

Н.В. Мить*, О.Г. Чередниченко, А.С. Мусаева, О.Х. Хамдиева, А.С. Амиргалиева,
М.О. Бегманова, А.Д. Толебаева, А.Л. Пилюгина, С.К. Нуралиев, С.Б. Зайпанова,
Г.А. Койшекенова, А.К. Бекитаева, Т. Қапасұлы

Институт генетики и физиологии, Алматы, Казахстан

**Автор для корреспонденции: nata-mit@yandex.ru*

Оценка мутагенного эффекта проб воды и почвы, собранных вблизи бывших хранилищ хлорорганических пестицидов в Жамбылском районе Алматинской области с использованием различных модельных тест-систем

Устаревшие хлорорганические пестициды в настоящее время запрещены как стойкие органические загрязнители окружающей среды. Не утилизированные должным образом, они продолжают загрязнять почву и воду, накапливаясь в пищевой цепи и нанося вред растениям, животным и организму человека. Цель исследования — оценить загрязнение воды и почвы вокруг складов неутрализованными запрещенными хлорорганическими пестицидами и их возможное генотоксическое действие. Были обследованы бывшие склады пестицидов в двух поселках Жамбылского района Алматинской области. Химический анализ показал загрязнение почвы вокруг складов хлорорганическими пестицидами и тяжелыми металлами. Пробы воды и почвы, отобранные вблизи хранилищ, использовались для оценки экологического риска. Генотоксическое действие проб воды и почвы оценивали на различных модельных объектах: *Salmonella typhimurium*, *Drosophila melanogaster*, *Allium cepa*, культурах лимфоцитов овец и человека. Было обнаружено, что образцы воды и почвы вызывали слабый мутагенный эффект во всех модельных системах, увеличивая частоту мутаций и хромосомных aberrаций. Хотя генотоксический эффект был продемонстрирован для каждой из моделей, разные модели показали разную чувствительность к действию пестицидов и разную степень реакции. Поэтому для адекватной оценки мутагенности пестицидов необходимо применять батарею тестов с разными модельными объектами. Результаты исследований показали, что остатки устаревших пестицидов по-прежнему загрязняют окружающую среду и должны быть своевременно утилизированы безопасным способом, чтобы избежать загрязнения окружающей среды.

Ключевые слова: мутагенный эффект, хлорорганические пестициды, модельные системы, рецессивные летальные мутации, хромосомные aberrации, культуры лимфоцитов, *Salmonella typhimurium*, *Drosophilamelanogaster*, *Allium cepa*.

Введение

Широкое использование пестицидов в сельском хозяйстве приводит к их накоплению в окружающей среде. Особую опасность представляют хлорорганические пестициды, которые являются стойкими органическими загрязнителями (СОЗ) и наносят существенный вред окружающей среде [1–3]. Они не разлагаются в течение длительного времени, накапливаясь в почве; переносятся по воздуху и с водными массами на большие расстояния, передаются по пищевым цепям животным и человеку [4–6]. СОЗ представляют угрозу для здоровья человека. Это связано не только с их общим токсическим воздействием, но также и долгосрочными последствиями, спектр которых постоянно расширяется. Кроме мутагенного и канцерогенного эффектов, зарегистрирован иммунотоксический эффект [7], а также эпигенетические изменения [8]. В то же время даже небольшие дозы пестицидов при хроническом воздействии угнетают жизненные функции организма [9], и отсутствие интоксикации не означает отсутствия изменений на более тонком уровне. Наибольшая опасность пестицидов связана с их генетической активностью. Показано, что многие из них являются мутагенами [10–12]. При этом долговременные экологические последствия применения пестицидов практически не изучены.

Хлорорганические пестициды в настоящее время запрещены к применению. Однако в силу ряда причин запасы этих устаревших пестицидов все еще имеются в некоторых хозяйствах. Они не были утилизированы должным образом, зачастую хранятся под открытым небом и представляют угрозу для окружающей среды.

Данная работа посвящена экотоксикологической оценке мутагенного действия проб воды и почвы, собранных вблизи бывших складов пестицидов в Жамбылском районе Алматинской области (пос. Умбеталы и пос. Каракастек) с использованием модельных систем разного уровня организации.

