

**О.Г. Чередниченко*, И.Н. Магда, А.Л. Пилюгина, Г.М. Байгушикова,
С.К. Нуралиев, Л.Б. Джансугурова, Н.Л. Нигай**

Институт общей генетики и цитологии КН МОН РК,
Казахстан, г. Алматы, *e-mail: cherogen70@mail.ru

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ СТАТУС МЫШЕВИДНЫХ ГРЫЗУНОВ, ОБИТАЮЩИХ ВБЛИЗИ МЕСТ ХРАНЕНИЯ УСТАРЕВШИХ ЗАПАСОВ ПЕСТИЦИДОВ

Воздействие пестицидов и стойких органических загрязнителей (СОЗ) на биоту является серьезной проблемой для многих стран. В настоящее время в Республике Казахстан сосредоточены значительные объемы устаревших, не утилизированных пестицидов, которые хранятся в полуразрушенных складах, загрязняя окружающую территорию. Для изучения мутагенного воздействия пестицидов на мышевидных грызунов в 2018-19 гг. были обследованы территории вблизи пяти бывших мест складирования устаревших и запрещенных к использованию пестицидов, вблизи мест сельхозугодий, где пестициды применяли в прошлом и контрольной территории. В качестве биоиндикаторов выступили мышевидные грызуны. Показатели основных метрических и функциональных параметров индикаторных животных указывают на то, что отклонений от нормы не выявлено, и они в целом соответствуют аналогичным характеристикам этих видов животных, обитающих в Казахстане на не загрязненных территориях. Тем не менее, оценка генетического статуса мышевидных грызунов, отловленных в мониторинговых точках Бельбулак, Амангельды, Кызылкайрат, Енбекши, вблизи мест складирования старых не утилизированных пестицидов, свидетельствует о значительном увеличении частоты нарушений генетического аппарата исследованных животных. Корреляционный анализ результатов оценки степени поврежденности ДНК у мониторингового животного метода comet-test и суммарного содержания СОЗ в почве исследованных территорий выявил количественную оценку тесноты связи в 0,70 единиц, что по шкале Чеддока характеризует качественную силу связи как «замечная/высокая» и удовлетворительно описывается соответствующим полиномиальным уравнением. Выявлена статистически значимая взаимосвязь как между тест-системами, используемыми на мышевидных грызунах, так и частотой хромосомных aberrаций при анализе мутагенности проб почвы из исследованных поселков на культурах лимфоцитов человека.

Ключевые слова: биоиндикация, микрорядра, мышевидные грызуны, пестициды, comet-test.

O.G. Cherednichenko*, I.N. Magda, A.L. Pilyugina, G.M. Baigushikova,
S.K. Nuraliev, L.B. Dzhansugurova, N.L. Nigai
Institute of General Genetics and Cytology KN MES RK,
Kazakhstan, Almaty, *e-mail:cherogen70@mail.ru

Genetic status of mice-like rodents inhabiting the area of storage of obsolete stocks of pesticides

The impact of pesticides and persistent organic pollutants (POPs) on biota is a serious problem for many countries. Currently, the Republic of Kazakhstan has concentrated significant volumes of obsolete, non-utilized pesticides that are stored in dilapidated warehouses, polluting the surrounding area. To study the mutagenic effects of pesticides on mouse rodents in 2018-19. territories near five former storage sites of obsolete and banned pesticides were examined, near farmland areas where pesticides were used in the past and control territory. The mouse indicators were bioindicators. Indicators of the main metric and functional parameters of indicator animals indicate that no abnormalities have been identified, and they generally correspond to similar characteristics of these animal species living in Kazakhstan in non-polluted territories. Nevertheless, an assessment of the genetic status of mouse-like rodents captured at the monitoring points of Belbulak, Amangeldy, Kyzylkairat, Enbekshi, near the storage sites of old unused pesticides, indicates a significant increase in the frequency of violations of the genetic apparatus of the animals studied. A correlation analysis of the results of assessing the degree of DNA damage in monitoring animals by the comet-test method and the total POP content in the soil of the studied territories revealed a quantitative estimate of the bond tightness of 0.70 units, which on the

Cheddock scale characterizes the qualitative strength of the bond as “noticeable / high” and is satisfactorily described corresponding polynomial equation. A statistically significant relationship was found both between the test systems used on mouse rodents and the frequency of chromosomal aberrations when analyzing the mutagenicity of soil samples from the studied villages on human lymphocyte cultures.

Key words: bioindication, micronuclei, mouse-like rodents, pesticides, comet-test.

О.Г. Чередниченко*, И.Н. Магда, А.А. Пилюгина, Г.М. Байгушикова,
С.К. Нуралиев, А.Б. Джансугурова, Н.А. Нигай
ҚР БҒМ ҒК Жалпы генетика және цитология институты,
Қазақстан, Алматы қ., *e-mail: chero70@mail.ru

Ескі пестицидтер қоймаларының жанында мекендейтін тышқан тәрізді кеміргіштердің генетикалық статусы

Пестицидтер мен тұрақты органикалық ластағыштардың (ТОЛ-дың) зиянды әсері әлемнің барлық дерлік елдері үшін маңызды мәселе болып табылады. Қазіргі уақытта Қазақстан Республикасында пестицидтердің жойылмаған, ескірген едәуір көлемі жинақталған, олар қираған қоймаларда сақталуда және сол маңдағы аймақты ластауда. Пестицидтердің тышқантәрізді кеміргіштерге мутагендік әсерін зерттеу мақсатында 2018-19 жылдары ескірген және қолдануға тыйым салынған пестицидтерді сақтайтын бұрынғы бес орынның жанында, бұрын пестицидтер пайдаланылған ауылшаруашылық алқаптарының жанында және бақылау аумағында тексеру жүргізілді. Биоиндикатор ретінде тышқан тәрізді кеміргіштер алынды. Индикаторлы жануарлардың негізгі метрикалық және функциональдық параметрлерінің мәндері нормадан ауытқулар анықталмағандығын көрсетеді, бірақ олар жалпы Қазақстанның ластанбаған аймақтарында тіршілік ететін осындай жануарларға тән сипаттамаларға сәйкес келеді. Соған қарамастан, Белбұлақ, Амангелді, Қызылқайрат, Еңбекші тексеру нүктелерінде ұстап алынған тышқан тәрізді кеміргіштердің генетикалық статусын бағалауда олардың айналмалы қанындағы эритроциттердегі микроядролар жиілігі салыстырмалы аймақтардағы кеміргіштер нәтижелерінен едәуір ерекшеленетінін және ескі жойылмаған пестицидтер қоймаларының маңындағы жерлерден ұстап алынған жануарлардың генетикалық аппаратының бұзылу жиілігінің едәуір артқандығын көрсетеді. Зерттелген бақылау нүктелерінің топырағында зерттеу алынған жануарлардағы ДНҚ-ның зақымдану дәрежесін comet-test әдісімен бағалау нәтижелерінің корреляциялық талдауы, зерттелетін бақылау топтарындағы ТОЛ-дың (тұрақты органикалық ластағыштар) жалпы құрамы 0,70 бірлік байланыстырғыштықтың сандық бағасын анықтады, бұл Чеддок шкаласы бойынша байланыстың сапалық сипаттамасына «байқалатын/жоғары» сәйкес келеді және полиномиялық теңдеумен сай келетін қанағаттанарлық деп сипатталған. Зерттелген нүктелерден алынған топырақ сынақтарының мутагендігін талдау кезінде адам лимфоциттері дақылдарындағы хромосомалық аберрациялар жиілігі мен тышқантәрізді кеміргіштерге қолданылған тест-жүйелер арасындағы статистикалық маңызды өзара байланысы анықталды.

Түйін сөздер: биоиндикация, микроэлементтер, тышқан тәрізді кеміргіштер, пестицидтер, comet-test.

