGATCGTGCCTGC-3'-общий, по нижней Цепи 5'-1686-TCCGAGCCCCGCCTTCTGT-3'- для дикого типа, по верхней Цепи 5'-1686-TCCGAGCCCCGCCTTCTAC-3'- для мутантного типа
9. Аллель-специфическую ПЦР проводить в течение 35 циклов при температуре отжига 60°C.
10. Продукт ПЦР оценивать в вертикальном электрофорезе в 4% ПААГ, Окрашенном бромистым этидием.

Раздел 7 Экология и деятельность человека

Тема 7.1 Экология человека. Антропологические факторы

Лабораторная работа не предусмотрена

Основное содержание темы

В век научно-технической революции во взаимодействии общества с природой достигнута предельная опосредованность всех естественных факторов производства, открылись принципиально новые возможности для дальнейшего развития общества как сознательно контролируемого и регулируемого процесса.

Возрастание общественных потребностей, непрерывное наращивание мощностей промышленного производства связаны с интенсивным использованием природных ресурсов, с появлением нового противоречия – внутренние неограниченные возможности окружающей среды.

Термины «окружающая среда», «экология человека», «экологический кризис» стали достоянием каждого человека, который осознал, что здоровье нынешнего и будущего поколения зависит от состояния окружающей среды.

Одна из региональных задач стратегии достижения «здоровья для всех», разработанной Всемирной организацией здравоохранения, гласит: «Все государства должны располагать адекватными механизмами для мониторинга, оценки и борьбы с опасными факторами окружающей среды, представляющими угрозу для здоровья населения, включая потенциально токсичные химические вещества, радиацию, потребительские товары, оказывающие вредное воздействие на здоровье человека, а также биологические агенты» (Основы политики достижения здоровья для всех в европейском регионе ВОЗ, Копенгаген, 1989).

Значительное внимание в ней придаётся вопросам создания благоприятных для здоровья условий окружающей среды. Предстоит тщательно разработать и осуществить стратегию мониторинга: проведение измерения уровней и каналов загрязнения окружающей среды, изучение их возможного индивидуального воздействия и накопления вредных веществ в тканях человека, осуществление эпидемиологических исследований. Нынешнее поколение столкнулось с серьёзными экологическими проблемами, стало свидетелем массовой гибели лесов, исчезновения животных, отравления рек и водоёмов, расширения зоны пустынь. Положение, сложившееся в отношениях человека и природы, во многих случаях становится критическим.

Неадекватность принципов и методов вмешательства в природу с особой силой проявляется с развитием технического прогресса.

Практически все экосистемы планеты затронуты деятельностью человека, во многих районах земли преодолён порог самозащиты природы. Люди научились создавать искусственную среду обитания. Но ведь она, по существу, воспроизводит естественные жизненные условия человека, ибо в силу своих биологических особенностей он не в состоянии жить и действовать в экологически чуждых средах.

На состоянии человека отражается любое изменение внешних условий, будь то температура, влажность или атмосферное давление, химический состав воздуха или воды.

Биологическая же структура человека ограничивает его адаптацию к сколько-нибудь существенному колебанию параметров внешней физической среды, а тем более к таким средовым факторам, с которыми он не взаимодействовал в ходе длительной эволюции вида и, соответственно, к которым у него не вырабатывались необходимые адаптационные механизмы.

Поэтому выход за рамки привычного фона естественных факторов неизбежно ведёт к нарушению здоровья людей.

В настоящее время стихийное развитие взаимоотношений с природой представляет опасность для существования не только отдельных объектов, территорий стран и т.п., но и для всего человечества. Это объясняется тем, что человек тесно связан с живой природой происхождением, материальными и духовными потребностями, но, в отличие от других организмов, данные связи достигли таких масштабов и форм, что это может привести к практически полному вовлечению живого покрова планеты (биосферы) в жизнеобеспечение современного общества. Это поставило человечество на грань экологической катастрофы. В большей части экологическую ситуацию нарушает антропогенное воздействие.

Антропогенное воздействие – это деятельность, связанная с реализацией экономических, военных, рекреационных, культурных и других интересов человека, вносящая физические, химические, биологические и другие изменения в окружающую природную среду.

Человек и природа, как известно, связаны друг с другом не только как часть и целое, но прежде всего как объект и субъект. Человек не просто приспосабливается к среде, а активно преобразовывает её.

Благодаря целенаправленной деятельности люди становятся творцами своих собственных жизненных условий. Тем самым они формируют новое состояние, «вторую природу», которая вносит перемены в осуществление биологических процессов в человеческом организме, в том числе и патологических. Эти процессы в их новом качестве уже нельзя рассматривать в полной мере как естественные, собственно биологические. В данном виде они выступают как социально обусловленные, опосредованные действием социальных и экономических факторов.

Порой негативные проявления во взаимоотношениях общества и природы, некомпетентное использование достижений науки и техники обостряют экологическую ситуацию, вызывают нежелательные последствия в окружающей среде, трансформируют структуру заболеваемости. В результате у отдельных индивидуумов возникает экологическое напряжение или утомление. Это явление исследуется с учётом приоритетности факторов, влияющих на организм человека.

Разработка вопросов экологии человека предполагает интеграцию целого ряда разделов науки о человеке и окружающей среде, формирование новых критериев развития науки и техники, определение такого состояния окружающей среды, которое отвечало бы нормальной жизнедеятельности людей. Экологию человека следует рассматривать как некоторую междисциплинарную интегративную дисциплину, в которой сконцентрирована методология решения всего круга проблем, связанных с взаимодействием человека и среды его обитания. Анализируя экологические проблемы, можно адекватно понять взаимосвязь между социальными факторами и природной стороной существования человека.

В результате научно-технического прогресса, с одной стороны, произошло существенное снижение заболеваемости и повышение средней продолжительности жизни в результате роста производственных сил общества, прогресса медицины и смежных отраслей научного знания. Человечество постепенно и неуклонно избавляется от всё большего числа патологических последствий воздействий природной и социальной среды. С другой стороны, воздействие человека на природную среду: загрязнение атмосферы, гидросферы, биосферы – вызывает метаморфозы в структуре заболеваемости.

Борьба с «болезнями цивилизации» должна строиться с учётом воздействия общества на природу, и медицина должна обеспечить здоровье людей в условиях постоянного изменения медико-экологических стандартов жизнедеятельности.

Тема 7.2 Влияние радиоактивного и химического загрязнения среды на здоровье человека

Лабораторная работа № 12 "Анализ ретроспективных данных влияния отдалённых последствий Чернобыльской АЭС на здоровье человека"

Цель работы: Оценить отдаленные последствия радиоактивного влияния радиации на здоровье человека при антропогенных катастрофах

Задача работы: Изучить влияние радиации после аварии на Чернобыльской АЭС на цитогенетические, гематологические, биохимические, клинические показатели, заболеваемость.

Оборудование:

1. Ретроспективные данные состояния здоровья человека, в разных зонах загрязнения полученные из открытых источников.
2. Данные по загрязнению территорий после аварии на Чернобыльской АЭС, полученные из радиоактивных источников.

Например:

Было проведено клинико-неврологическое исследование 82 ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС и 30 больных с мозговыми инсультами с использованием нейрофизиологических (УЗДГ сосудов мозга, ЭЭГ, РЭГ), нейровизуализационных (КТ и МРТ головного мозга) и биохимических диагностических методов.

На основании полученных результатов установлено, что мозговые инсульты у ликвидаторов имеют свои клинические и параклинические особенности в сравнении с контролем, свидетельствующие о прогрессирующем диффузном характере поражения головного мозга, сочетающиеся с полиорганный патологией, гемодинамическими расстройствами в системах макро- и микроциркуляции, морфоструктурными

изменениями как ликворной системы, так и мозговой ткани, преимущественно перивентрикулярно и в структурах лимбико-ретикулярного комплекса. (ироненко Т.В., Торба К.В., Пицун Н.Л. и др. Клинические особенности мозговых инсультов у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС, 2009).

Таблица

Сравнительные показатели по частоте и спектру ХА в аффецированной и контрольной группах

Цитогенетические показатели		Ликвидаторы N=396	Контроль N=47	P*
Число метафаз в анализе		70140	9336	—
Тип aberrаций	Одиночные фрагменты, %	1,91 ±0,09	1,36±0,17	0,089
	Парные фрагменты, %	1,17±0,07	0,67±0,11	0,028
	Дицентрики и кольца, %	0,18±0,02	0,054±0,03	0,009
	Атипичные хромосомы, %	0,05±0,009	0,01±0,006	0,16
	Маркеры, %	0,24±0,02	0,064±0,03	0,004
	Полиплоиды, %	0,07±0,01	0,09±0,05	0,81
Всего aberrаций, %		3,55±0,13	2,15±0,26	0,0004
Всего клеток с aberrациями, %		3,23±0,12	2,07±0,24	0,0015

• Достоверность различий по U-критерию

Чешик И.А., Шиманец Т.В., Мельнов С.Б. Особенности динамики цитогенетического статуса участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС, 2005

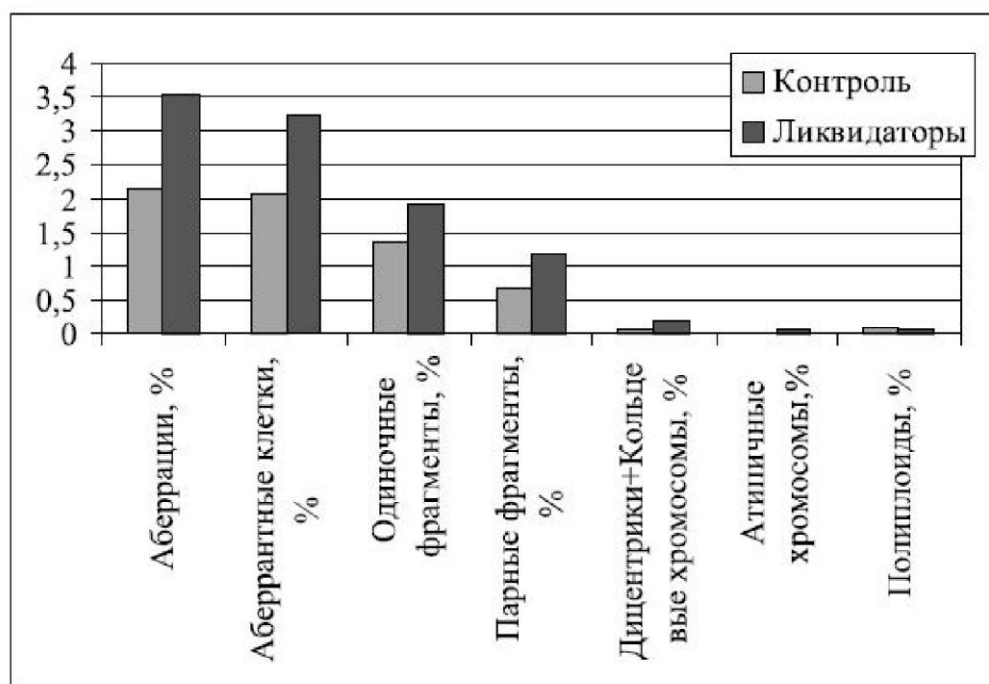


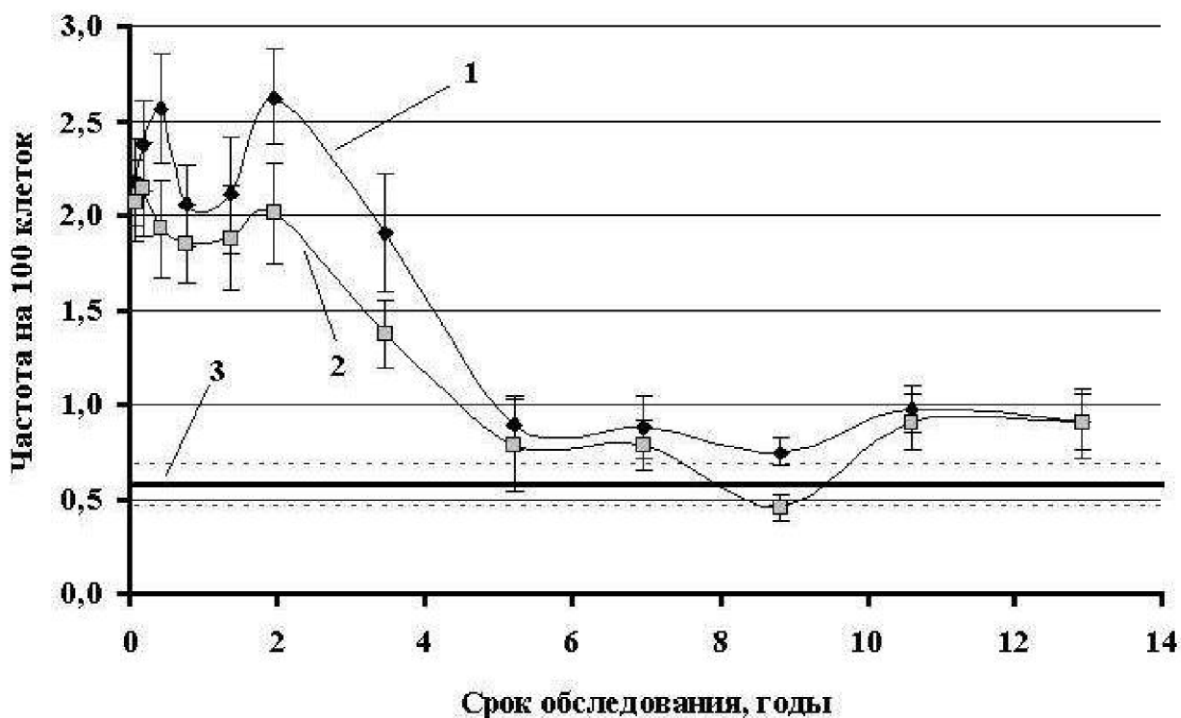
Рис 1. Частота и спектр aberrаций хромосом в аффецированной и контрольной группах