Работа является продолжением исследований генотоксического эффекта устаревших пестицидов. Аналогичные исследования в Талгарском районе Алматинской области показали, что пробы воды и почвы, загрязненные пестицидами либо продуктами их распада, обладают мутагенным и тератогенным действием на модельные организмы. В пос. Умбеталы и Каракастек, анализируемых в данной работе, запасы устаревших хлорорганических пестицидов в настоящее время не обнаружены. В пос. Каракастек здание склада сохранилось, но местное население разбирает фундамент здания. GPS координаты склада: 43°08'25.7" N — 76°06'14.7" E. На расстоянии 100 м от склада расположены жилые дома, скот пасется вокруг склада. В пос. Умбеталы здание склада разрушено. GPS координаты: 43°16'55.9" N 76°19'58.9" E. Вокруг склада построены жилые дома, рядом есть озеро, где купаются дети.

Для оценки экологической ситуации в данных населенных пунктах и степени риска для населения был проведен химический анализ проб воды и почвы, собранных вблизи бывших складов пестицидов с последующим изучением мутагенности собранных проб на различных модельных системах. Поскольку разные модельные объекты могут обладать различной чувствительностью к мутагенным эффектам, для исследования были взяты 5 модельных объектов разного уровня биологической организации: *Salmonella typhimurium*, *Drosophila melanogaster*, *Allium cepa*, культуры лимфоцитов человека и овец.

Такой подход позволяет провести всестороннюю оценку возможного генотоксического воздействия. *Salmonella typhimurium* и *Drosophila melanogaster* также являются классическими тестерными объектами для определения мутагенности [13–15]. Модель дрозофилы, кроме того, позволяет провести тестирование на тератогенность и оценить эффект на уровне всего организма. Тестовая система на основе *Allium cepa* основана на изучении хромосомных нарушений в клетках апикальной меристемы корня для определения влияния генотоксичных веществ [16]. Культуры лимфоцитов человека и животных являются одной из обязательных тест-систем при оценке влияния мутагенных факторов окружающей среды. Одним из достоинств этой тест-системы является то, что по наблюдаемым типам aberrаций можно достаточно определенно идентифицировать тип мутагенного воздействия. Так, метод анализа хромосомных aberrаций в ФГА-стимулированных лимфоцитах периферической крови широко применяется в исследованиях *in vivo* и *in vitro* как количественный и качественный метод анализа нарушений, индуцированных различными факторами [17].

Материалы и методы

Сбор проб осуществляли в пос. Умбеталы и Каракастек, в непосредственной близости от складов хлорорганических пестицидов. Для анализа собирали образцы питьевой воды (водопроводной) и воды из природных водоемов (которую пьют животные). Пробы питьевой воды использовали для тестирования на культурах лимфоцитов человека, природной — на культурах лимфоцитов овец. Пробы воды отбирали в стерильные пластиковые бутылки в количестве 1 л. Пробы почвы (весом 1–3 кг) собирали в непосредственной близости от бывших складов устаревших пестицидов.

Химический анализ проб воды, почв, продуктов питания проводили согласно договору в аккредитованной испытательной лаборатории ТОО «Научный аналитический центр».

Подготовку проб природной и питьевой воды для теста Эймса на *Salmonella typhimurium* проводили выпариванием (500 мл) и получением сухого осадка. Осадок растворяли в 2 мл ДМСО, который и использовали для анализа. Для остальных модельных систем пробы воды автоклавировали.

Из проб почвы готовили бензолные (для сальмонеллы и дрозофилы) либо водные (для культур лимфоцитов человека и овец, *Allium*-теста) вытяжки. Для приготовления бензолной вытяжки 10 г очищенной от примесей почвы растирали в фарфоровой ступке, просеивали через сито, добавляли 300 мл бензола (хч) и встряхивали в течение 6 ч на встряхивателе. Затем фильтровали и упаривали досуха в вакуумном испарителе при 40–50 °С. Осадок растворяли в 2 мл ДМСО и использовали для анализа. Для приготовления водной вытяжки 10 г почвы заливали 50 мл физиологического раствора (дистиллированной воды) и в течение 3 мин перемешивали. После отстаивания водную фракцию отбирали, центрифугировали, стерилизовали и добавляли в среду культивирования лимфоцитов.

Мутагенный эффект проб воды и почвы оценивали с помощью 5-ти модельных систем: *Salmonella typhimurium*, *Drosophila melanogaster*, *Allium cepa*, культуры лимфоцитов человека и овец.

Тест Эймса проводили по стандартной методике с применением 2 штаммов *Salmonella typhimurium* TA98 и *Salmonella typhimurium* TA100, позитивного, негативного и чистого контролей по

стандартной методике [18, 19]. О наличии мутагенной активности судили по превышению ревертантов над уровнем спонтанного мутирования.