Введение

Интенсивное использование химических препаратов в сельском хозяйстве имеет как положительные (повышение урожайности), так и отрицательные стороны (загрязнение окружающей среды пестицидами и другими химическими соединениями). Пестициды используются для борьбы с насекомыми-вредителями и различными паразитами, болезнями растений, патогенными грибами, сорняками, теплокровными животными-вредителями и др. [1-4]. Обладая специфической биологической активностью, пестициды вызывают гибель не только тех организмов, против которых они направлены, но также оказывают негативное воздействие и на

другие нецелевые организмы, в том числе человека и животных [5-7]. Зачастую наблюдается нарушение технологии хранения и применения пестицидов, поэтому значительная их часть не достигает целевых объектов подавления и наносит огромный вред окружающей среде.

Пестициды со свойствами СОЗ в Казахстане никогда не производились и в настоящее время не импортируются, но значительные количества СОЗ, ранее используемых в бывшем СССР, привели к накоплению значительного количества морально и физически устаревших химикатов, несущих реальную опасность для окружающей среды [8-10].

По данным Министерства сельского хозяйства на июль 2012 г. на складах различных

областей республики хранилось около 6 931,4 т устаревших, непригодных, запрещенных к использованию пестицидов [11]. При определении содержания хлорорганических пестицидов в почве вокруг территорий 64 бывших хранилища пестицидов в Алматинской области установлено, что почва вокруг 24 бывших складов загрязнена метаболитами 2,4-ДДД; 4,4-ДДД; 4,4-ДДТ; 4,4-ДДЭ и изомерами α -ГХЦГ; β -ГХЦГ и γ -ГХЦГ [11-13], концентрации которых превышают ПДК, в некоторых местах – до 114 раз. Известно, что они являются высокотоксичными препаратами с выраженной кожно-резорбтивной токсичностью, вызывают мутагенные, антимитотические и эмбриотоксические эффекты [7, 14]. Одним из самых опасных проявлений пестицидов при воздействии на живые организмы является их мутагенная и комутагенная активность. В результате накопления данных по исследованию пестицидов некоторые из них, которые оказались особенно опасными, в том числе, и как мутагенные агенты, были запрещены. Однако их остатки далеко не всегда утилизированы и до сих пор хранятся в полуразрушенных складах, загрязняя окружающую территорию.

Вопросы захоронения пестицидов в Казахстане не в полной мере решаются, потому что отсутствует объективная информация о степени загрязнения почв пестицидами, о местах расположения бывших хранилищ химических средств защиты растений, хотя исследования отдельных мест расположения устаревших запасов пестицидов были проведены [11-14].

Современная экология для диагностики состояния окружающей среды все чаще ориентируется на использование видов-биоиндикаторов [15]. Одним из основных модельных видов животных в популяционно-биологических исследованиях являются мышевидные грызуны в силу их повсеместного распространения, многочисленности, обитания на относительно ограниченной территории и тесной связи с почвой. Для оценки экологического состояния окружающей среды исследуют такие виды как домовая и лесная мышь, серый хомячок, полевка обыкновенная и др. При этом, одним из показателей воздействия антропогенных факторов, которые генерируют значительные изменения генотипа, состояния организма и экосистемы в целом, является цитогенетический гомеостаз [16]. Охарактеризовать его можно с помощью микроядерного теста, заключающегося в подсчете частоты клеток с микроядрами [17, 18] и другими цитологическими нарушениями клеток кро-

ви. Также в экологических исследованиях все шире используется метод comet-test, основанный на электрофорезе ДНК отдельных клеток, для оценки степени поврежденности клеточной ДНК, которая тесно связана с длинным хвостом «кометы» и содержанием в ней ДНК [19, 20].

Материалы и методы исследования

Объектами исследования являлись природные популяции мышевидных грызунов (*Microtus arvalis* – полевка обыкновенная, *Mus musculus* – домовая мышь, *Apodemus sylvaticus* – мышь лесная, *Cricetulus migratorius* – серый хомячок), обитающих вблизи мест хранения устаревших запасов пестицидов в обследованных населенных пунктах – Бескайнар, Кызылкайрат, Амангельды, Бельбулак, Енбекши. В качестве регионов сравнения использованы п. Таукаратурык, где пестициды применяли более 20 лет назад, и п. Басши (Национальный парк Алтын-Эмель).

Материалом для исследований явились пробы почвы и природной воды из мониторинговых зон Алматинской области Талгарского (пп. Кызылкайрат, Бескайнар, Бельбулак, Амангельды, Енбекши), Енбекши-Казахского (п. Таукаратурык) и Кербулакского (п. Басши) районов. Пробы отбирали в местах обнаружения запасов устаревших неутилизированных пестицидов, и мест расположения бывших хранилищ пестицидов.

Отбор проб почв проводился по методике, соответствующей ГОСТ 14.4.4.02-84, ГОСТ-29269-91, с отбором образцов глубиной от 0 до 25 см. Для химического анализа брали пробы почвы весом не менее 1 кг. Пробы нумеровали с указанием даты и места отбора. Собранные таким образом пробы транспортировались к месту проведения дальнейших анализов.

Химический анализ проб почв проведен в Испытательной лаборатории ТОО «Научный аналитический центр» на содержание 24 пестицидов и продуктов их распада (гексахлорбензол (ГХБ); α -, β -, γ -, δ -изомеры гексахлорциклогексана (гексахлоран, ГХЦГ); гептахлор; альдрин; гептахлорэпоксид; хлордан; эндосульфат 1; эндосульфат 2; дихлордифенилтрихлорметилметан (ДДТ); 4,4'-Дихлордифенилдихлорэтилен (ДДЭ); дихлордифенилдихлорэтилен (ДДД); 2,4'-ДДД; дельдрин; хлорбензилат; эндрин; эндрин альдегид; эндосульфансульфат; дибутилэндан; метоксихлор; гексабромбензол) с пробоподготовкой образцов почвы в соответствии с ГОСТ 29269-91 Почвы. Общие требования к проведению анализов.

Для определения пестицидов и продуктов их распада в образцах почвы использовали метод газовой хроматографии и масс-спектрометрии. Для работы использовали хроматограф «Agilent 6890N» с MSD 5975C (США), анализатор жидкости «Флюорат-02» и масс-спектрометр (ВЭЖХ АСМЕ 9000 с UV/VIS Detector). Работы проведены согласно международным, российским и казахстанским стандартам: ГОСТ Р 53217-2008 (ИСО 10382:2002) Качество почвы. Определение содержания хлорорганических пестицидов и полихлорированных бифенилов. Газохроматографический метод с электрозахватным детектором. Предел обнаружения для почвы 0,0001 мг/кг.

Организационно-методическая работа проведенного исследования была ориентирована на поиск доступных мест сбора эколого-фаунистических материалов (мышевидные грызуны).

Для оценки состояния животных этой группы определяли морфофункциональные (экстерьерные и интерьерные) характеристики [1], которые представляют совокупность показателей особей каждого индикаторного вида, отловленных в летний сезон и обитающих в местах относительно удаленных друг от друга. Определение экстерьерных характеристик осуществляли по схеме метрических показателей животных: p – вес (г), l – длина тела и s – хвоста, a – высота уха, pl – длина стопы (в мм). Экстерьерные показатели характеризуют видовые особенности габитуса животных в определенных условиях обитания.

Функциональные характеристики (интерьерные) определяли по индексам внутренних органов (отношение массы органа к весу тела, %): il – печень, ih – сердце, ik – почки и is – селезенка. Данные показатели служат отражением особенностей физиологического состояния для каждого вида животных, связанного главным образом с уровнем основного обмена, со спецификой питания, возрастом, сезоном и географическим местом обитания.

Для анализа степени повреждающего воздействия СОЗ на геном биоиндикаторов был произведен отлов мониторинговых животных (мышевидных грызунов), обитающих на мониторинговых участках, и взяты биологические образцы (периферическая кровь) для проведения микроядерного анализа эритроцитов и comet-test на лимфоцитах.

Препараты мазков периферической крови готовили общепринятым методом в полевых условиях. Дальнейшую обработку препаратов про-

водили в лабораторных условиях. Высушенные мазки периферической крови в течение 30 минут фиксировали в 96% этиловом спирте, высушивали и окрашивали 20 минут по Романовскому-Гимза. Учет частоты микроядер проводили на микроскопе Zeiss Axioscop 40 под масляной иммерсией с увеличением 10x100. Проводили фотодокументирование наиболее характерных нарушений эритроцитов. На каждую исследованную особь просматривали от 10000 до 20000 эритроцитов.