У ликвидаторов аварии на ЧАЭС спустя 20 лет сохраняется повышенный уровень радиационно-специфических aberrаций хромосом



Основные итоги исследований больших групп людей, облученных в результате аварийных ситуаций

- При облучении больших групп людей в дозах превышающих 1 Гр наблюдается рост заболеваемости лейкозом: 1 Гр добавляет к одному два случая лейкозов на 1000 человек
- Дозы 0,2÷0,5 Гр приводят к увеличению уровня хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови переоблученных, который сохраняется на протяжении десятилетий
- На сегодняшний день не удалось обнаружить достоверный рост встречаемости генетических аномалий у детей облученных родителей (единственным исключением – мутации мини- и микросателлитных локусов)



Динамика частоты парных (1) и одиночных (2) фрагментов у ликвидаторов в сопоставлении с контролем (3). (Мазник Н.А., Винников В.А. Выявление признаков отдалённой генетической нестабильности в ходе динамического изучения цитогенетических эффектов у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС, 2005).

Ход работы:

1. Анализ и интерпретация и сопоставление данных по зонам загрязнения.
2. Установление корреляции между состоянием здоровья и дозами полученного облучения.

Раздел 8 Цитогенетический, биохимический, гематологический мониторинг популяций сельскохозяйственных животных

Тема 8.1 Влияние радиации и химического загрязнения на гематологический и биохимический статус животных

Лабораторная работа № 13 «Изучение гематологических показателей периферической крови сельскохозяйственных животных»

Цель работы: изучить влияние антропогенных факторов на интерьерные показатели животных

Задача работы: приобретение навыков работы при ручном и автоматическом анализе периферической крови животных.

Оборудование и реактивы:

1. Кровь сельскохозяйственных животных с антикоагулянтом.
2. Пробирки вакуумные с K_2EDTA
3. Стеклобюрки различного объёма
4. Цитрат Na 5%
5. Капилляры и прибор Панченкова
6. 3 % $NaCl$
7. 0,3% раствор уксусной кислоты
8. Пипетки и дозаторы объёмом 20 мкл, 200-1000мкл, 1-5 мл
9. Анализатор гематологический PCE 90Vet.
10. Детергент для гематологического анализатора
11. Дилуэнт для гематологического анализатора
12. Лизирующий раствор для гематологического анализатора
13. полуавтоматический биохимический анализатор Photometr5010.
14. Набор реактивов для геоглобинцианидного или гемихроного определения уровня гемоглобина в крови
15. Спирт этиловый 96%
16. Краситель Роавского-Гизы
17. Стекла предметные

Ход работы.

1. Постановка реакции СОЭ из крови с антикоагулянтом цитрат натрия 5% с использованием капилляров и аппарата Панченкова.
2. Соотношение крови и антикоагулянта при постановке реакции 3:1.
3. Оценка оседания скорости оседания эритроцитов через час в мм.
4. Постановка реакции СОЭ из крови с антикоагулянтом K_2EDTA
5. Оценка оседания скорости оседания эритроцитов через час в мм.
6. Приготовление мазков крови для подсчёта лейкоцитарной формулы
7. Высушивание приготовленных мазков крови

8. Фиксация высушенных мазков крови в этилово спирте в течение 20 минут.
9. Развести краситель Романовского-Гимзы дистиллированной водой в соотношении 1:10.
10. Окраска фиксированных мазков крови в разведено красителе Романовского-Гимзы.
11. Промывка мазков в проточной воде и высушивание.
12. Разведение 20 мкл крови с цитратом натрия в 4 мл раствора для определения гемоглобина.
13. Построение калибровочной кривой из калибровочных наборов гемоглобина согласно прилагаемой инструкции к коммерческим наборам
14. Определение концентрации гемоглобина на биохимическом гематологическом анализаторе Photometr5010.
15. Разведение 20 мкл крови с цитратом натрия в 4 мл раствора 3% хлорида натрия
16. Подсчёт числа эритроцитов в камере Горяева.
17. Разведение 20 мкл крови с цитратом натрия в 0,4 мл раствора 0,3% уксусной кислоты
18. Подсчёт числа лейкоцитов в камере Горяева.
19. Определение гематологических показателей в крови с антикоагулянтом К₂ЭДТА на гематологическом анализаторе PCE90Vet.

Лабораторная работа № 14 «Изучение биохимических показателей в сыворотке крови сельскохозяйственных животных»

Оборудование и реактивы:

1. Кровь сельскохозяйственных животных без антикоагулянтов.
2. Пробирки вакуумные с активатором сгустка
3. Стеклянные пробирки различного объёма
4. Центрифуга
5. Наборы коммерческих реактивов для биохимических исследований
6. полуавтоматический биохимический анализатор Photometr5010.
7. Дозаторы автоматические цифровые разного объёма

Ход работы.

1. Получение сыворотки крови путём центрифугирования.
2. Отделение полученной сыворотки.

3. Проведение биохимических анализов согласно инструкциям, прилагаемым к коммерческим наборам биохимических реактивов. Например:

Биохимические показатели.

Ферменты, изоферменты.

Лактатдегидрогеназу (ЛДГ) общую определяли кинетическим методом с использованием пирувата в качестве субстрата. Возрастание поглощения при длине волны 334-340-365 нм и рабочей температуре 25С°-30С°-37С°, соответствующее образованию лактата, пропорционально активности (ЛДГ). Для определения активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) в сыворотке и плазме крови динитрофенилгидразиновым методом (унифицированный метод Райтмана-Френкеля) использовали наборы реактивов «ТРАНСАМИНАЗА-АЛТ-НОВО), производства ЗАО «Вектор-Бест» и диагностические наборы фирмы «REANAL», Венгрия. Определение активности АЛТ в сыворотке крови основано на измерении оптической плотности 2,4-динитрофенилгидразонов L-глутаминовой и пировиноградной кислот, образовавшихся в результате реакции L-аланина и П-кетоглутарата под действием АЛТ. Динитрофенилгидразон в щелочной среде вызывает цветную реакцию красно-коричневого цвета. Измерение оптической плотности производится при длине волны 490 нм. Гидразон пировиноградной кислоты обладает гораздо более высокой оптической плотностью, чем гидразон L-глутаминовой кислоты. Концентрация образовавшегося гидразона пировиноградной кислоты пропорциональна активности АЛТ.

Методика определения активности аспаратаминотрансферазы (АСТ) аналогична предыдущей для АЛТ. Оксалацетат, образовавшийся в результате реакции L-аспатата и П-кетоглутарата под действием АСТ, и пируват, образовавшийся в результате декарбоксиляции оксалацетата образуют с 2,4динитрофенилгидразином динитрофенилгидразон, который в щелочной среде вызывает цветную реакцию. Использовали реактивы ЗАО

«ВекторБест» «ТРАНСАМИНАЗА – АСТ-НОВО» и диагностические наборы фирмы «REANAL», Венгрия.

Математически вычисляли коэффициент Де Ритиса.

Гамма-глутамилтрансферазу (ГТТФ) определяли кинетическим методом с использованием L-глутамил-3-карбоксит-4-нитроанилида в качестве субстрата. Возрастание поглощения при 405 нм, соответствующее образованию 4-нитранилина пропорционально активности ГТТФ.

Креатинфосфокиназу (КФК) определяли кинетическим методом после реактивации N-ацетил-цистеином при длине волны 340 нм.

Активность общей и простатической кислой фосфатазы (КФ) в сыворотке крови определяли, основываясь на гидролизе p-нитрофенилфосфата (pNpp) в кислой среде с образованием p-нитрофенола (pNp). Активность общей КФ пропорциональна интенсивности окраски pNp в щелочной среде (после постановки реакции) и измеряется фотометрически при длине волны 405 нм. Простатическая – тартрат-лабильная фосфатаза определяется по разности общей активности и остаточной активности, полученной в присутствии тартрата. Использовали наборы реагентов ЗАО «Вектор-Бест» «ФОСФАЦИД – НОВО» для фотометрического определения активности КФ (общей и простатической) в сыворотке крови.

Принцип определения щелочной фосфатазы (ЩФ) основывался на гидролизе p-нитрофенилфосфата (pNpp) ферментом с образованием свободного p-нитрофенола (pNp). В щелочной среде pNp окрашен в жёлтый цвет, интенсивность которого пропорциональна ферментативной активности ЩФ, измеряемой фотометрически при длине волны 400 – 420 нм. Использовали наборы реактивов ЗАО «Вектор-Бест» «НОВОФОСФАЛ».

Антиоксидантный статус оценивали, исследуя активность каталазы в эритроцитах. Перекись водорода (H_2O_2) образует с молибденом перекисные соединения жёлтой окраски, интенсивность которой зависит от количества H_2O_2 в растворе, неразрушенной каталазой, то есть от активности каталазы в пробе.

Общий белок и белковые фракции.

Общий белок изучался рефрактометрическим методом. Белковые фракции определяли турбодиметрическим (нефелометрическим) методом, основанном на том, что различные белковые фракции сыворотки крови способны осаждаться фосфатными растворами определённой концентрации. При этом образуется очень мелкая взвесь и раствор мутнеет. По степени мутности раствора, устанавливаемой фотометрически, судят о концентрации белков в исследуемой пробе. Небелковые азотистые компоненты крови.

Концентрацию мочевины в сыворотке крови определяли так же ферментативным уреазным методом, с использованием реактивов ЗАО «Вектор-Бест» «Новокарб». Принцип метода состоит в том, что под действием уреазы мочевины разлагается на углекислый газ и аммиак, последний в реакции с салицилатом натрия и гипохлоридом натрия в присутствии нитропруссид натрия образует окрашенное вещество, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации мочевины и измеряется при длине волны 640 нм.

Анализ свободных аминокислот крови проводили на автоматическом аминокислотном анализаторе чехословацкого производства ААА881. Содержание креатинина в сыворотке крови определяли с использованием набора реактивов чешского производства «LACHEMA» и с использованием реактивов ЗАО «Вектор-Бест» «Креатинин-ново». Принцип метода основан на реакции Яффе: в щелочной среде креатинин взаимодействует с пикриновой кислотой с образованием оранжево-красной окраски, которую измеряют фотометрически.

Концентрацию мочевой кислоты (МК) определяли методом, основанным на реакции Триндера. МК под действием уриказы образует аллантаин и эквимолярное количество H_2O_2 , которая под действием пероксидазы (ПОД) окисляет 4-аминоантипирин (4-АПП) в присутствии фенола в окрашенное соединение розового цвета.

Исследование углеводного обмена

Концентрацию глюкозы в сыворотке крови определяли

глюкозооксидазным методом, основанном на том, что при окислении β -D-глюкозы кислородом воздуха при каталитическом действии глюкозооксидазы (ГОД) образуется эквимольное количество H_2O_2 . Под действием ПОД H_2O_2 окисляет 4-АПП в присутствии фенола в окрашенное соединение розово-малинового цвета, определяемое фотометрически.

Использовали наборы реактивов ЗАО «Вектор-Бест» «Новоглюк».

Показатели липидного обмена

Концентрацию триглицеридов определяли ферментативным методом. Триглицериды ферментативно гидролизуются под действием липопротеинлипазы до глицерола, с последующим фосфорилированием с помощью глицеролкиназы. Глицерол-3-фосфат окисляясь кислородом воздуха при каталитическом действии глицеролпероксидазы образует эквимольное количество H_2O_2 . Под действием ПОД H_2O_2 окисляет 4-АПП в присутствии фенола в окрашенное соединение розового цвета.

Концентрацию общего холестерина в сыворотке крови определяли ферментативным методом с использованием набора реактивов «НОВОХОЛ», производства ЗАО «Вектор-Бест». Принцип определения основан на использовании сопряжённых ферментативных реакций, катализируемых холестеролэстеразой, холестеролоксидазой и ПОД с образованием продукта розового цвета с максимумом поглощения при 500 нм, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации холестерина.