Drosophila melanogaster линии дикого типа *Oregon R* выращивали на питательной среде с добавлением автоклавированных образцов воды в трех концентрациях (3, 5 и 10 %) либо бензолных вытяжек почвы, растворенных в ДМСО (0,1; 0,3 и 0,5 %). В контрольных экспериментах использовали PBS/ДМСО в тех же концентрациях либо корм без обработки. Для учета рецессивных летальных мутаций в X-хромосоме самцов F_0 скрещивали индивидуально с самками тестерной линии *doubleyellow*, содержащей две сцепленные X-хромосомы и позволяющей учитывать летальные мутации в первом поколении [20]. О наличии летали судили по отсутствию самцов в F_1 . Для регистрации летальных мутаций в аутосомах самцов F_0 скрещивали индивидуально с самками линии *Cy/Pm; D/Sb.*, позволяющей учитывать летальные мутации одновременно [21].

Оценка мутагенного потенциала проб воды и почвы на культурах лимфоцитов человека. Проводили анализ хромосомных aberrаций в ФГА-стимулированных лимфоцитах периферической крови. Использовали образцы крови от здоровых доноров, которые отбирали из локтевой вены в гепаринизированные флаконы. Культивирование лимфоцитов и приготовление препаратов проводили по стандартной методике [22]. В культуры лимфоцитов добавляли по 5 или 10 % каждого образца питьевой воды (от количества среды культивирования) (предварительно стерилизованные) либо водной вытяжки почвы. На каждую точку исследования ставили по 3 культуры от разных доноров. В качестве контроля использовали дистиллированную воду и водную вытяжку из почвы «Универсальный грунт». Для внутреннего контроля также использовалась стерильная дистиллированная вода. Препараты окрашивали 4 % красителем Романовского-Гимза. При цитогенетическом анализе определяли число клеток с aberrациями, а также число и тип aberrаций на 100 проанализированных метафаз.

Анализ мутагенной активности в культурах лимфоцитов овец. Использовали образцы периферической крови от 15 здоровых овец (10 овец Едильбайской породы и 5 Гиссарской породы) из относительно экологически чистой зоны (пос. Мынбаево, Алматинская область). Культивирование лимфоцитов периферической крови овец проводили по стандартной методике [23]. На 48 ч в культуру добавляли разные дозы (3, 5, и 10 %) стерилизованных проб воды и водных вытяжек почвы из 2-х исследуемых мест, также поставлена культура для контроля с добавлением 0,9 % NaCl. Цитогенетические препараты окрашивали красителем Гимза, анализировали под микроскопом и определяли частоту клеток с aberrациями, а также тип aberrаций. Приготовлены 110 цитогенетических препаратов, проанализированы 1182 метафазных пластинок.

Приготовление давленных препаратов меристематических клеток корешков Allium sera. Семена *Allium sera* проращивали в чашках Петри при температуре 22–24 °С в тестируемом растворе до появления 2–3 см корешков. Отрезанные корешки (1 см) помещали в фиксатор (этанол/ледяная уксусная кислота 3/1) на 4–24 ч. Гидролизировали в 1N HCl при 60 °С в течение 8–10 мин и окрашивали ацетоорсеином в кипящей бане 6–12 мин. Из темноокрашенного кончика готовили давленный препарат в капле 45 % уксусной кислоты. После приготовления препаратов проводили микроскопический анализ и оценку цитогенетических нарушений в разных стадиях митотического цикла при подсчете 1000 клеток в 3-х повторностях [24].

При анализе полученных данных использовали стандартные методы статистического анализа [25].

Результаты и обсуждение

Химический анализ проб питьевой и природной воды показал, что содержание пестицидов в пробах не превышает предельно допустимых концентраций. Также не обнаружено превышения ПДК тяжелых металлов в собранных пробах воды, как природной, так и питьевой.