При анализе поврежденности ДНК в comet-test уровень повреждений ДНК оценивается по количеству ДНК, мигрировавшей из клетки, и расстояние ее миграции при электрофорезе иммобилизованных в агарозу единичных клеток [19-20]. При проведении анализа 20 мкл суспензии клеток смешивали со 100 мкл 1%-ного раствора легкоплавкой агарозы (тип IV) в фосфатно-солевом буфере (рН 7,4) и наносили на предметные стекла, предварительно покрытые 1%-ным слоем тугоплавкой агарозы (тип I), при температуре 42 °С. Для лизирования клеток слайды переносили в холодный лизирующий буфер (2,5 моль/л NaCl, 100 мл Na₂EDTA, 20 моль/л трис-HCl с рН10, 1%, тритон X-100 и 10% диметилсульфоксид (ДМСО) на 2 ч. После лизиса клеток слайды помещали в холодный (4 °С) щелочной буфер с рН ≥13 на 20 мин. Электрофорез проводили в щелочном буфере при напряжении 28 В при силе тока 300 мА в течение 20 мин. Для окраски ДНК использовали SYBRGreenI («Sigma»). Визуализацию ДНК-комет проводили под микроскоп с оценкой величины «момента хвоста» Оливе (МХО). Микроскопический анализ полученных препаратов проводили под флуоресцентным микроскопом с увеличением x200–400. От каждого животного анализировали не менее 50 ДНК-комет в нескольких повторах без наложений хвостов.

Для изучения спектра повреждений была использована градация по количеству деградированной ДНК. Класс C_0 – практически неповрежденные клетки (5% ДНК в «хвосте»), C_1 – низкий уровень повреждения (5-20 %), C_2 – средний уровень повреждения (20-40 %), C_3 – высокий уровень повреждения (40-95 %), C_4 – полностью поврежденные клетки (более 95 %) [19].

Степень поврежденности ДНК выражали как индекс ДНК-комет ($I_{\text{ДНК}}$), определяемый по формуле:

$$I_{\text{ДНК}} = (0n_0 + 1n_1 + 2n_2 + 3n_3 + 4n_4) / \Sigma,$$

где: n_0 - n_4 – число «ДНК-комет» каждого типа, Σ – сумма подсчитанных «ДНК-комет» [21].

Полученные результаты обрабатывали традиционными методами вариационной статистики (вычисление средних значений вариационного ряда, ошибки средних значений, оценка разности выборочных средних, критерий достоверности разности средних (критерий Стьюдента), вычисление коэффициента корреляции) [22].

Результаты исследования и их обсуждение

При обследовании 5-ти мест расположения устаревших запасов пестицидов, одного участ-

ка, где пестициды применяли в прошлом, и контрольного участка были выполнены работы по изучению состояния индикаторных видов млекопитающих (мышевидные грызуны) и определены морфофункциональные показатели каждого вида.

В таблице 1 приведены экстерьерные и интерьерные показатели трех видов мышевидных грызунов мониторинговых участков Алматинской (2019 г.). Для сравнения приведены данные по изучению аналогичных видов, обитающих в Восточно-Казахстанской (г.Курчум) (2010 г.) и Карагандинской областях (север, 2008 г.).

Таблица 1 – Сравнительные экстерьерные и интерьерные показатели мышевидных грызунов

Территории	Вид	p	l	c	pl	a	il	ih	ik	is
Мониторинговые территории Алматинской области	<i>Apodemus sylvaticus</i>	19,33	95,75	83,50	20,25	13,25	49,31	6,97	6,71	3,66
	<i>Mus musculus</i>	16,00	84,00	55,18	16,27	12,55	49,63	7,44	7,75	2,65
	<i>Cricetulus migratorius</i>	32,90	100,00	22,00	16,00	14,00	67,14	5,78	6,84	1,67
ВКО, г.Курчум	<i>Apodemus sylvaticus</i>	20,43	88,67	79,17	19,50	13,33	47,00	5,62	5,20	1,80
	<i>Mus musculus</i>	15,86	81,14	53,86	16,57	12,86	47,52	7,26	7,86	2,60
	<i>Cricetulus migratorius</i>	31,05	99,50	17,50	15,25	15,50	52,03	5,51	5,02	2,62
Карагандинская область (север)	<i>Mus musculus</i>	13,49	74,65	58,12	16,00	12,00	51,93	7,26	7,49	2,74

Примечание: p – вес животного(г); l – длина тела; c – длина хвоста; a – высота уха; pl – длина стопы (мм). Индексы внутренних органов: il – печень, ih – сердце, ik – почки и is – селезенка (%)

Из полученных данных следует, что грызуны имеют соответствующий конкретному виду разнородный габитус, и в силу сезонных причин представляют совокупность разновозрастных особей. Экстерьерные показатели и их средние значения укладываются в границы пределов варьирования для данных видов грызунов в Казахстане. Также определены индексы печени, сердца и почек, селезенки животных, отловленных на разных мониторинговых участках. Показана вариабельность индексов внутренних органов грызунов, как показателей их физиологического состояния, отражающая главным образом характер питания и уровень основного обмена для каждого вида.

Таким образом, изученные особи грызунов, обитающие на мониторинговых участках, в целом соответствуют экологическим и полевым

характеристикам, приводимым в сводке «Млекопитающие Казахстана и Книге генетического фонда Казахстана» [23-26]. Установленные экологические показатели и значения основных метрических и функциональных параметров изученных животных указывают на то, что отклонений от нормы не установлено, и они в целом соответствуют аналогичным характеристикам этих видов животных, обитающих в Казахстане.

Для выявления мутагенного воздействия пестицидов на живые организмы в качестве биомаркера использовали микроядерный тест на эритроцитах периферической крови мышевидных грызунов, обитающих вблизи мест хранения запрещенных и не утилизированных пестицидов.

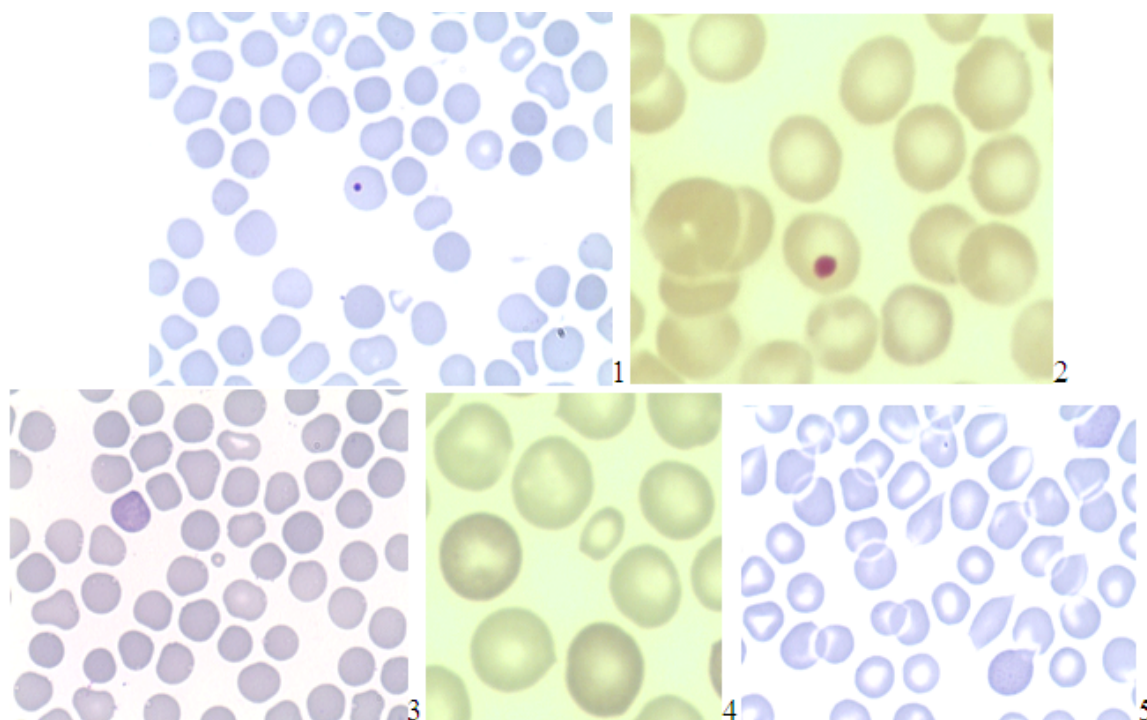
Микроядерный тест у мышевидных грызунов можно проводить в клетках любой про-