Некоторые показатели пигментного обмена.

Общий и конъюгированный билирубин устанавливали по реакции диазотирования билирубина диазосульфаниловой кислотой в присутствии ускорителя реакции кофеина-бензоата натрия (общий билирубин) и в отсутствие ускорителя (конъюгированный билирубин). В результате реакции образуется раствор красного цвета с максимумом поглощения при длине волны 535 нм (510 – 550 нм), интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации билирубина. Использовали наборы

реактивов ЗАО «Вектор-Бест» «НОВОБИЛ», для определения общего и конъюгированного билирубина в сыворотке крови.

Показатели водно-солевого и минерального обмена.

Концентрацию K^+ и Na^+ определяли электрохимическим (ионоселективным) методом.

Хлориды сыворотки крови определяли с помощью набора реагентов для определения концентрации хлоридов в биологических жидкостях колориметрическим методом без депротеинизации. CHLORIDE “E -FL” фирмы «Витал Диагностикс», Санкт-Петербург. Принцип метода: в присутствии ионов хлора в кислой среде тиоцианат ртути образует тиоцианат-ионы, образующие окрашенный комплекс с Fe^{3+} .

Концентрацию кальция (Ca) изучали колориметрически без депротеинизации при длине волны 578 нм (550-590) нм, при помощи набора реактивов КАЛЬЦИЙ – СРС, производимого немецкой фирмой «BIOCON». Так же использовали наборы реактивов для определения Ca в биологическом материале (Ca 130) фирмы «ЛАНЕМА», Чехия. Принцип этого метода состоит в том, что Ca образует с глиоксаль-бис-(2-оксианилом) в щелочной среде комплекс красного цвета, который определяется фотометрически. Использовали наборы реактивов «Кальций – ново» ЗАО «Вектор-Бест». Принцип метода, используемого в этих наборах состоит в том, что в кислой среде ионы Ca взаимодействуют с индикаторным реактивом Арсеназо-III с образованием комплекса малинового цвета, интенсивность окраски которого пропорциональна содержанию Ca

Тема 8.2 . Цитогенетические методы индикации мутагенных факторов среды

Лабораторная работа № 15 «Приготовление цитогенетических препаратов сельскохозяйственных животных»

Оборудование и реактивы

1. Кровь сельскохозяйственных животных с антикоагулянтом гепарин.
2. Предметные стекла
3. Питательная среда Хэнкса
4. Водоструйный насос
5. Колхицин
6. Стрептомицин для подавления роста бактерий
7. Термостат
8. Дозаторы автоматические разного объёма
9. Уксусная кислота концентрированная
10. Спирт метиловый 96:
11. Груши медицинские малого объёма
12. Флаконы стерильные
13. Пипетки стеклянные
14. Спиртовка
15. Центрифуга
16. хлорид калия 0,54%
17. Шкаф ламинарный
18. Пинцеты стерильные
19. Краситель Гимзы

Ход работы:

Для цитогенетического исследования использовалась наиболее распространённая методика получения препаратов хромосом из лимфоцитов периферической крови животных.

Кровь животных, взятая в стерильных условиях в пробирки, заправленные гепарином (5-6 капель) и питательной средой №199. Доставка крови в лабораторию осуществляется при температуре 5-6° С (в сумке-холодильнике или в термосе). Кровь подвергается центрифугированию при 1000 об/мин в течении 15 минут. После расслоения крови, в стерильных условиях, собирается средний слой лейкоцитов. Во флакон добавляется питательная среда №199 (120 мл), сыворотка эмбрионов телёнка (2,2 мл), пенициллин и стрептомицин (50 мг/мл). Полученная культура клеток разливается в пенициллиновые флаконы по 3 мл и культивируются 72 часа при температуре 37° С. За 1,5 часа до окончания культивирования в каждый флакон вводится по 0,3 мл 0,04 % колхицина. Затем культура

центрифугируется при 1000 об/мин 10 минут. Надосадочная жидкость сливается, к осадку приливается 0,54 % KCl (температура раствора 37° C). После 10 минут центрифугирования надосадочная жидкость сливается, а в пробирку заливается фиксатор (смесь метанола и ледяной уксусной кислоты 3:1, охлаждённая до 4° C). Общее время фиксации должно быть не менее 40 минут. Фиксатор заменяется свежим до тех пор, пока надосадочная жидкость не станет прозрачной, а осадок не приобретёт чистый белый цвет. В последней порции фиксатора (0,5мл) осадок ресуспензируется и пипеткой раскапывается на предметные стёкла с высоты 20 –40 см., стекло проносится над пламенем горелки.

Препараты окрашивать рутинным методом.

Наиболее простой метод окрашивания хромосом, называемый в настоящее время сплошным или рутинным, применяют для определения количества хромосом в препарате и выявления геномных мутаций и анеуплоидий. При этой окраске используют краситель Гимзы, который равномерно прокрашивает хромосомы по всей длине, что дает возможность идентифицировать хромосомы и оценить их количество в препарате. Этот метод окраски успешно позволяет выявить этиологию большинства хромосомных синдромов, характеризующихся изменением количества хромосом. В настоящее время сплошное окрашивание применяют, в основном, для выявления количественных аномалий кариотипа, а также специфического сайта ломкости.

загрязнению

Тема 9.1 Заболеваемость разных пород и видов животных в условиях радиоактивного, химического и биологического загрязнения среды

Лабораторная работа № 16 «Анализ гематологических и цитогенетических препаратов разных видов сельскохозяйственных животных»

Оборудование и реактивы:

1. Мазки периферической крови окрашенные по Романовскому
2. Мазки метафазных препаратов хромосом, окрашенные рутинным методом.
3. Световой микроскоп,
4. Иммерсионное масло
5. Счетчик гематологический для подсчета лейкоцитарной формулы.

Ход работы:

1. Настроить световой микроскоп на просмотр препаратов с иммерсией (7х90, 10х90).
2. Подсчёт лейкоцитарной формулы в мазках крови, окрашенных по Романовскому с дифференциацией следующих субпопуляций лейкоцитов: эозинофилы, базофилы, палочкоядерные нейтрофилы, сегментоядерные нейтрофилы, лимфоциты, моноциты,
3. Отмечаются незрелые формы нейтрофилов: миелоциты, бласты.
4. Посчёт ведётся на 100 клеток
5. Оценивается размер и форма эритроцитов: анизоцитоз и пойкилоцитоз
6. Оценивается гипохромия или гиперхромия эритроцитов.
7. Учитываются дегенеративные формы лейкоцитов, степень токсической зернистости.
8. Световое микроскопирование фиксированных и окрашенных препаратов метафазных хромосом.
9. Для адекватного выявления хромосомных аномалий необходимо проанализировать не менее 30 метафазных пластинок.
10. Проанализируйте качество полученных препаратов и

сформулируйте важнейшие моменты, на которые необходимо всегда обращать внимание при подготовке препаратов хромосом (стерильность, точное соблюдение длительности всех операций и прочие факторы).

10. Подготовьте микроскоп к работе.

11. Найдите метафазную пластинку, пригодную для анализа (с хорошим разбросом хромосом, без наложений)

12. Проанализируйте одну метафазную пластинку. Зарисуйте её. На рисунке изобразите все наблюдаемые хромосомы. Каждую из них подпишите – к какой группе относится. Подсчитайте хромосомы на рисунке и на метафазной пластинке.

13. Производится подсчёт хромосом в других метафазных пластинках

14. Оценивается степень пloidности, гипер- и гипопloidия.

15. Учитывают хромосомные aberrации: разрывы, фрагменты, образование ассоциаций

Тема 9.2. Принципы создания популяций животных, устойчивых к загрязнению среды

Содержание темы:

В селекционные программы по совершенствованию пород сельскохозяйственных животных традиционно включается оценка наиболее важных хозяйственно полезных признаков, при этом недостаточное внимание уделяется изучению интерьерных параметров, использование которых позволило бы успешнее осуществлять подбор и в целом контролировать селекционный процесс по созданию популяций животных, устойчивых к загрязнению среды.

В настоящее время у некоторых видов сельскохозяйственных животных уже достигнуто или в недалёком будущем будет достигнуто биологическое плато по многим селекционируемым признакам. Возможно, скоро будет пересмотрена и стратегия селекции животных, при этом основными селекционируемыми признаками будут резистентность к болезням, стрессам, экологически неблагоприятным факторам. Но уже сейчас в связи с назревающей проблемой потребления человеком экологически безопасной продукции животноводства всё острее становится проблема повышения устойчивости животных к чрезмерным антропогенным нагрузкам. Поэтому

актуальным является вопрос экологоэкономического плато продуктивности, которое будет ниже биологического плато.

Сейчас уже имеются и в дальнейшем будут получены выдающиеся животные с уникальными генотипами, обуславливающими высокую продуктивность, жизнеспособность, устойчивость к заболеваниям, приспособленность к условиям среды, а также с низким «генетическим грузом». И через сотни лет эти генотипы могут быть в какой-то мере повторены, но часто не превзойдены.

Для всех видов, для которых существуют или будут разработаны способы длительной консервации гамет, предложен (В.Л. Петухов, Л.К. Эрнст, О.С. Короткевич) метод сохранения в течение десятков поколений высокого генетического сходства с родоначальником без применения тесного инбридинга. Предлагаемая схема импульсно-циклического способа создания линий позволяет при отдалённых и умеренных степенях инбридинга поддерживать высокое генетическое сходство потомков с родоначальником линии – на уровне 33,2 – 57,12 %. Принципиальная сущность этого способа заключается в том, что от выдающегося родоначальника получают продолжателей линии (сыновей, внуков, правнуков), которых оценивают по качеству потомства, по комплексу признаков. В дальнейшем правнучек и праправнучек спаривают с родоначальником линии, при этом у получаемого потомства коэффициент генетического сходства с родоначальником составляет от 53,12 до 56,25 % вместо 3,12 – 6,25 % при разведении по линиям без использования инбридинга.

К моменту использования спермы выдающегося производителя можно получить огромную информацию о его генотипе, продуктивности, жизнеспособности, устойчивости потомков к различным заболеваниям, стрессам и вредным экологическим факторам, носительстве летальных и сублетальных генов. На основе этого возможно создание банка ценных генов и его использование для генной и хромосомной инженерии.

В дальнейшем потомство шестого и восьмого поколений опять осеменяют спермой родоначальника линии. Коэффициент инбридинга при этом составит от 3,31 до 7,03 % и сохранится высокое генетическое сходство с родоначальником – 53,32 – 57,03 %. Такую цикличность использования глубокозамороженной спермы выдающегося родоначальника необходимо сохранять и в последующих поколениях. При подобном ведении линий проводят комплексную оценку производителей каждого поколения. В пределах конкретной линии возможно получение новых выдающихся родоначальников с таким же последующим их использованием.

Импульсно-циклический способ необходим для создания линий животных, резистентных не только к воздействию неблагоприятных факторов внешней среды, но и устойчивых к различным болезням.

Изучается возможность использовать непрямую селекцию по генетическим или биохимическим маркерам (индикаторам) для повышения

устойчивости к неблагоприятным экологическим факторам. Маркёрные признаки должны характеризоваться:

- 1) достаточно высокой (для практического применения) генетической корреляцией к воздействию антропогенных факторов;
- 2) высокой наследуемостью;
- 3) высокой повторяемостью;
- 4) ранним проявлением – для оценки устойчивости животных в раннем возрасте.

Отмечено, что у значительной части крупного рогатого скота, находящегося в хозяйствах, загрязнённых радионуклидами, заболевания лейкозом не отмечалось (Незавитин,1995). Возможно, это происходило потому, что животные обладали определённой индивидуальной устойчивостью, что позволило им противостоять развитию лейкозного процесса в неблагоприятных условиях среды. Эта часть животных представляет большую ценность в селекционном процессе. Поэтому на сегодняшний день является актуальным выявление и использование особей с относительно стабильным кариотипом при проведении целенаправленной работы по совершенствованию существующих и созданных новых популяций животных, устойчивых к загрязнению среды.

Исходя из этого, необходимо постоянно формировать базы данных комплексного изучения интерьера животных, что позволит всесторонне оценивать экологическую пластичность селекционируемых популяций в условиях антропогенного воздействия и планировать проведение долгосрочного мониторинга.

Словарь терминов.

Аберрация хромосомная – тип мутации, в результате которой происходит нарушение структуры хромосомы.

Автотроф — организм, ассимилирующий энергию либо солнечного света (зеленые растения), либо неорганических веществ (серные бактерии). См. также *Гетеротроф*.

Адаптор – транспорт молекулой тРНК аминокислоты к мРНК, во время трансляции.

Адаптация. Морфологический или функциональный признак организма, позволяющий ему лучше приспособиться к условиям существования; эволюционный процесс, посредством которого организмы приспосабливаются к окружающей среде.