Химический анализ проб почвы показал превышение ПДК для ряда пестицидов в 2–18 раз в обоих исследованных поселках. Так, в пос. Каракастек в пробах почвы обнаружены повышенные концентрации α ГХЦГ, β ГХЦГ, альдрин, дельдрин, 4,4-ДДЭ, 2,4-ДДД, эндрин, хлорбензилата, 4,4-ДДТ и эндосульфана 2. В пос. Умбеталы обнаружены гексахлорбензол, альдрин, дельдрин, 4,4-ДДЭ, 2,4-ДДД, эндрин, хлорбензилат, 4,4-ДДТ и эндосульфана 2 в концентрациях, превышающих ПДК. Наибольшее превышение зафиксировано для эндосульфана 2, эндрин и 4,4-ДДТ. Также в пробах почвы обнаружено превышение ПДК тяжелых металлов в 1,1–21,6 раз. Так, в пробах почвы из пос. Каракастек содержание цинка превышает ПДК в 4,5 раза, свинца в 1,1, мышьяка в 8,0, никеля в 5,4, меди в 15,2, хрома в 21,6 раз. В пробах почвы из п. Умбеталы также повышено содержание тяже-

лых металлов: цинка (4,9 ПДК), мышьяка (4,7 ПДК), никеля (3,0 ПДК), меди (10,2 ПДК), хрома (19,7 ПДК).

Таким образом, пробы почвы из исследованных поселков загрязнены как пестицидами, так и тяжелыми металлами.

Далее с использованием модельных тест-систем проведена оценка генотоксического потенциала приоритетных загрязнителей воды и почвы из пос. Каракастек и Умбеталы.

Оценка мутагенного эффекта проб воды и почвы в тесте Эймса. Результаты экспериментов по изучению мутагенной активности на модели *Salmonella typhimurium* представлены в таблице 1.

Т а б л и ц а 1

**Мутагенная активность проб питьевой воды и почвы в стандартном тесте Эймса
на штаммах *Salmonella typhimurium* TA98 и TA100**

№ п/п	Наименование	Среднее кол-во ревертантов на чашку	Превышение над контролем (О/К)	Результат	ТА98		ТА100	
					Среднее кол-во ревертантов на чашку	Превышение над контролем (О/К)	Среднее кол-во ревертантов на чашку	Превышение над контролем (О/К)
	Контроль спонтанный (количество ревертантов на чашку)	25			29			
	ДМСО	24			24			
	Позитивный контроль (ДДТДП)	355			552			
пос. Каракастек								
1	Вода для людей	72,3±1,05	2,9	+	83,3±1,7	2,9		+
2	Вода для животных	53,6±0,70	2,1	+	63,6±1,06	2,2		+
3	Почва	74,3±1,9	3,0	+	73,6±0,92	2,5		+
пос. Умбеталы								
4	Вода для людей	86,0±2,4	3,4	+	74,0±0,72	2,4		+
5	Вода для животных	62,0±1,08	2,5	+	67,0±2,38	2,3		+
6	Почва	84,0±0,87	3,4	+	86,3±2,54	3,0		+

Изучение мутагенной активности в стандартном тесте Эймса без метаболической активации на штаммах *Salmonella typhimurium* TA98 и TA100 показало слабую мутагенность всех типов собранных проб (вода питьевая, вода природная, почва) в исследуемых поселках. Таким образом, образцы питьевой и природной воды, а также образцы почвы из пос. Каракастек и Умбеталы оказывают слабое мутагенное действие на *S. typhimurium*.

Оценка мутагенного и тератогенного эффекта на *Drosophila melanogaster*. Для оценки мутагенного и тератогенного эффектов использовали имаго (F₀), в течение всего личиночного периода питавшихся кормом с добавками. Результаты экспериментов представлены в таблице 2.

Т а б л и ц а 2

Результаты учета аномалий дрозофилы под влиянием образцов воды и почвы, загрязненных пестицидами

Вариант	Гибель куколок и личинок, %	Стерильность самцов, %	Частота аутосомных рецессивных летальных мутаций, %	Частота морфологических изменений имаго, %
1	2	3	4	5
Контроль				
Без обработки	0,38±0,21	0,0±0,00	2,51±1,72	4,2±1,1
1хPBS 10 %	1,51±0,15	0,8±0,71	2,53±1,61	4,5±1,3
DMSO 0,5 %	2,75±0,28	1,0±0,90	5,00±2,40	5,3±1,2
пос. Каракастек				
вода (люди) 3 %	2,24±0,27	0,75±0,73	1,67±1,65	4,46±0,91
вода (люди) 5 %	1,29±0,19	2,26±1,28	1,79±1,77	6,05±0,88
вода (люди) 10 %	1,34±0,21	0,75±0,75	5,00±2,81	6,65±0,99
вода (животные) 3 %	0,77±0,15	0,00±0,00	3,33±2,31	4,87±0,80