лиферирующей ткани, однако легче всего их выявлять в эритроцитах (клетках крови без основного ядра), тем более, что кровь наиболее доступная ткань для исследования и как правило, не требует умерщвления животного. Эритроциты крови в образце классифицируются на полихроматофильные (незрелые) или нормохромные (зрелые). При оценке острого воздействия предпочтительнее оценивать частоту микроядер в полихроматофильных эритроцитах, а при проведении экологического мониторинга или исследовании хронического воздействия в общей популяции эритроцитов периферической крови. Средняя продолжительность жизни эритроцитов составляет 3-4 месяца, что позволяет наиболее полно оценить воздействие исследуемых факторов. Так как эритроциты периферической крови млекопитающих являются безъядерными, основным типом цитогенетических нарушений являются микроядра, которые в микроскопе видны как округлые или овальные разных размеров густо окрашенные тельца с четким контуром. Так как эритроциты представляют собой последний

этап эритропоэза, являясь конечным продуктом нескольких делений бластных клеток, после последнего митоза основное ядро выталкивается, при этом микроядра, являющиеся следствием хромосомных нарушений в эритробластных клетках, остаются в цитоплазме. Анализ и количество микроядер в эритроцитах может не только прямо, но и косвенно зависеть от дозы воздействующих агентов. Низкие дозы генотоксикантов индуцируют микроядра без изменения соотношения нормохромных и полихроматофильных эритроцитов, высокие – существенно уменьшают долю незрелых форм [27].

Из цитологических нарушений были зафиксированы эритроциты нестандартного размера, как правило, это маленькие (микроциты) или большие (макроциты) эритроциты и, в отдельных случаях пойкилоцитоз – изменение нормальной формы, толщины, объема клеток (рисунок 1).

Результаты цитогенетического анализа эритроцитов мышевидных грызунов во всех мониторинговых точках представлены в таблице 2.



1, 2 – микроядра в эритроцитах, 3, 4 – эритроциты нестандартного размера, 5 – измененная форма эритроцитов, увеличение 16 x 100

Рисунок 1 – Препараты эритроцитов периферической крови мышевидных грызунов с различными типами нарушений

Таблица 2 – Результаты цитогенетического анализа эритроцитов мышевидных грызунов, отловленных вблизи мест хранения старых, не утилизируемых пестицидов

Место отлова	Кол-во просм. кл	Всего м/я	м/я, %	2 м/я, %	Нестандартные эритроциты
п.Бескайнар	60000	0,14±0,012	0,11±0,012	0,016±0,004	
п.Кызылкайрат	80000	0,36±0,022*	0,23±0,013	0,065±0,007	
п.Амангельды	50000	0,40±0,022*	0,38±0,022	0,012±0,005	0,01±0,003
п.Бельбулак	70000	0,41±0,024*	0,39±0,024	0,01±0,004	0,006±0,003
п.Енбекши	50000	0,38±0,022*	0,38±0,022		0,1±0,012
п.Таукаратурык	80000	0,054±0,008	0,054±0,008		
п.Басшы (контроль)	60000	0,03±0,007	0,03±0,007		0,095±0,012
Примечание: * $p \leq 0,01$					

Частота микроядер в эритроцитах периферической крови мышевидных грызунов, отловленных в мониторинговых точках Бельбулак, Амангельды, Кызылкайрат, Енбекши, находится примерно на одном уровне (0,36-0,41%), при этом она достоверно ($p \leq 0,01$) отличается от результатов, полученных при анализе грызунов, отловленных в регионах сравнения – п. Басшы (0,03%) и п. Таукаратурык (0,054%). Это свидетельствует о значительном увеличении частоты нарушений генетического аппарата исследованных животных, обитающих вблизи мест складирования старых не утилизируемых пестицидов. Примерно в 30% случаев микроядра имели довольно крупные размеры, также были зарегистрированы эритроциты с двумя микроядрами. В некоторых работах показано, что в эритроцитах белых беспородных мышей выявляется примерно $0,025 \pm 0,011\%$ микроядер [28,

29], что соответствует полученным данным из групп сравнения и свидетельствует о значительном увеличении частоты нарушений генетического аппарата исследованных животных вблизи мест складирования старых не утилизируемых пестицидов.

Оценку степени поврежденности ДНК у мониторинговых животных проводили методом comet-test, который, согласно данным литературы, широко используется в экологических исследованиях [30-33].

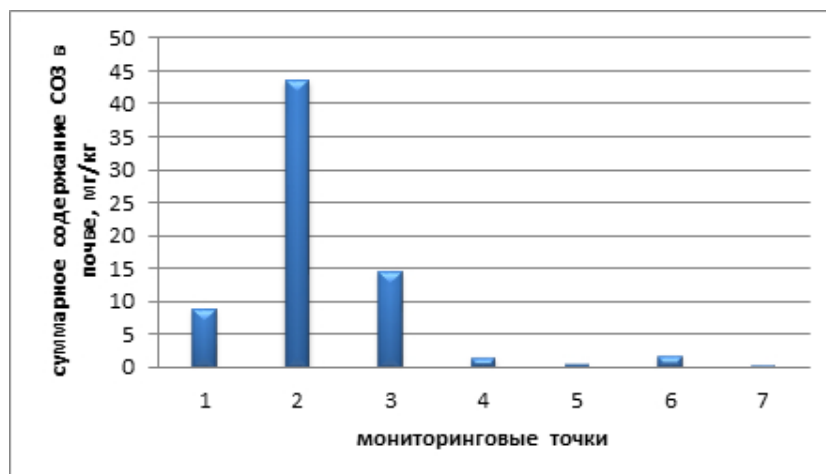
Для оценки степени поврежденности ДНК использовали критерий – индекс ДНК-комет ($I_{\text{ДНК}}$). Задача исследований состояла в том, чтобы выяснить степень спонтанного уровня поврежденности генома в клетках периферической крови мониторинговых животных. В таблице 3 представлены полученные результаты.

Таблица 3 – Изучение степени спонтанного уровня поврежденности генома у мышевидных грызунов методом comet-test

Место отлова	Просмотрено клеток	$I_{\text{ДНК}}$
Бескайнар	140	2,04
Кызылкайрат	134	3,11
Амангельды	245	2,58
Бельбулак	190	2,28
Енбекши	206	2,70
Таукаратурык	173	1,74
Басшы	167	1,44

При проведении comet-test на лимфоцитах мышевидных грызунов, отловленных во всех мониторинговых точках со складированием пестицидов, показано, что принципиальной разницы в генотоксическом эффекте животных по поселкам не наблюдается. Тем не менее, показателем наличия и степени генотоксического эффекта при использовании comet-test является индекс повреждения (ИП), который вычисляется по формуле: $ИП = \frac{\langle I_{\text{днк}} \rangle (\text{опыт})}{\langle I_{\text{днк}} \rangle (\text{контроль})}$. $ИП \geq 2,0$, указывает на проявление генотоксического эффекта [34]. Таким образом, генотоксический эффект у мышевидных грызунов в исследованных мониторинговых точках по сравнению с Алтын-Эмель (регион сравнения) выявлен только для животных, отловленных в районе п. Кызылкайрат.

В отобранных пробах почвы из 5-ти мест расположения складов устаревших пестицидов и 2-х мест сравнения определяли содержание 24 хлорорганических пестицидов (СОЗ) и их метаболитов. На рисунке 2 отражено суммарное содержание СОЗ в образцах почвы, взятых возле разрушенных складов пестицидов обследованных населенных пунктов. При исследовании проб почвы было установлено, что вокруг территорий бывших хранилищ пестицидов почва имеет поликомпонентное загрязнение. Основными загрязнителями почвы при этом являются ДДТ (0,1402-6,98790 мг/кг) и его метаболиты 4,4ДДД (0,0117-39,1537 мг/кг) и ДДЭ (0,1402-6,9879 мг/кг) и дельдрин (0,0036-0,289 мг/кг). Также собранные образцы почвы содержали β -ГХГ, альдрин, дибутилэндан, эндосульфансульфат, гептахлорэпоксид, дельдрин, эндрин, хлорбензилат.