Адаптивная зона — тот или иной особый тип среды, требующий специфических приспособлений. Виды, обитающие в разных адаптивных зонах, обычно различаются по многим морфологическим или физиологическим признакам.

Адаптивное значение. Мера успешности размножения одного организма (генотипа) по сравнению с другими организмами (генотипами); синоним – *селективное значение*.

Адаптивная радиация — возникновение эволюционного разнообразия среди видов, происходящих от общего предка, но расселившихся по разным экологическим нишам.

Аддитивные гены - Гены взаимодействующие друг с другом при определении признака, но не проявляющие ни доминирования (если они аллельны), ни эпистаза (если они находятся в разных локусах).

Аддитивная варианса. Генетическая варианса, обусловленная действием аддитивных генов.

Аддитивная варианса. Генетическая варианса, обусловленная действием аддитивных генов.

Азотистые основания - основания входящие в состав нуклеиновых кислот.

Акклимация — обратимое изменение в морфологии или физиологии организма, возникающее в ответ на изменение в окружающей среде.

Аллель – Одна из двух или большего числа альтернативных форм гена, каждой из которых свойственна уникальная последовательность нуклеотидов. Однако обычно различные аллели данного гена распознают по их фенотипическому проявлению, а не путем сравнения нуклеотидных последовательностей.

Аллелопатия — непосредственное подавление одних видов другими при помощи вредных или ядовитых химических веществ.

Аллопатрические популяции. Популяции, населяющие различные части ареала вида (ср. *Симпатрические популяции*).

Аллоферменты (аллозимы). Альтернативные формы ферментов, кодируемые различными аллелями одного и того же локуса.

Аллотипы – генетически детерминированные антигенные варианты сывороточных белков, по которым различаются особи одного вида

Аллотетраплоид - особи имеющие диплоидный набор хромосом двух видов.

Амбер-кодон - триплет УАГ в РНК, один из трех бессмысленных кодонов, обуславливающих терминацию белкового синтеза.

Амбер-мутация - любое изменение в ДНК, приводящее к появлению амбер-кодона.

Амейоз (нем. Ameiose; англ. ameiosis) - выпадение мейоза и его замена эквационным делением ядра.

Аминокислоты. Соединения, из которых построены молекулы белков. Всего известно несколько сотен аминокислот, однако в состав белков обычно входит лишь 20 из них .

Амитоз (нем. Amitose; англ. amitosis) (Flemming, 1882 г) - в отличие от непрямого (митоз), прямое деление ядра.

Аммонификация — расщепление белков и аминокислот, при котором в качестве побочного продукта выделяется аммиак.

Амплификация - образование дополнительных копий хромосомных последовательностей, обнаруживаемых в хромосомной или внехромосомной ДНК, увеличение числа копий определённого фрагмента ДНК.

Анализирующее скрещивание - скрещивание с рецессивной родительской формой (*aa*)

Андрогенез - мужской партеногенез. После оплодотворения яйцеклетки материнское ядро элиминируется, и возникающий гаплоидный организм, который называется андрогенетическим, содержит только хромосомный набор отца.

Антигены - инородные вещества проникшие в организм, которые вызывают иммунный ответ (реакцию) синтез антитела.

Антикодон - триплет, занимающий определенное и постоянное положение в структуре молекулы тРНК; комплементарно взаимодействует с кодоном (или кодонами) мРНК.

Антитело. Белок, вырабатываемый иммунной системой высших организмов, который специфическим образом связывает молекулы чужеродных веществ (антигены). Синтез антител начинается в ответ на появление в организме антигенов.

Антимутагены - агенты, обладающие способностью понижать частоту спонтанных или индуцированных мутаций.

Апвеллинг — вертикальные течения, обычно вблизи берегов, выносящие питательные вещества из глубин океана в поверхностные слои.

Апомиксис - замена полового размножения другим, неполовым процессом, не связанным со слиянием ядер или клеток (у зоологических объектов партеногенез).

Анеуплоидия – изменение числа хромосом, не кратное гаплоидному набору, вследствие утраты или добавления одной или нескольких хромосом.

а-Разнообразие— см. *Разнообразие*.

Ассортативное (преимущественное) скрещивание. Неслучайный выбор брачного партнера в отношении какого-то одного или нескольких признаков. Ассортативное скрещивание положительно (отрицательно), когда частота скрещиваний между сходными (различающимися) особями больше, чем можно было бы ожидать при случайном выборе (ср. *Случайное скрещивание*)

Ассоциация — группа видов, обитающих в одном месте.

Аутбридинг. Скрещивание между генетически различными, а не близкородственными особями.

Аутосомы – все хромосомы, кроме половых; в диплоидной клетке имеется по две копии каждой аутосомы.

Аутэкология — изучение живых организмов в связи с окружающей их физической средой.

Базиген – нормальный аллель серии множественных аллелей.

Бактериофаги (фаги) – вирусы, инфицирующие бактерии.

Белок. Полимер, состоящий из одно из одной или нескольких полипептидных субъединиц и обладающий характерной трехмерной структурой, определяемой последовательностью входящих в его состав аминокислотных остатков.

Бентосные организмы — организмы, обитающие на дне рек, озер и океанов.

Белок-репрессор – способен связываться с оператором на ДНК или с РНК, предотвращая соответственно транскрипцию или трансляцию.

Бессмысленный кодон – один из трех триплетов, УАГ, УАА, УГА, вызывающих терминацию синтеза белка (УАГ известен как amber-кодон, УАА – как ochre-кодон, УГА – как opal-кодон).

β-Разнообразие — см. *Разнообразие*.

Библиотека генома – набор клонированных фрагментов ДНК, содержащий весь геном.

Биометрия – наука о приложении математических методов для изучения живых организмов.

Биоразнообразие – все виды растений, животных, микроорганизмов, а также экосистемы и экологические процессы, частью которых они являются.

Биотехнология – комплексная многопрофильная область научнотехнического прогресса, включающая разнообразный микробиологический синтез, генетическую и клеточную инженерию, инженерную энзимологию,- использование знаний условий и последовательности действия белковых ферментов в организме растений, животных и в промышленных реакторах.

«Бутылочное горлышко». Период, когда популяция состоит всего из нескольких особей.

Варианса (дисперсия). Мера изменчивости, вычисляемая по сумме квадратов разностей между индивидуальными значениями признака и средним по выборке.

Ведущая цепь – цепь ДНК, синтезирующаяся непрерывно в $5' \rightarrow 3'$ направлении.

Вектор для клонирования – любая плаزمиды или фаг, в которые может быть встроена чужеродная ДНК с целью клонирования.

Веретено – структура, образующаяся в процессе деления эукариотической клетки; после растворения ядерной оболочки к веретену с помощью микротрубочек прикрепляются хромосомы.

Ветеринарная генетика – наука, изучающая наследственные аномалии и болезни с наследственной предрасположенностью, разрабатывающая методы диагностики, генетической профилактики и селекции животных на устойчивость к болезням.

Вид — группа фактически или потенциально скрещивающихся между собой популяций, которые репродуктивно изолированы от всех других организмов.

Видообразование. Процесс образования видов.

Вирулентность – степень патогенности в отношении животных определенного вида.

Влажность завядания — минимальное содержание влаги в почве, при котором растения в состоянии получать ее.

Внутривидовая конкуренция — конкуренция между особями, принадлежащими к одному и тому же виду.

Восприимчивость – предрасположенность организма к действию физических, химических и биологических факторов, приводящих к патологическому состоянию.

Время генерации — средний возраст, в котором самка приносит потомство.

Врождённая аномалия – отклонение, имеющееся при рождении.

Вставки (инсерции) – обнаруживаются благодаря присутствию в ДНК дополнительных пар оснований.

Вторичная сукцессия — смена сообществ в местообитаниях, в которых климаксное сообщество было нарушено или совершенно уничтожено.

Вторичное отношение полов. См. *Отношение полов.*

Выживаемость — доля новорожденных особей, дожившихся до определенного возраста.

Врожденность генетического кода – соответствие нескольких кодонов одной аминокислоте. Замена в третьем основании кодона не всегда приводит к замене аминокислоты.

Выщелачивание — вымывание растворимых соединений из органических остатков или из почвы.

Гамета – Зрелая репродуктивная клетка, способная при слиянии с аналогичной клеткой другого пола образовать зиготу и содержащая гаплоидный набор хромосом.

Гаметогенез – процесс развития половых клеток.

Гаплоидный набор хромосом – содержит по одной копии каждой аутосомы и одну половую хромосому; гаплоидное число хромосом (n) является характеристикой гамет.

Гаплотип – совокупность сцепленных генов одной хромосомы, контролирующих аллогруппу.

Гемизиготность – наличие в хромосомном наборе особи только одной аутосомы из пары гомологичных аутосом, одной половой хромосомы (ХО) или пары разных половых хромосом (ХУ).

Гемизиготный ген. Ген, присутствующий в генотипе лишь в одном экземпляре (копии).

Ген - Последовательность нуклеотидов в геноме организма, которой может быть приписана определенная функция, иными словами, ген – это нуклеотидная последовательность, либо кодирующая полипептид, либо определяющая ту или иную транспортную РНК, либо необходимая для правильной транскрипции какого-то другого гена.

Генеративные мутации – мутации, происходящие в половых клетках.

Генетика – наука о наследственности и изменчивости живых организмов.

Генетическая аномалия - морфофункциональное нарушение в организме животного, возникающее в результате генных или хромосомных мутаций.

Генетическая варианса. Доля фенотипической вариансы, обусловленная различиями в генетической организации особей в популяции.

Генетический груз - совокупность вредных генных и хромосомных мутаций.

Генетический дрейф. См. *Случайный генетический дрейф.*

Генетический код - совокупность кодонов (триплетов), кодирующих аминокислоты.

Генетический полиморфизм - долговременное существование в популяциях двух и более генотипов с частотой (1% и более), превышающих вероятность возникновения повторяющихся мутаций.

Ген-модификатор. Ген, который при взаимодействии с другими генами изменяет их фенотипическое проявление.

Генная инженерия - раздел биотехнологии, связанный с целенаправленным конструированием *in vitro* новых комбинаций генетического материала, способного размножаться в клетке и синтезировать определенный продукт.

Генные (точковые) мутации - изменения в структуре ДНК.

Генный баланс - соотношение и взаимодействие всех генов, влияющих в той или иной степени на признак.

Геном - 1. Полный гаплоидный набор генов или хромосом клетки или организма. 2. Весь генетический материал клетки, организма.

Геномика – раздел молекулярной генетики, изучающий геном, индивидуальные гены на молекулярном уровне, структуру (сиквенс) гена, его экспрессию и механизм редукции активности, клонирование генов и использование их в генно-инженерных целях

Геномные мутации – мутации, обуславливающие изменения числа хромосом в кариотипе.

Генотип - Вся генетическая информация, содержащаяся в организме; генетическая организация особи в одном или нескольких рассматриваемых локусах (ср. *Фенотип*); совокупность генов организма.

Генотипическая среда - комплекс генов организма, в котором происходит действие изучаемого гена.

Генофонд - совокупность аллелей (генов) одной популяции (породы и т.д.), характеризующихся определенной частотой.

Гены-модификаторы - гены, не проявляющие собственного действия, но усиливающие или ослабляющие эффект действия других генов.

Гермафродит - особь, имеющая гонады и (или) половые органы противоположного пола.

Гетерогаметный пол - Пол, образующий гаметы двух типов, в которых содержится по одной из двух различных половых хромосом; характеризуется хромосомным набором $2A+XY$.

Гетерогамные скрещивания. Скрещивания между особями, взятыми из различных популяций вида.

Гетерозигота - диплоидный организм, в гомологичных хромосомах которого находятся две разные аллели данного гена (Aa).

Гетерозиготность. Доля особей, гетерозиготных по данному локусу, или доля гетерозиготных локусов в генотипе особи.

Гетерозис - гибридная мощьность, превосходство гибридов в отношении какого-то одного или по ряду признаков над обеими родительскими формами; синонимы: *гибридная сила* и *гибридная мощьность*.

Гетеротроф — организм, использующий в качестве источника энергии и питательных веществ материалы органического происхождения. См. также *Автотроф*.

Гетерохроматин - генетически неактивные участки хромосом постоянно находятся в конденсированном состоянии.

Гибридизация - процесс взаимодействия комплементарных цепей РНК и ДНК, образующих гибриды РНК – ДНК.

Гибридома - клеточный гибрид, получаемый слиянием нормального лимфоцита, продуцирующего антитела, и опухолевой клетки; обладает способностью синтезировать моноклональные антитела.

Гидрическая сукцессия — последовательный ряд сообществ наземных растений, развивающийся в таких водных местообитаниях, как болота, в частности торфяные.

Гиполимнион — холодный, бедный кислородом слой воды в озере или другом водоеме, лежащий ниже зоны быстрого изменения температуры воды. См. также *Эпилимнион*.

Гистоны - белки, образующие в комплексе с ДНК нуклеосомы – структурные единицы хроматина в ядрах эукариот.