1	2	3	4	5
вода (животные)5 %	0,66±0,14	0,00±0,00	6,67±3,22	4,72±0,79
вода (животные)10 %	0,98±0,18	0,78±0,77	1,67±2,73	7,09±1,09
почва 0,1 %	1,61±0,21	0,00±0,00	3,57±2,48	4,53±0,80
почва 0,3 %	1,47±0,19	0,00±0,00	8,93±3,81	5,11±0,73
почва 0,5 %	2,63±0,27	0,78±0,77	3,85±2,67	7,65±0,91
пос. Умбеталы				
вода (люди) 3 %	1,40±0,21	0,72±0,72	1,67±1,65	5,85±0,98
вода (люди) 5 %	1,56±0,22	0,75±0,75	5,00±2,81	5,25±0,84
вода (люди) 10 %	1,31±0,21	0,74±0,73	3,85±2,67	6,07±0,90
вода(животные)3 %	1,33±0,22	1,49±1,05	3,33±2,31	6,65±1,09
вода(животные)5 %	0,62±0,15	3,17±1,56	3,57±2,48	5,91±0,84
вода(животные)10 %	1,40±0,22	2,42±1,38	8,33±3,51	5,21±0,82
почва 0,1 %	2,81±0,28	0,76±0,73	3,33±2,31	5,63±0,91
почва 0,3 %	0,89±0,16	1,63±1,14	7,14±3,44	7,68±1,01
почва 0,5 %	3,26±0,38	1,30±1,29	1,92±1,90	9,74±2,12

Для оценки мутагенного эффекта проб воды и почвы из обследуемых поселков проводили скрининг рецессивных летальных мутаций в X-хромосомах и аутосомах дрозофилы. По результатам скрещиваний самцов F₀ с самками тестерной линии *double yellow* установлено, что пробы воды и почвы не индуцировали рецессивные летальные мутации в X-хромосоме дрозофилы. Во всех вариантах эксперимента зарегистрированы гибель особей на стадии личинок и куколок, а также стерильность самцов. Однако эти показатели не превышали контрольного уровня.

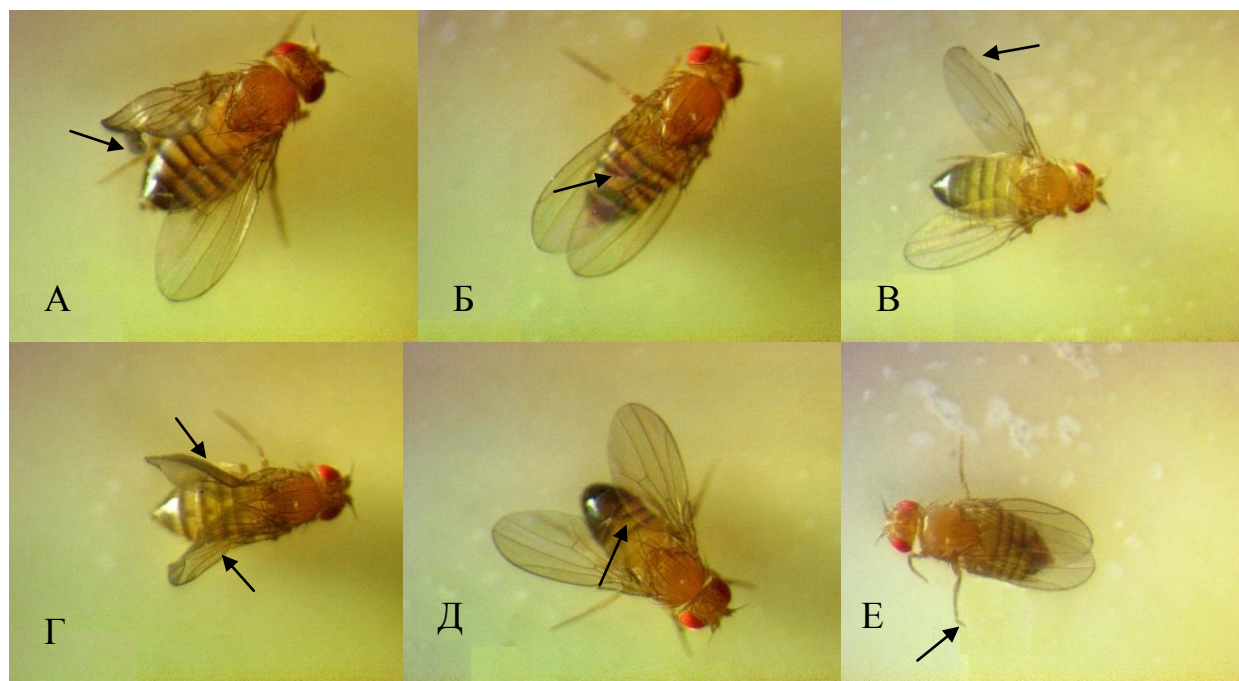
Были скринированы рецессивные летальные мутации во второй и третьей аутосомах дрозофилы, индуцированные пробами воды и почвы. Однако частота возникновения летальных мутаций в аутосомах достоверно не превышала контрольные показатели. Таким образом, не зарегистрирован достоверный мутагенный эффект исследованных проб воды и почвы на аутосомы дрозофилы.