Мониторинговые точки: 1 – Бескайнар, 2 – Кызылкайрат, 3 – Амангельды, 4 – Бельбулак, 5 – Енбекши, 6 – Таукаратурык, 7 – Алтын-Эмель

Рисунок 2 – Суммарное содержание СОЗ в почве в исследованных мониторинговых точках

Установлено, что во всех пробах общее количество пестицидов в почве превышает ПДК. Наиболее загрязненными пестицидами оказались пробы почвы, взятые с территорий бывших хранилищ пестицидов, расположенных в селах Кызылкайрат, Амангельды и Бескайнар. В п. Кызылкайрат концентрация пестицидов в почве превышала ПДК в 60-120 раз. Концентрация СОЗ-пестицидов в пробах почвы, взятых с территорий бывших хранилищ пестицидов, расположенных в селах Белбулак и Амангельды, также превышала ПДК в 9-15 раз. В п. Таукаратурык, где более 20 лет на бывших сельхозугодьях уже

не применяют пестициды, концентрация отдельных СОЗ-пестицидов в почве превысила ПДК в 17 раз. Следует отметить, что соотношение ДДТ и его производных позволяет приблизительно оценить время появления и разложения остаточных концентраций пестицидов, содержащихся в почвах. Таким образом, соотношение $(DDE + DDD) / DDT > 1$ указывает на «старое» использование ДДТ и его активное превращение микроорганизмами.

На основании имеющихся данных проведен корреляционный анализ результатов микроядерного анализа, оценки степени по-

врежденности ДНК у мониторинговых животных comet-test и суммарного содержания СОЗ в почве исследованных мониторинговых точек. Корреляционный анализ между частотой микроядер и содержанием СОЗ составил 0,36. Связь в данном случае слабая. Статистическая обработка результатов comet-test и суммарного содержания СОЗ выявила количественную оценку тесноты связи в 0,70 единиц. По шкале Чеддока это значение соответствует качественной характеристике силы связи как «заметная/высокая». При этом она удовлетворительно описывается полиномиальным уравнением $y = 26,13x^2 - 99,22x + 93,17$, с величиной достоверности аппроксимации $R^2 = 0,73$. Полученные данные свидетельствуют об общем соответствии уровня пестицидной загрязненности изучаемых территорий, результатам анализов с помощью биоиндикаторов.

Исследования чувствительности и корреляции между тест-системами, которые применяют для анализа потенциальной опасности пестицидов, имеют фундаментальное значение для более точной оценки экологических рисков, а также для экстраполяции данных на другие не целевые организмы, в том числе и на человека. Чувствительность применяемых тест-систем различна и зависит не только от его разрешающей способности (например, у мышей карбосульфат вызывал значимое повышение частоты хромосомных нарушений в 7 раз (5 мг/кг массы тела), а частоты полихроматофильных эритроцитов с микроядрами в 3,5 раза при той же дозе [35]. В связи с этим при использовании одной тест-системы мутагенную активность выявляют примерно у 40-50% исследуемых пестицидов, тогда как пять тест-систем позволяют обнаружить мутагенную активность у более чем 90% изучаемых пестицидов [36]. Поэтому не существует единого метода, позволяющего однозначно оценить генотоксический потенциал исследуемого агента, что делает необходимым использование комплекса методов, выполняемых на разных тест-объектах *in vitro* и *in vivo* (от микроорганизмов и высших растений до культур клеток человека и животных).

Также большое значение имеет состав компонентов препаративной формы и совместное применение различных препаратов, как это обычно происходит на практике. Это зачастую приводит к синергидному действию пестицидов. Так, дельтаметрин и тиаклоприд индуцировали значимое увеличение частоты микроядер и хро-

мосомных aberrаций в клетках костного мозга крыс. А их комбинация вызывала еще большее генотоксическое действие, чем каждый из них по отдельности [37]. Или, ранее широко применяемые пестициды – паратион-метил и карбофуран в виде отдельных соединений не оказывали генотоксического действия на клетки кератиноцитов человека *in vitro*, а их комбинация вызывала явно выраженный синергетический генотоксический эффект при оценке методом comet-test [38].

В комплексном мониторинге загрязнения территорий бывших хранилищ пестицидов Алмагинской области, в рамках которого проведено данное исследование, кроме микроядерного и comet-test, на мышевидных грызунах использовали также тест Эймса, Allium-test, систему *Drosophila melanogaster*, микроядерный тест на других биоиндикаторах, *in vitro* тесты – культуры лимфоцитов человека и животных. Все эти тесты показали схожую ранговую степень загрязнения поселков, согласно химическому анализу почв, не смотря на их разную чувствительность. Выше уже было сказано о важности корреляции между тест-системами для экстраполяции данных, например, на нецелевые организмы, подвергающиеся воздействию пестицидов. Поэтому проведен корреляционный анализ результатов comet-test и микроядерного теста проведенных на мышах. Он показал их достоверную взаимосвязь – 0,85, $p \leq 0,01$ и может достаточно точно описываться степенным и линейным уравнениями (Рис. 3).

Из значимых значений корреляций с использованием разных тест-объектов следует отметить взаимосвязь между частотой хромосомных aberrаций при анализе образцов почв на культурах лимфоцитов человека и частотой микроядер в эритроцитах грызунов (0,90, $p \leq 0,01$) и comet-test (0,70). Также согласно данным литературы, хорошую корреляцию с тестами, применяемыми на млекопитающих, показывает Allium-test. Так, Rank and Nilsen показали корреляцию в 82% в отношении теста на канцерогенность у грызунов и Allium-test [39]. В нашем исследовании небольшая корреляция в 0,50 была показана только между comet-test на мышевидных грызунах и результатами Allium-test в исследовании природной воды из исследуемых поселков. Некоторые авторы эту некорреляцию связывают с ферментативной активностью процесса детоксикации экзогенных веществ и репарации ДНК, которые менее актуальны в растительных клетках, чем у млекопитающих [40].

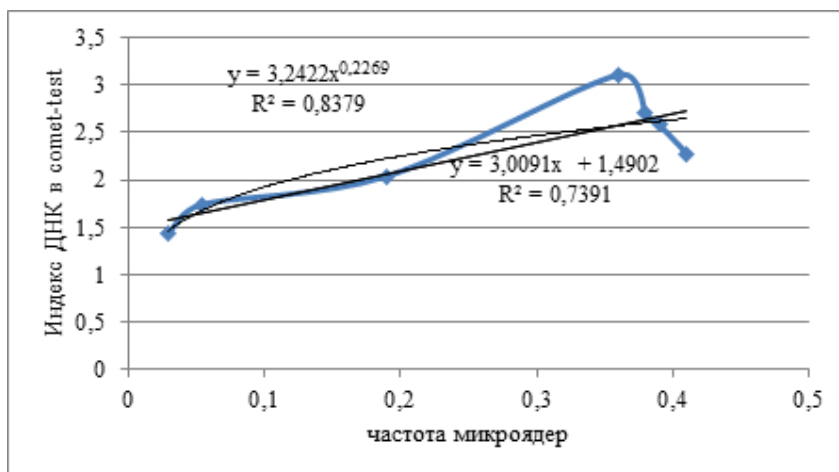


Рисунок 3 – Анализ корреляционной зависимости результатов comet-test и микроядерного теста

Проблемы, связанные с влиянием пестицидов, связаны не только с их общетоксическим действием, но и с отдаленными последствиями, спектр которых в научной литературе постоянно расширяется. Кроме мутагенного и канцерогенного эффектов сообщается также об иммунотоксических эффектах [41], а также об эпигенетических изменениях [42]. При этом даже микродозы пестицидов, которые не превышают ПДК, в условиях хронического поступления, подавляют жизненно важные функции организма [43] и отсутствие интоксикации не является свидетельством невозникновения изменений на более тонком уровне. В нашем исследовании, даже при отсутствии изменений морфофункциональных показателей у мышевидных грызунов, обитающих на территории, загрязненной пестицидами, выявляется генотоксический эффект.