Гликопротеиды - сложные белки, содержащие углеводные компоненты.

Гомеостаз - внутреннее постоянство организма.

Гомогаметный пол - характеризуется хромосомным набором $2A + XX$.

Гомогамные скрещивания. Скрещивания между особями одной и той же популяции или вида.

Гомозигота - Клетка (или организм), содержащая в данном локусе гомологичных хромосом одинаковые аллели. (AA, aa).

Гомологи - хромосомы, имеющие одинаковые генетические локусы; диплоидная клетка обладает двумя копиями каждого гомолога, по одной от каждого родителя.

Гомозиготность. Доля особей, гомозиготных по данному локусу, или доля гомозиготных локусов в генотипе особи.

Гомологичные хромосомы. Хромосомы или участки идентичные в отношении последовательности локусов и видимой структуры; в процессе эволюции возникают также гомологичные гены и различные структуры, сходные между собой в силу их происхождения от общего предка.

Гомойотермные (теплокровные) организмы — организмы, способные поддерживать постоянную температуру тела, несмотря на изменения температуры окружающей среды.

Гоносомы – половые хромосомы (X или Y).

Гормезис – эффект действия радиации в малых дозах, проявляющийся в адаптивном ответе, стимуляции пролиферации, активации разных биологических процессов.

График серийного замещения — график, выражающий исход конкуренции между двумя видами в экспериментах, в которых изначальное соотношение этих видов было различным.

Дарвиновская приспособленность. Относительная приспособленность одного генотипа по сравнению с другим, оцениваемая по его вкладу в следующие поколения.

Двунаправленная репликация - репликация, при которой две репликационные вилки движутся в противоположных направлениях от общего старта.

Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК). Полинуклеотид, содержащий в качестве углеводного остатка дезоксирибозу; представляет собой основной генетический материал всех клеток.

Деления – хромосомная мутация, в результате которой определенная последовательность нуклеотидов утрачивается (ср. *Дупликация*).

Демографические таблицы — совокупность важнейших статистических данных о популяции: число особей, доживающих до каждого возраста, и плодовитость самок каждого возрастного класса.

Денатурация ДНК или РНК - переход этих молекул из двухцепочной формы в одноцепочную; разделение цепей наиболее часто достигается нагреванием.

Денитрификация—восстановление микроорганизмами нитратов и нитритов до азота.

Детритоядные организмы — организмы, питающиеся мертвым или частично разложившимся органическим веществом.

Дианауза — временное прекращение развития яиц или личинок насекомого, обычно связано с неблагоприятным временем года.

Дигибридное скрещивание - скрещивание, при котором у родителей учитывается два признака, контролируемых двумя локусами.

Диплоид – организм или клетка с двойным ($2n$) набором хромосом.

Дискордантность - проявление признака только у одного из близнецов.

ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) – биологическая макромолекула, носитель и хранитель генетической информации. См. *Дезоксирибонуклеиновая кислота*.

Домен в молекуле белка - участок аминокислотной последовательности, связанной с определенной функцией.

Доминирование - проявление действия лишь одного из аллелей у гетерозиготного организма.

Дрейф генов (генетико-автоматические процессы) - изменение генетической структуры численно ограниченной популяции в результате действия случайных причин.

Дупликация – абберрация, при которой удвоен какой-либо участок хромосомы.

Дыхание — использование кислорода для метаболического разрушения органических соединений с целью извлечения заключенной в них химической энергии.

Емкость среды — число особей, потребности которых могут быть удовлетворены ресурсами данного местообитания.

Естественный отбор — изменение частоты генетических признаков в популяции в результате избирательного выживания и размножения особей, обладающих этими признаками.

Жизненная форма — характерное строение животного или растения.

Заболеваемость - частота заболеваний в популяции или болезненность, болезненное состояние.

Заболевание – возникновение болезни.

Зависящие от плотности факторы — факторы, влияние которых на особей, составляющих популяцию, изменяется с изменением плотности популяции.

Закон Харди-Вайнберга. Принцип, согласно которому частоты генотипов могут быть предсказаны по частотам аллелей при условии случайного скрещивания.

Зигота - оплодотворенная яйцеклетка; образуется в результате слияния двух гамет. Диплоидная клетка.

Зоопланктон — см. *Планктон*.

Идентичные по происхождению гены. Два гена, имеющие одинаковые нуклеотидные последовательности в силу того, что оба происходят от общего предка.

Идиотипы - антигенные различия между антителами, принадлежащими к одному классу, субклассу и аллотипу у отдельных особей.

Идентичные по структуре гены. Два гена, имеющие одинаковые нуклеотидные последовательности независимо от того, происходят они от общего предка или нет.

Изолирующие механизмы. См. *Репродуктивные изолирующие механизмы*.

Изменчивость – свойство живых систем приобретать новые признаки, отличающие их от родительских форм.

Изотип - группа близкородственных иммунноглобулиновых цепей.

Иммунитет - невосприимчивость организма к инфекционным агентам и генетически чужеродным веществам антигенной природы.

Иммунная реакция - адаптивный ответ организма, вызывающий разрушение, нейтрализацию, отторжение или уничтожение генетически чужеродных веществ (бактерии, вирусы, простейшие и т.д.).

Иммунная система организма - совокупность всех лимфоидных клеток, обеспечивающих реализацию реакции иммунитета.

Иммунный ответ (иммунологическая реактивность) - высокоспецифическая форма реакции организма на чужеродные вещества (антигены).

Имуногенетика - наука, изучающая генетический контроль иммунного ответа, генетику несовместимости тканей при их пересадках, закономерности наследования антигенной специфичности, проблему поддержания генетического гомеостаза соматических клеток организма.

Иммуноглобулины (Ig) - сложные белки, специфически связывающиеся с чужеродными веществами-антигенами.

Иммунологическая память - способность при повторном контакте с антигеном узнавать и отвечать на него иммунологической реакцией.

Инбредная депрессия - явление снижения жизнеспособности и продуктивности, ухудшение воспроизводительной функции в результате инбридинга.

Инбридинг - спаривание (подбор) близкородственных особей.

Инверсия – аберрация, при которой происходит отрыв участка хромосомы, поворот его на 180° и присоединение на прежнее место.

Индекс непрерывности — искусственная шкала градиента того или иного фактора среды, основанная на изменениях в составе сообщества.

Индуктор - небольшая молекула, включающая транскрипцию гена за счет связывания с регуляторным белком.

Индукцированные мутации - возникают под действием мутагенного фактора.

Интерфаза - фаза клеточного цикла между митотическими делениями клетки; подразделяется на G1, и S, G2.

Интерференция - торможение кроссинговера на одном участке кроссинговером на другом.

Интерфероны - группа белков, образующихся в клетках при вирусных инфекциях и обеспечивающих неспецифический противовирусный иммунитет.

Интроны - последовательности внутри структурного гена, которые не участвуют в кодировании белкового продукта гена. После транскрипции гена последовательности, соответствующие интронам, удаляются из мРНК в процессе сплайсинга.

Ион — диссоциированные части молекулы, каждая из которых несет электрический заряд.

Искусственный отбор. Отбор человеком из поколения в поколение животных и растений, основанный на одном или нескольких наследуемых признаках.

Каличе — отложение щелочных солей на поверхности почвы, обычно происходящее в засушливых областях, где грунтовые воды подходят близко к поверхности.

Кальцификация — отложение в почве кальция и других растворимых солей в условиях, когда испарение сильно превосходит количество осадков.

Капсид - белковая оболочка вируса.

Кариотип - набор хромосом соматической клетки организма, характерный для вида по числу, форме и величине.

Карта хромосом - план расположения генов в хромосоме

Катион — часть диссоциированной молекулы, несущая положительный электрический заряд, обычно в водном растворе (например, Ca^{2+} , iNa^+ , $NH^+.$ H^+).

Квантовое видообразование. Быстрое возникновение новых видов, обычно в малых изолятах; как правило, важную роль при этом играют эффект основателя и случайный генетический дрейф. Синоним: *сальтационное видообразование*.

Клеточная инженерия - метод конструирования клеток нового типа на основе их культивирования, гибридизации и реконструкции.

Климакс — конечная стадия сукцессионной последовательности; сообщество, достигшее стационарного состояния при определенном наборе условий среды.

Климатический климакс — характерное для определенного климата сообщество, достигшее стационарного состояния.

Климограмма — диаграмма, на которую нанесен годичный цикл температуры и количества осадков для данной местности.

Клина. Постепенное изменение (градиент) частоты генотипов или фенотипов у ряда смежных популяций.

кДНК - одноцепочная ДНК, синтезированная обратной транскриптазой на матрице РНК.

Клон - совокупность клеток или особей, произошедших от общего предка путем бесполого размножения.

Кoadаптация. Согласованное взаимодействие генов; процесс отбора, в результате которого в популяции устанавливается согласованное взаимодействие генов.

Кодирующая цепь - та цепь ДНК, последовательность которой идентична мРНК.

Кодоминантные аллели - аллели, совместно проявляющиеся в гетерозиготе. Ни один не доминирует над другим.

Кодон - Группа из трех смежных нуклеотидов в молекуле мРНК, либо кодирующая определенную аминокислоту, либо обозначающая конец синтеза полипептидной цепи.

Количественная реакция — изменение величины популяции видахищника в результате изменения плотности его жертвы. См. также *Функциональная реакция.*

Количественный признак. Признак, имеющий количественное выражение.

Кольцо Бальбиани - гигантский пуф на меченой хромосоме.

Комбинативная изменчивость — наследственная изменчивость, возникающая в потомстве в результате новых сочетаний признаков и свойств при скрещиваниях.

Компенсационная точка — глубина воды, на которой процессы дыхания и фотосинтеза уравнивают друг друга; нижняя граница эвфотической зоны.

Комплементарная цепь - одна из цепей ДНК, используемая в качестве матрицы для синтеза РНК и комплементарная ей.

Конвергентная эволюция — развитие признаков, несущих одинаковые функции, у неродственных видов, которые обитают в среде одинакового типа.

Конкордантность - присутствие болезни у обоих близнецов.

Конкуренция — использование или защита какого-либо ресурса одной особью, снижающая доступность этого ресурса для других особей.

Контрадаптация — *развитие у двух или нескольких видов приспособлений, направленных против других видов.*

Конъюгация - один из способов обмена генетическим материалом у бактерий.

Косвенная конкуренция — использование какого-либо ресурса одной особью, уменьшающее его доступность для других особей. См. также *Прямая конкуренция*.

Коэффициент инбридинга. Вероятность того, что два гена (аллеля) в данном локусе идентичны по происхождению.

Коэффициент отбора. Интенсивность отбора, оцениваемая по относительному вкладу гамет в генофонд следующего поколения.

Кроссинговер - Обмен между гомологичными хроматидами, происходящий в процессе мейоза и лежащий в основе генетической рекомбинации.; если хроматиды имели разные наборы аллелей, то кроссинговер может быть выявлен по образованию генетически рекомбинантных хроматид.

Ксерическая сукцессия — последовательный ряд сообществ наземных растений, развивающийся в местообитаниях с хорошо дренируемой почвой.

Ксерические местообитания — местообитания, в которых продукция растений ограничивается доступностью воды.

Латеризация — выщелачивание силикатов из почвы, происходящее обычно в теплых влажных областях, где почва имеет щелочную реакцию.

Леталь. Ген (или хромосомная мутация), вызывающий гибель организма до достижения им половозрелости; если леталь доминантна, то погибают все ее носители, если же она рецессивна, то погибают только гомозиготы.

Летальные гены - гены, вызывающие гибель организма в 100% случаев.

Летальные мутации – мутации, несовместимые с жизнью.

Лигаза - фермент, способный устранять разрывы в молекуле ДНК, восстанавливая ковалентные связи между 5¹ - и 3¹ – концами молекул.

Лизогения - способность фага существовать в бактерии в виде профага, являющегося компонентом бактериального генома.

Лимфоциты-В - вид лейкоцитов, которые синтезируют и секретируют иммуноглобулины.

Лимфоциты –Т - вид лейкоцитов, которые выполняют различные функции в ходе иммунного ответа.

Локус - место в хромосоме, в котором картируется ген, отвечающий за определенный признак; локус может быть представлен любым аллелем данного гена.

Макроэволюция. Эволюция на уровне более высоких систематических категорий, чем вид; приводит к возникновению новых родов, семейств и других таксонов более высокого ранга.

Маркер (генетический) - любой аллель, используемый в эксперименте.

Медицинская генетика - наука, изучающая роль наследственности в патологии человека, закономерности передачи от поколения к поколению

наследственных болезней, разрабатывающая методы диагностики и профилактики наследственной патологии, включая болезни с наследственной предрасположенностью

Межвидовая конкуренция — конкуренция между особями, принадлежащими к разным видам.

Мейоз - два последовательных деления клетки (I и II мейотические деления), в результате которых образуется исходное гаплоидное число хромосом в каждой из четырех образовавшихся клеток. Эти клетки созревают и превращаются в гаметы (сперматозоиды и яйцеклетки).