Для оценки тератогенного эффекта всех имаго F₀ просматривали на наличие морфологических изменений и определяли их частоту. Установлено, что пробы воды и почвы способны индуцировать морфологические изменения имаго дрозофилы с частотой 4,46–9,74 %. Повышенная частота морфологических изменений зафиксирована в случае использования 10 % проб природной воды из пос. Каракастек. Также повышена частота морфологических изменений при использовании проб почвы из обоих исследованных поселков. Высокий уровень нарушений можно объяснить повышенной концентрацией тяжелых металлов (свинец, никель, медь, хром, мышьяк) в почве пос. Каракастек и Умбеталы. Анализ наследуемости выявленных морфологических изменений показал, что наблюдаемые изменения крыльев и тергитов являются ненаследуемыми, то есть морфозами.

Спектр изменений крыльев включал смятые, укороченные, растопыренные, изогнутые, нерасправленные крылья, разнообразные складки, вырезки на крыльях и др. (рис. 1). Наиболее частыми из наблюдаемых изменений были дефекты крыльев и тергитов.

Таким образом, пробы воды и почвы из исследованных населенных пунктов способны вызывать ненаследуемые морфологические изменения у имаго дрозофилы. Проведенный нами скрининг позволяет говорить о генотоксическом действии продуктов распада запрещенных пестицидов и тяжелых металлов на онтогенез дрозофилы.

Полученные результаты отличаются от результатов аналогичных исследований, проведенных ранее для 5-ти поселков Талгарского района Алматинской области. Так, в Талгарском районе было отмечено более сильное загрязнение воды и почвы остаточными количествами пестицидов. Являясь химическими мутагенами, пестициды способны оказывать влияние на генетический аппарат и вызывать его наследуемые повреждения, то есть мутации. В предыдущем цикле работ нами выявлены наследуемые изменения формы и размеров глаз у дрозофил, которые передаются в ряду поколений в течение 4-х лет. Кроме того, были скринированы рецессивные летальные мутации в X-хромосоме дрозофилы, а частота рецессивных летальных мутаций в аутосомах была значительно выше, чем в настоящих исследованиях [26]. Более низкая мутагенность, зафиксированная в данном исследовании, связана, в первую очередь, с тем, что содержание пестицидов в пробах было на порядок ниже, чем в Талгарском районе. Таким образом, наблюдается линейная зависимость частоты нарушений от концентрации пестицидов в пробе.



A — смятое крыло, 5 % природной воды, Каракастек, 1×20; *B* — нарушения в строении тергитов, 10 % природной воды, Каракастек, ×10; *B* — крыло оттопырено в сторону, вырезка по краю крыла, 5 % питьевой воды, Умбеталы, 1×20; *Г* — крылья со складками и заломами, 5 % природной воды, Умбеталы, 1×20; *Д* — крылья раздвинуты, нарушения в строении тергитов, 0,5 % почвы, Умбеталы, 1×20; *E* — искривление последнего членика ноги, 0,3 % почвы, Умбеталы, 1×20.

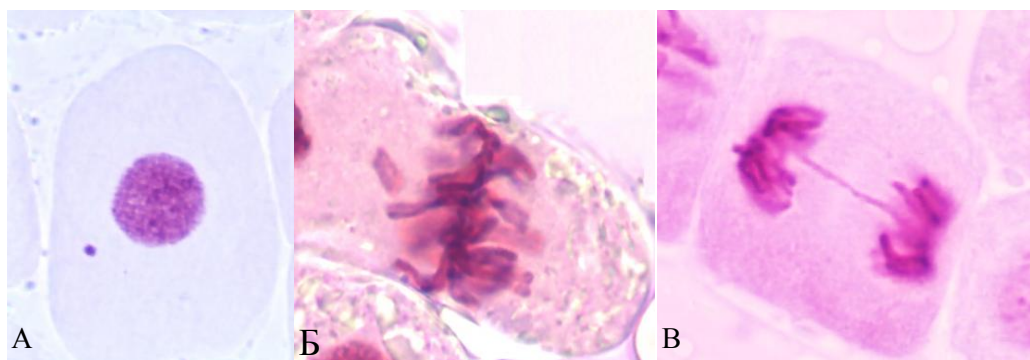
Рисунок 1. Морфологические изменения имаго дрозофилы