Заключение

Оценка генетического статуса мышевидных грызунов, отловленных в мониторинговых точках, вблизи складов устаревших пестицидов, выявила достоверно повышенную частоту микроядер в эритроцитах периферической крови, несмотря на отсутствие морфо-функциональных изменений у обследованных животных. Резуль-

таты исследования степени антропогенного воздействия на мышевидных грызунов при оценке экологического состояния микроядерным и comet тестами, вокруг бывших мест складирования старых не утилизированных пестицидов, соответствуют химическому загрязнению почв в мониторинговых точках, т.е. мыши являются чувствительными биоиндикаторами загрязнителей почвы. Несмотря на корреляцию между некоторыми тест-объектами, использование различных систем тестирования важно для более полной оценки различных аспектов действия агента, таким образом, получая полный обзор вызываемых им эффектов и степени их опасности.

Конфликт интересов. Все авторы ознакомлены с содержанием статьи и не имеют конфликта интересов.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке Национальной программы грантов Казахстана на 2018-2020 годы. Финансирование предоставлено Министерством образования и науки Республики Казахстан в рамках НТП: №BR05236379 «Комплексная оценка влияния неутилизированных и запрещенных к использованию пестицидов на генетический статус и здоровье населения Алматинской области».

Литература

- 1 Федоров Л.А., Яблоков А.В. Пестициды – токсический удар по биосфере и человеку. – М.: Наука, 1999. – 462 с.
- 2 Nag S.K., Raikwar M.K. Persistent organochlorine pesticides residues in animal feed // *Environ. Monit. Assess.* – 2011. – V.174. – P.327–335.
- 3 Nougadère A., Sirot V., Kadar A. et al. Total diet study on pesticide residues in France: levels in food as consumed and chronic dietary risk to consumers // *Environ. Int.* – 2012. – V.45. – P.135–150.
- 4 Witczak A., Abdel-Gawad H. Assessment of health risk from organochlorine pesticides residues in high-fat spreadable foods produced in Poland // *J. Environ. Sci. Health.* – 2014. – V.49. – P.917–928.
- 5 Sponsler D.B., Grozinger C.M., Hitaj C., Rundlöf M., Botiase C., Codef A., Lonsdorf E.V., Melathopoulos A.P., Smith D.J., Suryanarayanan S., Thogmartin W.E., Williams N.M., Zhangk M., Douglas M.R. Pesticides and pollinators: A socioecological synthesis // *Science of The Total Environment.* – 2019. – Vol. 662. P. 1012-1027. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.016>
- 6 Zikankuba V.L., Mwanyika G., Ntwenya J.E., James A., Yildiz F. Pesticide regulations and their malpractice implications on food and environment safety // *Cogent Food & Agriculture.* – 2019. – Vol. 5. <https://doi.org/10.1080/23311932.2019.1601544>
- 7 Philip J., Landrigan M.D., Benbrook Ch. Perspective GMOs, Herbicides, and Public Health // *The New England Journal of Medicine.* – 2015. – V.373. – P.693-695.
- 8 Kaur R., Kaur M.G., Raghav Sh. Pesticides Classification and its Impact on Environment // *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences.* – 2019. – V. 8(3). P. 1889-1897.
- 9 Wanga R., Yuan Y., Yen H., Grieneisen M., Arnold J., Wang D., Wang Ch., Zhanga M. A review of pesticide fate and transport simulation at watershed level using SWAT: Current status and research concerns // *Science of The Total Environment.* – 2019. – Vol. 669. P. 512-526. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.141>
- 10 Беркинбаев Г.Д. Мониторинг стойких органических соединений в окружающей среде в Казахстане // *Экология и промышленность Казахстана.* – 2012. – №4. – С. 36-41.
- 11 Nurzhanova A. et al. Phytoremediation of contaminated soil in Kazakhstan // *Application of Phytoremediation for Cleanup of Industrial, Agricultural and Wastewater Contamination.* Eds P.A. Kulakow, V.V. Pidlisnyuk. Springer Science + Business Media. – 2010. – P. 87-109.
- 12 Nurzhanova A., Kalugin S., Zhambakin K. Obsolete pesticides and application of colonizing plant species for remediation of contaminated soil in Kazakhstan // *Environmental Science and Pollution Research.* – 2013. – Vol 20(4). – P. 2054-2063.
- 13 Nurzhanova A., Kulakow P.A., Rubin E., Rakhimbayev I., Sedlovshik A., Zhambakin K., Kalugin S., Kolysheva E., Erickson L.E. Obsolete Pesticide Pollution and Phytoremediation of Contaminated Soil in Kazakhstan // *In Application of Phytotechnologies for Cleanup of Industrial, Agricultural, and Wastewater Contamination.* – 2009. Springer, Dordrecht, The Netherlands. – P. 87-112.
- 14 Tosi S. and Nieh J.C. Lethal and sublethal synergistic effects of a new systemic pesticide, flupyradifurone (Sivantow), on honeybees // *Proceedings of the Royal Society. Biological Science.* – 2019. – Vol. 286. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2019.0433>
- 15 Замалетдинов Р. И., Хайрутдинов И. З., Балашова О. А., Гаранин В. И. Перспективы использования земноводных при оценке состояния окружающей среды на урбанизированных территориях // *Актуальные экологические проблемы Республики Татарстан.* – Казань: Отечество, 2004. – С. 84-85.
- 16 Ильинских Н.Н., Ильинских И.Н., Некрасов В.Н. Использование микроядерного теста в скрининге и мониторинге мутагенов // *Цитология и генетика.* –1983. –Т.22, №1. –С.68–72.
- 17 Favio E. Pollo, Clarisa L. Bionda Common toad *Rhinella arenarum* (Hensel, 1867) and its importance in assessing environmental health: test of micronuclei and nuclear abnormalities in erythrocytes // *Environmental Monitoring and Assessment.* – 2015. – 187:581. – P. 2-4.
- 18 Mitkovska V., Chassovnikarova T., Atanassov N., Dimitrov H. Environmental genotoxicity evaluation using a micronucleus test and frequency of chromosome aberrations in free-living small rodents // *J. BioSci. Biotech.* 2012a; 1(1): 67-71.
- 19 Struwe M, Greulich KO, Suter W, Plappert-Helbig U. The photo comet assay-A fast screening assay for the determination of photo genotoxicity in vitro // *Mutat. Res.* – 2007. – Vol. 632, № (1–2). – P. 44–57.
- 20 Mitkovska V., Chassovnikarova T., Atanasov N., Dimitrov H. DNA damage detected by Comet assay in *Apodemus flavicollis* (Melchior, 1834) from Strandzha Natural Park. *Acta zool. bulg.* 2012b; 4: 155-158.
- 21 Гурова Я.В., Мордык А.В. Проблемы генотоксичности: причины, механизм, необходимость изучения у больных туберкулезом, пути преодоления // *ЭНИ Забайкальский медицинский вестник №1/2015 С.152-160 ИДНК*
- 22 Рокицкий П.Ф. Введение в статистическую генетику. – Минск: Высшая школа, 1978. – 448 с.
- 23 Книга генетического фонда фауны Казахской ССР. Ч.1: Позвоночные животные. – Алма-Ата, 1989. – 214 с.
- 24 Млекопитающие Казахстана / Под ред. Слудского А.А., Гвоздева Е.В., Страутмана Е.И. – Алма-Ата: Наука, 1977 – 1978. Т.1. Ч.2. – 492 с.
- 25 Млекопитающие Казахстана / под ред. Слудского А.А., Гвоздева Е.В., Страутмана Е.И. – Алма-Ата: Наука, 1977. Т. I. Ч. 2. – 536 с.
- 26 Млекопитающие Казахстана / под ред. Слудского А.А., Гвоздева Е.В., Страутмана Е.И. – Алма-Ата: Наука 1980. Т. I. Ч. 3. – 492 с.
- 27 Milvia C.C., Nesti C., Muzzoli M., Pasetti P., Pinamonti S. Correlation between age and DNA damage detected by FADU in human peripheral blood lymphocytes // *Mutat. Res.* – 1996. – 316. – P. 201–208.
- 28 Дурнова Н.А., Курчатова М.Н. Влияние растительных экстрактов на индукцию микроядер циклофосфаном в эритроцитах крови беспородных белых мышей // *Цитология.* – 2015. – № 6. – С. 452-458.