Менделевская популяция. Группа скрещивающихся между собой организмов, образующая единый генофонд.

Метафаза – стадия митоза и мейоза, при которой хромосомы выстраиваются на экваторе клетки, образуя метафазную пластинку.

Микориза — тесная ассоциация между грибами и корнями деревьев, облегчающая последним поглощение минеральных веществ из почвы.

Мини-сателлитные последовательности (повторы) – простые tandemно повторяющиеся нуклеотидные последовательности генома эукариот с длиной повторяющейся части от 1 до 7 нуклеотидов.

Микросателлиты – присутствующие в эухроматине короткие tandemно повторяющиеся последовательности ДНК

Митоз - деление эукариотической соматической клетки.

Митохондриальные ДНК - небольшие кольцевые молекулы ДНК, присутствующие в митохондриях; кодируют некоторые компоненты митохондрий.

Мицелла — сложная почвенная частица, образующаяся в результате соединения гу-мусных и глинистых частиц и несущая на своей поверхности отрицательный заряд.

Модификационная изменчивость - ненаследственная фенотипическая изменчивость, возникающая под влиянием условий среды и не изменяющая генотип.

Мозаицизм - присутствие в организме клеток (точнее клонов) разного генотипа.

Молчащие мутации - не изменяют продукта, кодируемого геном.

Моногибридное скрещивание - скрещивание, при котором у родителей учитывается один признак, контролируемый одним локусом.

Моноцистронный оперон - кодирует один белок.

Мультимерные белки - состоят более чем из одной субъединицы.

Мутагенез – процесс возникновения мутаций.

Мутагены - факторы, увеличивающие частоту возникновения мутаций, вызывая изменения в ДНК.

Мутация – скачкообразное, стойкое изменение в структуре ДНК и кариотипе.

Мутуализм — взаимоотношения между двумя видами, выгодные для обоих.

Наследование - процесс передачи наследственной информации от одного поколения другому.

Наследственность - свойство организмов обеспечивать материальную и функциональную преемственность между поколениями, а также обеспечивать специфический характер онтогенеза в определенных условиях среды.

Наследственные болезни - болезни, вызываемые мутацией генов одного или нескольких локусов и сопровождающиеся появлением аномалий, уродств и т.д.

Наследуемость - в широком смысле – доля общей фенотипической вариации, остающаяся после исключения вариации, определяемой внешними условиями. В узком смысле – отношение аддитивной генетической вариации к общей фенотипической вариации.

Не зависящие от плотности факторы — факторы, влияние которых на особей, составляющих популяцию, не изменяется с изменением плотности популяции.

Непрерывная изменчивость. Изменчивость в отношении признака, по которому особи лишь слегка отличаются друг от друга, но не распадаются на четко очерченные классы.

Неравновесность по сцеплению. Неслучайное распределение частот аллелей, принадлежащих разным локусам.

Нерасхождение - неспособность хроматид (дублированных хромосом) расходиться к противоположным полюсам во время митоза или мейоза.

Неслучайное скрещивание. Система скрещивания, при которой частота скрещиваний различных типов между носителями каких-либо признаков отличается от частоты, ожидаемой при случайном скрещивании.

Нехватка - утрата концевых участков хромосом.

Нитрификация — разложение азотсодержащих органических соединений микроорганизмами с образованием нитратов и нитритов.

Новообразование - тип взаимодействия неаллельных генов, когда при их сочетании в одном организме развивается новая форма признака.

Норма реакции - генотипически определяемая способность организма изменять степень выраженности признаков в определенных пределах в зависимости от условий среды.

Нуклеоид - ядерная зона в прокариотической клетке; она содержит хромосому, но не окружена мембраной. Компактное образование у бактерий, содержащее ДНК.

Нуклеосома - основная структурная единица хроматина, состоящая из ~ 200 нуклеотидных пар ДНК и октомера гистоновых белков.

Образ искомого — поведенческий селективный механизм, дающий возможность хищникам повысить эффективность поисков жертвы, имеющейся в изобилии и представляющей; стоящую добычу.

Обратная транскриптаза - РНК-зависимая ДНК-полимераза – фермент, осуществляющий синтез ДНК на матрице РНК.

Общая продукция — суммарная энергия или питательные вещества, ассимилированные организмом, популяцией или сообществом в целом. См. также *Чистая продукция*.

Однонаправленная репликация - единственная репликационная вилка движется от определенной точки, называемой местом начала репликации.

Однонуклеотидные замены (полиморфизмы) – генные мутации, затрагивающие один нуклеотид.

Олиготрофный водоем — водоем с низким содержанием питательных веществ и низкой продуктивностью.

Онтогенез - индивидуальное развитие организма от оплодотворения яйцеклетки до естественной смерти.

Ооцит - женская половая клетка до оплодотворения.

Оперон - единица транскрипции и регуляции у бактерий, состоящая из структурных генов, регуляторного гена (генов) и контролирующих элементов, узнаваемых продуктами регуляторного гена.

Оподзоливание — распад и удаление глинистых частиц из кислых почв в областях с холодным и влажным климатом.

Осмоз — диффузия веществ, растворенных в воде, через клеточную мембрану.

Отбор. См. *Естественный отбор* и *Искусственный отбор*.

Отношение полов. Отношение числа мужских особей к числу женских (выражаемое иногда в процентах) сразу после оплодотворения (первичное отношение полов), у новорожденных (вторичное отношение полов) и при достижении половозрелости (третичное отношение полов).

Отрицательная обратная связь — стремление системы противодействовать вносимому извне изменению и возвращаться к устойчивому состоянию.

Палиндром - последовательность ДНК, которая остается неизменной, если на одной из цепей ДНК ее читать справа налево; состоит из прилежащих друг к другу инвертированных поворотов.

Панмиксия - свободное скрещивание.

Партеногенез -. Развитие организма из гаметы самки без участия гамет самца.

Патогенность - способность паразитировать в организме животного.

Пенетрантность - частота, с которой доминантный или рецессивный ген в гомозиготном состоянии проявляется фенотипически.

Первичная продуктивность — скорость ассимиляции (общая первичная продуктивность) или скорость накопления (чистая первичная продуктивность) энергии и питательных веществ зелеными растениями и другими автотрофами.

Первичная сукцессия — последовательность сообществ, развивающихся во вновь возникшем местообитании, лишенном жизни.

Пищевая сеть — абстрактное понятие, позволяющее представить себе различные пути потока энергии через популяции, составляющие сообщество.

Пищевая цепь — абстрактное понятие, позволяющее представить себе прохождение энергии через популяции, из которых складывается сообщество.

Плазида - кольцевая внехромосомная ДНК, способная к автономной репликации.

Планктон — мелкие взвешенные в воде растения (фитопланктон) и животные (зоопланктон).

Плейотропия - влияние одного гена на развитие двух или более признаков.

Плодовитость — скорость, с которой особь продуцирует потомков (обычно применительно к самкам).

Подвид. Популяция (или группа популяций), отличающаяся от других таких же популяций того же вида частотами генов, хромосомными перестройками или наследуемыми фенотипическими признаками. Между подвидами иногда наблюдается некоторая репродуктивная изоляция, недостаточная, однако, для того, чтобы считать их самостоятельными видами.

Пойкилотермные (холоднокровные) организмы — организмы, не способные регулировать температуру тела.

Полевая влагоемкость — количество воды, удерживаемое почвой против действия силы тяжести.

Полигенный признак - Признак, определяемый многими генами, каждый из которых оказывает лишь небольшое влияние на проявление этого признака.

Поликлиматическая теория — гипотеза, согласно которой сукцессия ведет к одному из ряда четко выраженных климаксных сообществ в зависимости от локальных условий среды.

Полимерия - такой тип взаимодействия, при котором на один признак влияет несколько разных, но сходно действующих неаллельных генов.

Полиморфизм - одновременное присутствие в популяции двух или более аллелей с частотой больше 0,01.

Полиморфность. Доля полиморфных локусов в популяции.

Полипептид. Последовательность аминокислот, связанных между собой ковалентными пептидными связями; белок.

Полиплоид. Клетка, ткань или организм с тремя или более полными хромосомными наборами.

Полиплоидия - увеличение числа хромосом, кратное гаплоидному набору.

Полифакторный признак - признак, обусловленный многими локусами.

Половые хромосомы. Хромосомы, участвующие в определении пола и различающиеся у представителей разных полов (ср. *Аутосомы*).

Полувиды. Популяции, различающиеся слишком сильно для того, чтобы считать их подвидами, но недостаточно сильно, чтобы рассматривать их как самостоятельные виды.

Пополнение — добавление новых особей к популяции за счет размножения или иммиграции.

Популяционная генетика - раздел генетики, изучающий генетическую структуру и генетические процессы, происходящие в популяциях.

Популяция - совокупность особей одного вида, обитающих на определенной территории и свободно скрещивающихся между собой

Пороговый признак - признак, распределение которого при расщеплении происходит прерывисто, но наследуется он полифакторно.

Потенциальная эвапотранспирация — *количество влаги, которое могло бы выделиться путем эвапотранспирации при определенных температуре и влажности, если бы количество воды было избыточным.*

Поток генов. Медленный обмен генами (односторонний или двусторонний) между популяциями, обусловленный распространением гамет или расселением особей из популяции в популяцию; синоним: *миграция*.

Почва — твердый субстрат наземных сообществ, образующийся в результате взаимодействия климатических и биологических факторов с подстилающей геологической породой.

Почвенный горизонт — ясно выраженная зона почвы, образующаяся на определенной глубине в результате выветривания и внесения в почву органических веществ.

Принцип конкурентного исключения — гипотеза, согласно которой два или несколько видов не могут сосуществовать за счет одного и того же ресурса, количество которого мало по сравнению с потребностью в нем.

Приспособленность. Репродуктивный вклад организма или генотипа в следующие поколения (ср. *Дарвиновская приспособленность*).

Провирус - двухцепочная последовательность ДНК, встроенная в хромосому эукариот и соответствующая геномной РНК ретровирусов.

Промотор - участок ДНК, ответственный за связывание РНКполимеразы, инициирующей транскрипцию.

Процессинг - совокупность реакций, ведущих к превращению первичных продуктов транскрипции и трансляции в функционирующие молекулы.

ПЦР (полимеразная цепная реакция) – амплификация ДНК в условиях *in vitro* (в пробирке).

Прыгающие гены - последовательность ДНК, способная переносить себя в различные новые сайты локализации в пределах генома, например, транспозоны, инсерционные последовательности.

Прямая конкуренция — оттеснение особей от тех или иных ресурсов в результате агрессивного поведения других организмов или использования ими токсинов.

Пустошь — неплодородная земля с бедным растительным покровом, что связано с какими-либо физическими или химическими свойствами почвы.

Разнообразие — число видов в данном сообществе или в данной области. Разнообразие в данном местообитании называют а-разнообразием, а сумму всех видов, обитающих во всех местообитаниях в пределах данной области, называют Р-разнообразием.

Раса. См. Подвид.

Регуляторный ген. В широком смысле — любой ген, регулирующий или модифицирующий действие других генов. В узком смысле — ген, кодирующий аллостерический белок, который (самостоятельно или в сочетании с корепрессором) регулирует генетическую транскрипцию структурных генов в опероне, связываясь с оператором (ср. *Генмодификатор, Структурный ген*).

Расщепление - образование в потомстве гибридов особей с различными признаками.

Регрессия - частичный возврат потомства к среднему для популяции при отборе лучших и худших по количественным признакам родителей.

Резистентность - устойчивость организма к действию физических, химических и биологических агентов, вызывающих патологическое состояние.

Рекомбинантная ДНК - искусственно полученная молекула ДНК.

Рекомбинация. Образование новых сочетаний отдельных участков молекул ДНК (хромосом).

Рекон - минимальная часть гена, которая может быть обменена путем кроссинговера с другим гомологичным участком аллельного ему гена, находящегося в другой хромосоме.

Репарация — восстановление повреждённой структуры ДНК.

Репрессор - ген, подавляющий действие другого гена.

Репликон — часть молекулы ДНК, в которой осуществляется синтез новой ДНК в одноцепочечной форме.

Репликация - процесс самовоспроизведения нуклеиновых кислот, обеспечивающий точное воспроизведение генетической информации.

Репликационная вилка - точка, в которой цепи родительской двухцепочной ДНК расходятся для того, чтобы могла произойти репликация.

Репликационный глазок - область реплицирующейся ДНК внутри протяженного нереплицирующегося района.

Репродуктивная изоляция. Неспособность организмов скрещиваться друг с другом вследствие биологических различий между ними.

Репродуктивные изолирующие механизмы. Любые биологические особенности организма, препятствующие скрещиванию его с представителями других видов.

Рестрикция - процесс разрезания молекулы ДНК ферментами – рестриктирующими эндонуклеазами.