Учет цитогенетических нарушений в клетках корешков *Allium cepa*. Основным типом нарушений при проведении *Allium*-теста были микроядра в интерфазных клетках. Также встречались нарушения в метафазе (микроядра, выпавшие хромосомы) и анафазе (микроядра, отставшие хромосомы, мосты) клеточного деления. На стадиях профазы и телофазы нарушений не зафиксировано. В связи с этим выводы о мутагенной активности проб воды были сделаны на основании выявленной частоты нарушений на этих стадиях клеточного цикла (табл. 3). Типы цитогенетических нарушений, наблюдаемых при анализе исследуемых проб, представлены на рисунке 2.

Таблица 3

Цитогенетические нарушения в клетках корешков *Allium cepa*

Вариант	Частота микроядер в интерфазе, %	Частота нарушений в метафазе, %	Частота нарушений в анафазе, %
Вода для людей			
Каракастек	0,14±0,11	0,20±0,14	0,89±0,3
Умбеталы	0,15±0,12	0,21±0,14	3±0,54*
dH ₂ O (контроль)	0,1±0,08	0,19±0,13	0,3±0,1
Почва			
Каракастек	0,43±0,21	6,89±0,8*	15,38±1,14**
Умбеталы	0,3±0,17	4,17±0,63	12±1,03**
Чистая, универсальная почва (контроль)	0,27±0,1	1,54±0,2	1,24±0,35
<i>Примечание.</i> * p≤0,05; ** p≤0,01.			



А — микроядро в интерфазе; Б — выпавшая хромосома в метафазе; В — хромосомный мост в анафазе

Рисунок 2. Цитогенетические нарушения в клетках *Allium cepa*

В пробах питьевой воды из обследованных поселков частота микроядер достоверно не отличалась от контрольного уровня (дист. вода). Однако выявлено значительное превышение выявленных нарушений сравнению с контролем на стадии анафазы, что свидетельствует о наличии митогенной токсичности.

Анализ водных вытяжек почв выявил недостоверное повышение цитогенетических нарушений, по сравнению с универсальной почвой и достоверное превышение по сравнению с дистиллированной водой, особенно это отмечено на стадиях метафазы и анафазы. Выявленное 1,5–2-кратное превышение частоты микроядер водных вытяжек почв, отобранных на изучаемых территориях, возможно, это связано с наличием загрязняющих соединений. Однако поскольку в данном тесте анализируются не сами почвы, а их водные вытяжки, то превышение частоты микроядер, возможно, объясняется воздействием быстро- и водорастворимых веществ, содержащихся в почве.

Таким образом, эксперименты на модели клеток корешков лука *Allium cepa* показали мутагенную активность образцов почвы из исследованных поселков.

Цитогенетический анализ лимфоцитов человека. Результаты цитогенетического анализа частоты хромосомных aberrаций в культурах лимфоцитов человека представлены в таблице 4.

Т а б л и ц а 4

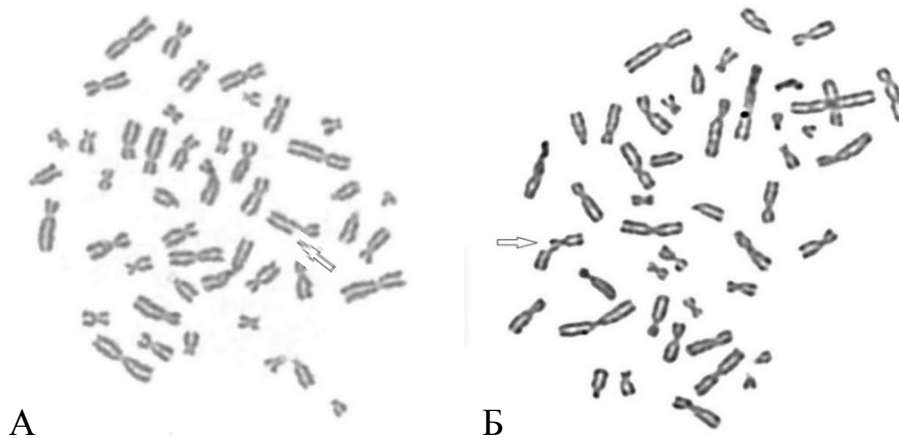
Изучение мутагенной активности проб питьевой воды и почвы из пос. Каракастек и Умбеталы на культурах лимфоцитов человека