- 29 Курчатова М.Н., Дурнова Н.А., Полуконова Н.В. Влияние экстрактов, содержащих биофлавоноиды, на индукцию микроядер диоксином в эритроцитах крови беспородных белых мышей // Вестник ВГУ, Серия: химия. биология. Фармация. – 2014. – № 2. – С. 58-65.
- 30 Ковалева О.А. Институт агроэкологии Украинской академии аграрных наук, Киев Цитогенетические аномалии в соматических клетках млекопитающих // Цитология и генетика. – 2008. – № 1. – С. 58-72.
- 31 Рябченко Н.Н., Антошина М.М., Насонова В.А. и др. Аберрации хромосом в лимфоцитах человека при различной продолжительности культивирования после облучения // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2004. – Т. 44, № 2. – С. 146-150.
- 32 Cerqueira E.M., Gomes-Filho I.S., Trindade S., Lopes M.A., Passos J.S., Machado-Santelli G.M. Genetic damage in exfoliated cells from oral mucosa of individuals exposed to X-rays during panoramic dental radiographies // *Mutat. Res.* – 2004. – Vol. 562, № 1–2. – P. 111-117.
- 33 Godderis L., Aka P., Mateuca R., Kirsch-Volders M., Lison D., Veulemans H. Dose-dependent influence of genetic polymorphisms on DNA damage induced by styrene oxide, ethylene oxide and gamma-radiation // *Toxicology.* – 2006. – Vol. 219, № 1–3. – P. 220-229.
- 34 Оценка генотоксических свойств методом ДНК-комет in vitro. Методические рекомендации. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. – 15 с.
- 35 Giri S., Giri A., Sharma G., Prasad S. Mutagenic effect of carbosulfan, a carbamate pesticide. *Mutat. Res.* 2002; 519(1-2): 75-82. doi: 10.1016/j.fct.2009.09.041
- 36 Федоров Л.А., Яблоков А.В. Пестициды – токсический удар по биосфере и человеку. М.: Наука; 1999. <http://levfedorov.ru/pest-9-4-1/>.
- 37 Şekeroğlu V., Şekeroğlu Z.A., Kefelioğlu H. Cytogenetic effects of commercial formulations of deltamethrin and/or thiacloprid on wistar rat bone marrow cells // *Environ. Toxicol.* – 2013. – Vol. 28, № 9. – P. 524—31. doi: 10.1002/tox.20746
- 38 Abhishek A., Ansari N.G., Shankhar S.N., Jain A., Singh V. In vitro toxicity evaluation of low doses of pesticides in individual and mixed condition on human keratinocyte cell line // *Bioinformation.* – 2014. – Vol. 10, № 12. – P. 716-20. doi: 10.6026/97320630010716.
- 39 Rank J., Nielsen M.H., Evaluation of the Allium anaphase–telophase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater // *Mutat. Res.* 1994. – Vol. 312. – P. 17–24.
- 40 Feretti D., Zerbini I., Ceretti E., Villarini M., C. Zani, Moretti M., Fatigoni C., Orizio G., Donato F., Monarca S. Evaluation of chlorite and chlorate genotoxicity using plant bioassays and in vitro DNA damage tests // *Water Res.* – 2008. – Vol. 42. – P. 4075–4082.
- 41 Герунов Т.В., Редькин Ю.В., Герунова Л.К. Иммунотоксичность пестицидов: роль в патологии животных и человека // *Успехи современной биологии.* – 2011. – Т. 131, № 5. – С. 474-482
- 42 Дипак Чопра, Рудольф Танзи Супергены. На что способна твоя ДНК? Litres, 2017 ISBN 5040575548, 9785040575541
- 43 Илюшина Н.А., Егорова О.В., Масальцев Г.В., Аверьянова Н.С., Ревазова Ю.А. Мутагенность и канцерогенность пестицидов, опасность для здоровья человека. Систематический обзор // *Здравоохранение Российской Федерации.* – 2017. – Т 61, № 2. – С. 96-102 DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0044-197X-2017-61-2-96-102>.

References

- 1 Fedorov, L.A. and A.V. Iablokov. "Pesticides – toxic impact on the biosphere and man." *M. Science*, (1999): 462
- 2 Nag, S.K and M.K. Raikwar. "Persistent organochlorine pesticides residues in animal feed." *Environ. Monit. Assess.* 174 (2011): 327–335
- 3 Nougadère, A., Sirot, V., Kadar, A., et al. "Total diet study on pesticide residues in France: levels in food as consumed and chronic dietary risk to consumers." *Environ. Int.* 45 (2012): 135–150
- 4 Witezak, A. and H. Abdel-Gawad. "Assessment of health risk from organochlorine pesticides residues in high-fat spreadable foods produced in Poland." *J. Environ. Sci. Health* 49 (2014): 917–928
- 5 Sponsler, D.B., Grozinger, C.M., Hitaj, C., Rundlöf, M., Botiase, C., Codef, A., Lonsdorf, E.V., Melathopoulou, A.P., Smith, D.J., Suryanarayanan, S., Thogmartin, W.E., Williams, N.M., Zhang, M. and M.R. Douglas. "Pesticides and pollinators: A socioecological synthesis." *Science of The Total Environment* 662 (2019): 1012-1027
- 6 Zikankuba, V.L., Mwanyika, G., Ntwenya, J.E., James, A. and F. Yildiz. "Pesticide regulations and their malpractice implications on food and environment safety." *Cogent Food & Agriculture* 5 (2019)
- 7 Philip, J., Landrigan, M.D., and Ch. Benbrook. "Perspective GMOs, Herbicides, and Public Health." *The New England Journal of Medicine* 373 (2015): 693-695
- 8 Kaur, R., Kaur, M.G., and Sh. Raghav. "Pesticides Classification and its Impact on Environment." *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 8(3) (2019): 1889-1897
- 9 Wanga, R., Yuan, Y., Yen, H., Grieneisen, M., Arnold, J., Wang, D., Wang, Ch. and M. Zhanga. "A review of pesticide fate and transport simulation at watershed level using SWAT: Current status and research concerns" *Science of The Total Environment* 669 (2019): 512-526
- 10 Berkinbaev, G.D. "Monitoring stoikikh organicheskikh soedinenii v okruzhaiushchei srede v Kazakhstane [Monitoring persistent organic compounds in the environment in Kazakhstan]." *Ecology and industry of Kazakhstan* no. 4 (2012): 36-41