Ресурс — вещество или объект, необходимый организму для поддержания нормального существования, роста и размножения. Если количество данного ресурса мало по сравнению с потребностью в нем, то его называют ограничивающим ресурсом. Невозобновляемые ресурсы (например, пространство) существуют в фиксированных количествах и могут быть полностью использованы; возобновляемые ресурсы (например, пища) производятся со скоростью, которая может частично определяться их использованием.

Рецепторы - макромолекулярные структуры клеточной поверхности, с помощью которых клетки узнают антигены.

Рецессивность - отсутствие проявления одного из аллелей в гетерозиготе.

Рецессивный аллель. Аллель (или соответствующий признак), проявляющийся лишь в гомозиготном состоянии.

Рецессивный ген - ген, влияющий на развитие признака только в гомозиготном состоянии.

Рибонуклеиновая кислота (РНК). Полинуклеотид, содержащий в отличие от ДНК урацил вместо тимина и сахар рибозу вместо дезоксирибозы

Рибосома - органоид цитоплазмы, с участием которого происходит синтез белка в клетке.

РИМ. См. *Репродуктивные изолирующие механизмы.*

мРНК – матричная, информационная РНК (иРНК), кодирующая белки.

РНК – одноцепочечные полимерные молекулы нуклеиновых кислот, участвующие в процессах биосинтеза белка и выполняющие разные функции (мРНК, тРНК, рРНК).

Сайт – место, занятое точковой мутацией внутри цистрона, т.е. любая пара нуклеотидов в двухцепочечной молекуле ДНК

Сальтационное видообразование. См. *Квантовое видообразование.*

Самооплодотворение. Образование зиготы из мужских и женских гамет, продуцируемых одним и тем же организмом.

Сверхдоминирование. Явление, при котором какой-либо признак (обычно приспособленность) проявляется в гетерозиготе сильнее, чем в обеих гомозиготах.

Секвенирование – определение нуклеотидной последовательности ДНК

Сексдукция - перенос у бактерий фактором F генетического материала из одной клетки в другую

Селективное значение. См. *Адаптивное значение.*

Селективный сдвиг. При искусственном отборе разность между средними значениями признака у потомства отобранных родителей и в родительском поколении в целом.

Селекционный дифференциал. При искусственном отборе разность между средними значениями признака у особей, отбираемых в качестве родителей следующего поколения, и в целой популяции.

Серия — последовательный ряд стадий изменения сообщества в определенной области, ведущий к устойчивому состоянию. См. также *Сукцессия*.

Серповидноклеточная анемия. Наследственное заболевание человека, при котором в эритроцитах содержатся аномальные молекулы гемоглобина; обусловлена гомозиготностью по аллелю, кодирующему β -цепь гемоглобина.

Симпатрические популяции. Популяции или виды, обитающие по крайней мере частично на одной территории (ср. *Аллопатрические популяции*).

Синапсис - конъюгация двух пар сестринских хроматид гомологичных хромосом, происходящая во время мейоза; образующаяся структура называется бивалентом.

Синэкология — взаимоотношения организмов и популяций с биотическими факторами среды.

Системы групп крови - совокупность антигенов, контролируемых одним локусом.

Система скрещивания. Характер выбора брачного партнера в популяциях, размножающихся половым путем; принято различать случайное и ассортативное (предпочтительное) скрещивание.

Скорость накопления биомассы — отношение веса к годовой продукции (обычно применительно к растениям).

Случайная выборка. Выборка, организуемая таким образом, что каждая особь популяции или каждый ген в геноме обладает равной с другими вероятностью попасть в нее.

Случайное скрещивание. Случайный выбор брачного партнера по отношению к какому-то одному или нескольким признакам. Синоним: панмиксия (ср. *Ассортативное скрещивание*).

Случайный дрейф генов. Изменение частот генов в ряду поколений, происходящее в результате случайных флуктуаций.

Смещение признака — дивергенция в признаках двух в остальном сходных видов в области перекрывания их ареалов, вызванная селективными действиями конкуренции между этими видами в области перекрывания.

Соматические клетки. Все клетки тела, за исключением гамет и тех клеток, из которых развиваются гаметы.

Сообщество — ассоциация взаимодействующих популяций, обычно определяемая характером их взаимодействия или местом, где они живут.

Сплайсинг - процесс удаления интронов и объединения экзонов в мРНК.

Стабилизирующее скрещивание - скрещивание, восстанавливающее соотношение генотипов в популяции в соответствии с формулой ХардиВайнберга.

Стресс - состояние организма, возникающее в ответ на воздействие сильных раздражителей или различных повреждающих факторов внешней среды.

Структурный ген - кодирует РНК или белок.

Субвитаальные гены - гены, вызывающие гибель менее 50% особей.

Субклимакс — одна из стадий сукцессии в серии, которая не смогла прийти до климатического климакса вследствие пожара, недостатка какихлибо веществ в почве, перевыпаса и других подобных факторов.

Сублетальные гены (полублетальные) - гены, обуславливающие гибель 50-99% особей.

Сукцессия — последовательное замещение популяций в каком-либо местообитании путем закономерного продвижения к устойчивому состоянию.

Суперген. Участок ДНК, содержащий несколько тесно сцепленных генов, влияющих на один признак или на ряд взаимосвязанных признаков.

Сцепление. Мера независимости с которой аллели двух генов расходятся в разные клетки в мейозе или при скрещиваниях.

Сцепленность - свойство генов одной хромосомы наследоваться совместно; измеряется в процентах рекомбинации между локусами.

Сцепление с полом - способ наследования, характерный для генов, находящихся в половых хромосомах (обычно в X-хромосоме).

Сцепленность с полом. Сцепление генов, находящихся в половых хромосомах.

Талассемия - заболевание человека, вызванное отсутствием α - или β глобина в его эритроцитах.

Теломера - естественный конец хромосомы.

Теория мозаичного климакса — гипотеза о том, что сукцессия завершается возникновением весьма разнообразных недискретных климаксных сообществ, характер которых зависит от локального климата, почвы, наклона местности, интенсивности выпаса и т. п.

Тератология - наука, изучающая уродства.

Терминатор - последовательность ДНК, находящаяся на конце транскрипта и ответственная за прекращение транскрипции.

Терминирующий кодон - один из трех триплетов УАГ, УАА или УГА, вызывающих терминацию синтеза белка; их также называют бессмысленными кодонами.

Термоклина — слой воды, в пределах которого происходит быстрое изменение температуры и переход от теплового верхнего слоя (эпилимнион) к холодному нижнему (ги-полимнион).

Тотипотентность - способность любой соматической клетки дать начало новому организму.

Точка начала репликации (ori) - последовательность ДНК, в которой происходит инициация репликации.

Точковые мутации - изменение одной пары оснований.

Трансгенез - экспериментальный перенос генов, выделенных из определенного генома или искусственно синтезированных, в другой геном.

Трансдукция - перенос генов из одной бактериальной клетки в другую при помощи бактериофага.

Транскрипция - процесс синтеза РНК на ДНК-матрице.

Транслокация - перемещение гена или участка хромосомы из одного локуса в другой.

Трансляция - процесс синтеза белка на матричной мРНК.

Трансмиссибельная геномная нестабильность (transmissible genomic instability) (или НСГ клеток полового пути, или «половая» НСГ) индуцирование (и/или передачи) состояния НСГ в ряду клеточных генераций или поколений на организменном уровне, от родителей к потомкам, т.е. из генома родительских гамет в соматические клетки организма потомков.

Трансплантация эмбрионов - метод ускоренного воспроизводства высокопродуктивных животных (доноров) путем получения и пересадки эмбрионов менее ценным животным (реципиентам).

Транспирация — испарение воды листьями и другими частями растения.

Транспозон - последовательность ДНК, способная реплицироваться и внедрять одну из копий в новое место генома.

Трансформация бактериальных клеток - приобретение нового генетического маркера в результате включения экзогенной ДНК.

Трансформация эукариотических клеток - переход в состояние неконтролируемого роста; имеет много общего или совпадает с опухолевым перерождением клеток.

Триплет - набор трех нуклеотидов (синоним кодона).

Трисомия – наличие добавочной хромосомы в кариотипе диплоидного организма.

Трофическая структура — организация сообщества, основанная на пищевых взаимоотношениях популяций.

Трофический уровень — положение в трофической цепи, определяемое числом этапов передачи энергии.

Удельная теплоемкость — количество энергии, которое необходимо сообщить 1 г какого-либо вещества, чтобы изменить его температуру на 1 °С. По определению, для того чтобы повысить температуру 1 г воды на 1 °С, требуется 1 кал энергии.

Упаковочный коэффициент - отношение длины ДНК к длине структуры, которая ее содержит.

Усилители транскрипции (enhancer) - участки ДНК (50-100 п.о.), усиливающие транскрипцию с ряда эукариотических промоторов, находящихся по отношению к ним в **цис**-положении, эти элементы оказывают свое действие независимо от того, с какой стороны промотора они располагаются.

Условно летальные мутации - вызывают гибель клетки или вируса только в определенных (непермиссивных) условиях, но не проявляют своего летального действия в других условиях.

Устойчивость — внутренне присущая системе способность противостоять изменениям.

Участки сплайсинга - последовательности, непосредственно окружающие границы между экзонами и интронами.

Фаг (бактериофаг) - бактериальный вирус.

Факторы инициации (IF) - белки, которые специфически связываются с малой субчастицей рибосомы на стадии инициации белкового синтеза.

Факторы элонгации - белки, циклично ассоциирующие с рибосомой в соответствии с включением каждой новой аминокислоты в полипептидную цепь.

Фактор-F - фактор фертильности – эписома, контролирующая способность бактерий к конъюгации.

Факторы-R - эписомы, обеспечивающие устойчивость бактерий к лекарственным препаратам.

Фармакогенетика - раздел медицинской или ветеринарной генетики, изучающий наследственно обусловленные реакции человека и животных на лекарственные препараты.

Феногруппа - совокупность антигенов, которые наследуются как единое целое.

Фенокопия - изменение признака под влиянием внешних факторов, ведущее к копированию признаков, обусловленного генотипом.

Фенотип. Совокупность всех доступных наблюдению признаков организма, возникающих в результате взаимодействия между генотипом и окружающими условиями, в которых происходит развитие организма.

Фенотипическая вариация (дисперсия). Дисперсия частоты распределения особей по какому-либо признаку или совокупности признаков (ср. *Генетическая вариация*).

Ферменты рестрикции - узнают определенные короткие последовательности в ДНК и расщепляют ее иногда в месте связывания, а иногда в каком-либо другом месте (это зависит от типа фермента).

Фиксация азота — биологическая ассимиляция атмосферного азота с образованием азотсодержащих соединений.

Филогенез - история развития вида.

Флуоресценция – специфическое свечение, возникающее в результате применения специфических флуоресцентных красителей.

Фитопланктон — См. *Планктон*.

Фотосинтез — использование световой энергии для образования простых Сахаров из двуокиси углерода и воды.

Фрагменты Оказаки - короткие фрагменты ДНК длиной несколько тысяч (бактерии) или несколько сотен (эукариоты) нуклеотидов образуется в результате прерывистой репликации; впоследствии ковалентно соединяются в непрерывную цепь.

Функциональная реакция — изменение скорости использования жертвы отдельной особью хищника в ответ на изменение плотности жертвы. См. также *Количественная реакция*.

Хиазма - петля, образуемая хромосомами при конъюгации хромосом в период редукционного деления.

Химеры - растения или животные со смешанными тканями двух организмов.

Хроматиды - хромосомные копии, образующиеся при репликации.

Хромомера - интенсивно окрашиваемая гранула; ее можно различить как составную часть хромосомы при определенных условиях (особенно на ранних стадиях мейоза).

Хромосомы - Нитевидная структура в ядре клетки, содержащая гены, расположенные в линейной последовательности; молекула ДНК, представляющая весь геном прокариотических клеток; молекула ДНК в комплексе с гистонами и другими белками в эукариотических клетках.

Хромосомная мутация (перестройка). Изменение структуры или числа хромосом в наборе.

Хромосомный набор. Совокупность всех хромосом в ядре нормальной гаметы или зиготы. Каждый тип хромосом может быть представлен в одном экземпляре (моноплоидный или гаплоидный набор) или в большом числе экземпляров (полиплоидный набор).

Хромосомная нехватка - потеря в результате мутации конца хромосомы.

Хромосомный полиморфизм. Популяционный полиморфизм по хромосомным перестройкам.

Центровая теория гена - теория о том, что ген состоит из отдельных функциональных участков – центров, которые могут независимо изменяться при мутациях.

Центромера - область хромосомы, в которую входит участок прикрепления к митотическому или мейотическому веретену.

Цианобактерии - группа фототрофных прокариотических организмов (традиционное название – синезеленые водоросли).

Циклический климакс — устойчивая циклическая последовательность сообществ, ни одно из которых само по себе не является устойчивым.

Циклы таксонов — циклы расширения и сокращения географического ареала и плотности популяции данного вида или более высокой таксономической категории.