- 11 Nurzhanova A. et al., "Phytoremediation of contaminated soil in Kazakhstan," Application of Phytoremediation for Cleanup of Industrial, Agricultural and Wastewater Contamination, ed. P.A. Kulakow and V.V. Pidlisnyuk. (Springer Science + Business Media), (2010): 87-109
- 12 Nurzhanova A., Kalugin S. and K. Zhambakin. "Obsolete pesticides and application of colonizing plant species for remediation of contaminated soil in Kazakhstan" Environmental Science and Pollution Research, 20(4) (2013): 2054-2063
- 13 Nurzhanova A., Kulakow P.A., Rubin E., Rakhimbayev I., Sedlovshik A., Zhambakin K., Kalugin S., Kolysheva E. and L.E Erickson. "Obsolete Pesticide Pollution and Phytoremediation of Contaminated Soil in Kazakhstan" in Application of Phytotechnologies for Cleanup of Industrial, Agricultural, and Wastewater Contamination, Springer, Dordrecht, The Netherlands (2009): 87-112
- 14 Tosi S. and J.C. Nieh. "Lethal and sublethal synergistic effects of a new systemic pesticide, flupyradifurone (Sivantow), on honeybees." Proceedings of the Royal Society. Biological Science 286 (2019)
- 15 Zamaletdinov R. I., Khairutdinov I. Z., Balashova O. A., V. I. Garanin. "Perspektivy ispol'zovaniia zemnovodnykh pri otsenke sostoianiia okruzhaiushchei sredy na urbanizirovannykh territoriiakh[Prospects for the use of amphibians in assessing the state of the environment in urban areas]." Fatherland: Actual environmental problems of the Republic of Tatarstan. – Kazan (2004): 84-85
- 16 Il'inskikh N.N., Il'inskikh I.N., V.N. Nekrasov. "Ispol'zovanie mikroiadernogo testa v skringinge i monitoringe mutagenov [The use of micronucleus test in screening and monitoring of mutagens]." Cytology and Genetics 22 no.1 (1983): 68–72
- 17 Favio E. Pollo and L. Clarisa. "Bionda Common toad *Rhinella arenarum* (Hensel, 1867) and its importance in assessing environmental health: test of micronuclei and nuclear abnormalities in erythrocytes" Environmental Monitoring and Assessment. 187:581 (2015): 2-4.
- 18 Mitkovska V., Chassovnikarova T., Atanassov N. and H. Dimitrov. "Environmental genotoxicity evaluation using a micronucleus test and frequency of chromosome aberrations in free-living small rodents." J. BioSci. Biotech. 1(1) (2012a): 67-71
- 19 Struwe M, Greulich KO, Suter W and U. Plappert-Helbig. "The photo comet assay-A fast screening assay for the determination of photo genotoxicity in vitro." Mutat. Res. 632, no. (1–2) (2007): 44–57
- 20 Mitkovska V., Chassovnikarova T., Atanasov N. and H Dimitrov. "DNA damage detected by Comet assay in *Apodemus flavicollis* (Melchior, 1834) from Strandzha Natural Park." Acta zool. bulg. 4 (2012b): 155-158
- 21 Gurova Ia.V., A.V. Mordyk. "Problemy genotoksichnosti: prichiny, mekhanizm, neobkhodimost' izucheniia u bol'nykh tuberkulezom, puti preodoleniia [Problems of genotoxicity: causes, mechanism, the need to study patients with tuberculosis, ways to overcome]." ENI Trans-Baikal Medical Bulletin IDNC. no.1 (2015): 152-160
- 22 Rokitskii P.F. "Vvedenie v statisticheskuiu genetiku [Introduction to Statistical Genetics]." Higher School, Minsk (1978): 448
- 23 Pozvonochnye zhivotnye [Vertebrate animals]. Book of the genetic fund of the fauna of the Kazakhstan SSR. Alma-Ata, I (1989): 214
- 24 "Mlekopitaiushchie Kazakhstana[Mammals of Kazakhstan]." Pod.red. Sludskogo A.A., Gvozdeva E.V., E.I. Strautmana. Science, Alma-Ata, I(2) (1977 – 1978): 492
- 25 "Mlekopitaiushchie Kazakhstana[Mammals of Kazakhstan]." Pod.red. Sludskogo A.A., Gvozdeva E.V., E.I. Strautmana. Science, Alma-Ata, I(2) (1977): 536
- 26 "Mlekopitaiushchie Kazakhstana[Mammals of Kazakhstan]." Pod.red. Sludskogo A.A., Gvozdeva E.V., E.I. Strautmana. Science, Alma-Ata, I(3) (1977): 492
- 27 Milvia C.C., Nesti C., Muzzoli M., Pasetti P. and S. Pinamonti. "Correlation between age and DNA damage detected by FADU in human peripheral blood lymphocytes " Mutat. Res. 316 (1996): 201–208
- 28 Durnova N.A., M.N. Kurchatova. "Vliianie rastitel'nykh ekstraktov na induktsiiu mikroiadernykh tsiklofosfanom v eritrotsitakh krovi besporodnykh belykh myshei [The effect of plant extracts on the induction of micronuclei by cyclophosphamide in blood red blood cells of outbred white mice]." Cytology, № 6 (2015): 452-458
- 29 Kurchatova MN., Durnova N.A., N.V. Polukonova. "Vliianie ekstraktov, sodержashchikh bioflavonoidy, na induktsiiu mikroiadernykh dioksidinom v eritrotsitakh krovi besporodnykh belykh myshei [The effect of extracts containing bioflavonoids on the induction of micronuclei with dioxidine in red blood cells of outbred white mice]." Vestnik VGU, Series: chemistry, biology, pharmacy no. 2 (2014): 58-65
- 30 Kovaleva O.A. "Tsitogeneticheskie anomalii v somaticheskikh kletkakh mlekopitaiushchikh[Cytogenetic abnormalities in somatic mammalian cells]." Cytology and genetics, Institute of Agroecology, Ukrainian Academy of Agrarian Sciences, Kiev no.1 (2008): 58-72
- 31 Riabchenko N.N., Antoshchina M.M., Nasonova V.A. i dr. "Aberratsii khromosom v limfotsitakh cheloveka pri razlichnoi prodolzhitel'nosti kul'tivirovaniia posle oblucheniia[Chromosome aberrations in human lymphocytes at different cultivation durations after irradiation]." Radiation biology. Radioecology 44 no.2 (2004): 146-150
- 32 Cerqueira E.M., Gomes-Filho I.S., Trindade S., Lopes M.A., Passos J.S. and G.M. Machado- Santelli. "Genetic damage in exfoliated cells from oral mucosa of individuals exposed to X-rays during panoramic dental radiographies." Mutat. Res. 562 no.1-2 (2004): 111-117
- 33 Godderis L., Aka P., Mateuca R., Kirsch-Volders M., Lison D. and H. Veulemans. "Dose-dependent influence of genetic polymorphisms on DNA damage induced by styrene oxide, ethylene oxide and gamma-radiation." Toxicology 219 no.1-3 (2006): 220-229
- 34 "Otsenka genotoksicheskikh svoystv metodom DNK-komet in vitro[Assessment of genotoxic properties by the method of DNA-comets in vitro]." Guidelines. M.: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor (2010): 15.

- 35 Giri S., Giri A., Sharma G. and S. Prasad. "Mutagenic effect of carbosulfan, a carbamate pesticide." *Mutat. Res.* 519 no.1-2 (2002): 75-82
- 36 Fedorov L.A., A.V. Iablokov. "Pestitsidy – toksicheskiy udar po biosfere i cheloveku [Pesticides – toxic impact on the biosphere and humans]." *Moscow. Science* (1999).
- 37 Şekeroğlu V., Şekeroğlu Z.A. and H. Kefelioğlu. "Cytogenetic effects of commercial formulations of deltamethrin and/or thiacloprid on wistar rat bone marrow cells." *Environ. Toxicol.* 28 no.9 (2013): 524-31
- 38 Abhishek A., Ansari N.G., Shankwar S.N., Jain A. and V. Singh. "In vitro toxicity evaluation of low doses of pesticides in individual and mixed condition on human keratinocyte cell line." *Bioinformation.* 10 no.12 (2014): 716—20
- 39 Rank J. and M.H. Nielsen. "Evaluation of the *Allium* anaphase–telophase test in relation to genotoxicity screening of industrial wastewater." *Mutat. Res.* 312 (1994): 17–24
- 40 Feretti D., Zerbini I., Ceretti E., Villarini M., Zani C., Moretti M., Fatigoni C., Orizio G., Donato F. and S. Monarca. "Evaluation of chlorite and chlorate genotoxicity using plant bioassays and in vitro DNA damage tests." *Water Res.* 42 (2008) 4075–4082
- 41 Gerunov T.V., Red'kin Iu.V., L.K. Gerunova. "Immunotoksichnost' pestitsidov: rol' v patologii zhivotnykh i cheloveka [Immunotoxicity of pesticides: a role in the pathology of animals and humans]." *Successes of modern biology.* 131 no. 5 (2011): 474-482
- 42 Chopra Dipak, Rudol'f Tanzi. *Supergen. Na chto sposobna tvoia DNK? [Supergens. What is your DNA capable of?]* Litres (2017)
- 43 Iliushina N.A., Egorova O.V., Masal'tsev G.V., Aver'ianova N.S., Iu.A. Revazova. "Mutagennost' i kantserogennost' pestitsidov, opasnost' dlia zdorov'ia cheloveka [Mutagenicity and carcinogenicity of pesticides, danger to human health]." *Systematic review. Healthcare of the Russian Federation* 61 no.2 (2017): 96-102