Цитогенетика - раздел генетики, изучающий строение клетки и ее органоидов и изменение их при возникновении мутаций.

Цистрон - генетическая единица, выявляемая путем комплементационного теста; эквивалентна гену и означает единицу ДНК, кодирующую белок.

Цитоплазматическое наследование - характерно для признаков, определяемых митохондриальными генами, и генами, локализованными в хлоропластах.

Частотно-зависимый отбор. Естественный отбор, направление и (или) интенсивность которого зависит от частоты генотипов или фенотипов в популяции.

Числовые мутации - изменение числа хромосом в кариотипе.

Чистая продукция — общее количество энергии или питательных веществ, накапливаемых организмом в результате роста и размножения; общая продукция минус дыхание.

Чистая скорость размножения — ожидаемое число потомков, которое самки могут произвести в среднем за всю свою жизнь.

Чистые линии - организмы, гомозиготные по изучаемым признакам.

Эвапотранспирация — суммарное количество влаги, выделяемой растениями в результате транспирации и испаряемой с поверхностей воды и почвы.

Эволюция - процесс исторического развития живой природы на основе изменчивости, наследственности и отбора.

Эвтрофикация — обогащение водоемов питательными веществами, часто вызываемое спусканием в них сточных вод и поверхностным стоком с удобряемых полей.

Эвтрофный водоем — водоем с обильным содержанием питательных веществ и высокой продуктивностью.

Эвфотическая зона — верхние слои водоема, в которые проникает достаточное количество света, чтобы процессы фотосинтеза превышали или уравнивали процессы дыхания. См. также *Компенсационная точка*.

Эксон - любой отдельный фрагмент прерывистого гена, который сохраняется в зрелой РНК.

Эксонуклеазы - ферменты, последовательно отщепляющие нуклеотиды с концов полинуклеотидной цепи; могут быть специфичными в отношении 5¹ – или 3¹ – концов ДНК или РНК.

Экоклина — географический градиент структуры растительности, связанный с одним или несколькими изменяющимися факторами среды.

Экологическая эффективность — доля энергии (выражаемая в процентах) в биомассе, продуцируемой на одном трофическом уровне,

которая включается в биомассу, продуцируемую следующим, высшим, трофическим уровнем.

Экологическое высвобождение — расширение использования местообитаний и ресурсов популяциями в областях с низким разнообразием видов и вытекающей из него пониженной межвидовой конкуренцией.

Эколого-ветеринарная генетика – раздел ветеринарной генетики, изучающий влияние различных экологических факторов на наследственность животных, устойчивость к заболеваниям, сопряжённую эволюцию макро- и микроорганизмов, генетическую обусловленность накапливать или выводить из организма вредные вещества, генетически детерминированные реакции животных на лекарственные препараты.

Экосистема — вся совокупность взаимодействующих факторов физического и биологического мира определенного участка биосферы.

Экотип — генетически дифференцированная субпопуляция, ограниченная определенным местообитанием.

Экотон — местообитание, возникающее на стыке четко различающихся местообитаний; краевое местообитание, зона перехода между местообитаниями разного типа.

Экспрессивность - влияние данного аллеля на степень выраженности признака.

Экспрессия гена – активизация транскрипции гена, в процессе которой на ДНК образуется мРНК.

Электрофорез фрагментов ДНК – процесс, обеспечивающий разделение фрагментов ДНК на поверхности геля. Фрагменты движутся в геле, помещённом в постоянное электрическое поле, от отрицательного полюса к положительному в зависимости от размеров (чем больше относительная молекулярная масса фрагмента, тем медленнее он движется).

Электрофорез. Метод разделения молекул, основанный на их разной подвижности в электрическом поле.

Электроморфы. Аллоферменты, выявляемые с помощью электрофореза.

Эмбриогенетическая инженерия - активная перестройка генома животных путем вмешательства в их развитие на самых ранних стадиях онтогенеза.

Эндонуклеазы - ферменты, расщепляющие связи полинуклеотидной цепи нуклеиновых кислот; могут быть специфичны в отношении РНК одноцепочных или двухцепочных ДНК.

Энзимы – ферменты, вещества белковой природы, участвующие в биохимических реакциях.

Эпигенез – сумма всех взаимодействий между генами и средой, их функционирования, проявляющихся в процессе онтогенеза и в ряду дифференцированных клеток

Эпигенетическая изменчивость – наследуемое, но обратимое функциональное состояние гена не сопровождающееся изменением его нуклеотидной последовательности

Эпигенотип – генотип, развившийся в процессе контакта с внешней средой, т.е. фенотип как продукт взаимодействия конкретного генотипа с внешней средой при формировании каждого признака в рамках его нормы реакции

Эпилимнион — теплые, богатые кислородом поверхностные слои озера или другого водоема.

Эписома - плазида, способная интегрироваться в бактериальную ДНК.

Эпистаз - тип взаимодействия, при котором один ген подавляется другим, неаллельным геном.

Эухроматин - представляет собой весь генетический материал интерфазного ядра, за исключением гетерохроматина.

Эффект основателя. Генетический дрейф, обусловленный тем, что исходно популяция состоит из очень небольшого числа особей.

Эффективность ассимиляции — доля потребленной организмом энергии (выражаемая в процентах).

Эффективность пищевой цепи — см. *Экологическая эффективность.*

Эффективная численность популяции. Число *размножающихся* особей в популяции.

Эффективность транспирации — отношение чистой первичной продукции к транспирации воды растением, обычно выражаемое в граммах на 1 кг воды.

Эффективность фотосинтеза — доля световой энергии, ассимилированная растениями; расчет основан либо на чистой продукции (чистая эффективность фотосинтеза), либо на общей продукции (общая эффективность фотосинтеза).

Эффективность чистой продукции — относительная доля (выражаемая в процентах) потребленной пищи, использованной организмом на рост и размножение.

Эффект положения - влияние положения гена в хромосоме на его действие.

Эффективность эксплуатации — относительная доля (выражаемая в процентах) потенциальной жертвы или кормовых растений, поглощаемых хищниками и растительноядными животными.

Ядерный матрикс - сплетение фибрилл, окружающих и пронизывающих ядро.

Ядро – жизненно важный органоид клеток эукариот, содержащий ДНК.

Ядрышко - обособленная область ядра, образуемая при транскрипции генов рРНК.

Яйцевой фолликул - небольшой мешочек из клеток в яичнике млекопитающих, внутри которого находится созревающее яйцо.

Яйцеклетка - женская репродуктивная клетка, из которой после оплодотворения ее сперматозоидом развивается новая особь того же вида.

Рекомендуемая литература:

Список основной литературы

1. Сазанов, А. А. Генетика [Электронный ресурс] : учеб. рос. / А. А. Сазанов. - СПб.: ЛГУ им. А. С. Пушкина, 2011. - 264 с. - Режим доступа: <http://www.znanium.com/>
2. Применение молекулярных методов исследования в генетике: Учебное пособие / Л.Н. Нефедова. - М.: НИЦ Инфра-М, 2012. - 104 с. - Режим доступа: <http://www.znanium.com/>.

4.2. Список дополнительной литературы

1. Себежко О.И. Экологическая генетика /О.И. Себежко, В.Л. Петухов,

О.С. Короткевич. – Новосибирск: НГАУ, 2011 – 637 с.

2. Петухов В.Л. и др. Генетика// В.Л. Петухов, О.С. Короткевич, С.Ж. Стамбеков и др. – Новосибирск: СемГПИ, 2007. – 628 с.

3. Константинова И.С. Основы цитологии, общей гистологии и эмбриологии животных/Константинова И.С., Булатова Э.Н., Усенко В.И. – М.: Изд-во: Лань, 2015. – 240 с. (ЭБС).

4.3. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет»

Таблица 3. Перечень информационных ресурсов

№ п/п	Наименование	Адрес
1.	Официальный сайт журнала «Экологическая генетика»	http://ecolgenet.ru/
2.	Центр электромагнитной безопасности России	http://www.tesla.ru
3.	Единый сервисный портал Минсельхоза России	http://service.mcx.ru/Home/RegistersAndRegisters
4.	Официальный сайт федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору	http://www.fsvps.ru/
5.	Государственная информационная система в сфере ветеринарии: Ветис	http://vetrf.ru/
6.	Вавиловское общества селекционеров и генетиков	http://www.vogis.org
7.	Центр дозиметрии	http://www.dozimetr.biz
8.	Электронно-библиотечная система НГАУ	http://nsau.edu.ru/library/ecatalogue/
9.	Электронная библиотечная система издательства «Лань»	www.e.lanbook.com
10.	Научная электронная библиотека eLibrary.ru	www.eLibrary.com
11.	Электронно-библиотечная система издательства «Инфра-М»	www.znaniium.com

СОДЕРЖАНИЕ

Введение 3

Цели и задачи дисциплины "Основы экологической генетики" 4

ЛАБАРАТОРНЫЕ ЗАНЯТИЯ

Раздел 1 Предмет, методы и значение экологической генетики

Тема 1.1 Предмет экологической генетики. 6

Тема 1.2 Методы эколого-генетического мониторинга	8
Лабораторная работа № 1 "Выделение и анализ ДНК"	8
Лабораторная работа № 2 "Анализ полученных препаратов ДНК с помощью электрофореза в агарозном геле"	10
Лабораторная работа № 3 "Рестрикционный анализ полученного препарата ДНК"	12
Раздел 2 Проблемы экологической генетики	
Тема 2.1 Мутации и мутагенез.	16
Лабораторная работа № 4 "Анализ препаратов с СХО"	16
Тема 2.2 Антимутагенез.	21
Лабораторная работа № 5 "Определение количества антиоксидантов" . .	21
Раздел 3 Эколого-генетические модели	
Тема 3.1 Типы экологических отношений.	23
Тема 3.2 Эколого-генетические модели.	25
Лабораторная работа № 6 "Анализ биопрепаратов с заражением описторхозом" . .	25
Лабораторная работа № 7 "Интерпретация серологических исследований крови на описторхоз" . .	28
Тема 3.3 Симбиогенетика.	31
Лабораторная работа № 8 "Интерпретация исследований микрофлоры ЖКТ человека и животных" . .	31
Раздел 4 Биоиндикация антропогенных загрязнений	
Тема 4.1 Методы выявления и оценки мутагенов.	35
Тема 4.2 Методы биоиндикации.	38
Тема 4.3 Тест-системы для оценки риска возникновения мутаций. Лабораторная работа № 9 "Скрининговое тестирование мутагенов и промутагенов	40
Раздел 5 Сохранение генофонда биосферы	
Тема 5.1 Проблема сохранения биоразнообразия.	42
Тема 5.2 Генетические процессы в популяциях животных при антропогенном	

загрязнении.	45
Тема 5.3 Проблема радиоактивных отходов, малых доз.	
Лабораторная работа № 10 " Оценка риска и соотношения доза-эффект при лучевой терапии и диагностике	53
Раздел 6. Генетическая токсикология	
Тема 6.1 Проблемы генетической токсикологии	56
Тема 6.2 Фармакогенетика.	
Лабораторная работа № 11 " Определение однонуклеотидных полиморфизов (SNP) TNF α методом ПЦР. Электрофоретическая детекция»	57
Раздел 7 Экология и деятельность человека	
Тема 7.1 Экология человека. Антропологические факторы.	60
Тема 7.2 Влияние радиоактивного и химического загрязнения среды на здоровье человека	62
Лабораторная работа № 12 "Анализ ретроспективных данных влияния отдалённых последствий Чернобыльской АЭС на здоровье человека" . . .	62
Раздел 8 Цитогенетический, биохимический, гематологический мониторинг популяций сельскохозяйственных животных	
Тема 8.1 Влияние радиации и химического загрязнения на гематологический и биохимический статус животных.	66
Лабораторная работа № 13 «Изучение гематологических показателей периферической крови сельскохозяйственных животных»	66
Лабораторная работа № 14 «Изучение биохимических показателей в сыворотке крови сельскохозяйственных животных»	67
Тема 8.2 . Цитогенетические методы индикации мутагенных факторов среды	
Лабораторная работа № 15 «Приготовление цитогенетических препаратов сельскохозяйственных животных	72
Раздел 9 Устойчивость пород разных видов животных к антропогенному загрязнению	
Тема 9.1 Заболеваемость разных пород и видов животных в условиях	

радиоактивного, химического и биологического загрязнения среды	74
Лабораторная работа № 16 «Анализ гематологических и цитогенетических препаратов разных видов сельскохозяйственных животных.	74
Тема 9.2. Принципы создания популяций животных, устойчивых к загрязнению среды	76
Глоссарий.	79
Список рекомендуемой литературы	106
Содержание	107
Составитель	
Себежко Ольга Игоревна	

ОСНОВЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕНЕТИКИ

Методические указания к лабораторным занятиям

В авторской редакции

Компьютерная вёрстка О.И. Себежко

Формат 210 x 297 7,2 усл. печ. л.