Вариант	Проанализировано клеток	Всего aberrаций, %	Хромосомного типа, %	Хроматидного типа, %
Вода				
Умбеталы 5 %	200	1±0,70		1±0,70
Умбеталы 10 %	300	1±0,57		1±0,57
Каракастек 5 %	250	0,8±0,56		0,8±0,57
Каракастек 10 %	300	1±0,57	1±0,57	
Спонтанный уровень	300	1±0,57		1±0,57
Дист. H ₂ O 10 %	300	1±0,57	0,33±0,33	0,67±0,47
Почва				
Умбеталы 5 %	200	5±1,54	2±0,98	3±1,2
Умбеталы 10 %	200	8±1,92	0	8±1,92
Каракастек 5 %	200	4±1,38	0	4±1,38
Каракастек 10 %	200	8±1,92	0	8±1,92
Спонтанный уровень	300	1±0,57		1±0,57
Универсальная почва	300	2±0,81	0	2±0,81

Представленные данные показывают, что добавление в культуры лимфоцитов 5 и 10 % питьевой воды из обследованных населенных пунктов (Каракастек и Умбеталы) не вызвало повышения частоты хромосомных aberrаций.

Добавление 5 и 10 % водных вытяжек почв в среду для культивирования лимфоцитов показало статистически значимый генотоксический эффект почв в поселках Умбеталы и Каракастек в сравнении со спонтанным уровнем мутагенеза. Добавление водной вытяжки из «универсальной почвы» в культуру лимфоцитов человека увеличило частоту хромосомных нарушений в 2 раза ($p \geq 0,05$).

Анализ спектра хромосомных aberrаций показал (рис. 3), что встречались aberrации преимущественно хроматидного типа, которые были представлены одиночными разрывами или фрагментами. Такая картина структурных повреждений хромосом характерна при воздействии химических генотоксикантов, которые свидетельствуют о наличии в образцах тяжелых металлов.



А — метафазная пластинка с одиночным разрывом; Б — метафазная пластинка с двойным разрывом

Рисунок 3. Хромосомные нарушения в культурах лимфоцитов человека

Таким образом, добавление воды из обследованных населенных пунктов в среду культивирования лимфоцитов периферической крови человека не вызывает генотоксических эффектов, водные вытяжки почв, напротив, приводят к статистически значимому увеличению частоты хромосомных aberrаций по сравнению с контролем, что свидетельствует о наличии в исследованных образцах водорастворимых генотоксических соединений.

Цитогенетический анализ лимфоцитов овец. Результаты цитогенетического анализа лимфоцитов овец представлены в таблице 5.

Таблица 5

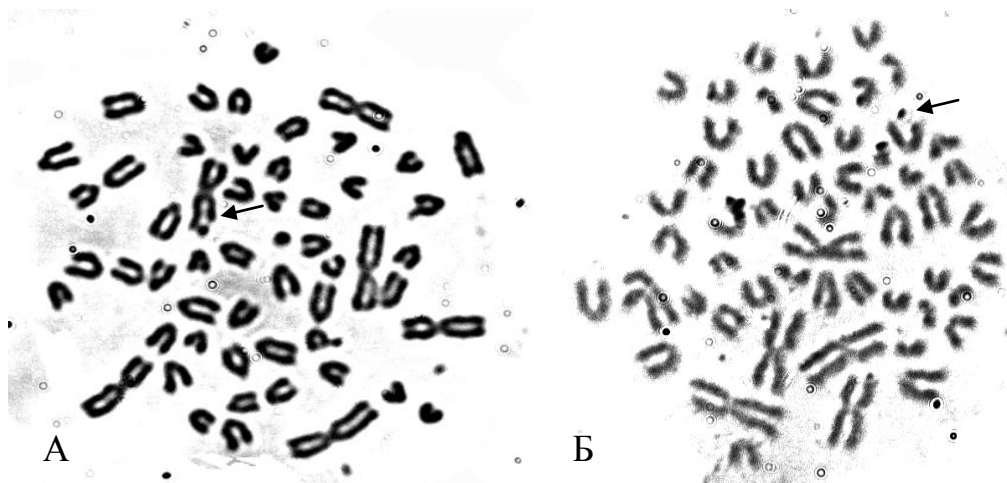
Изучение мутагенной активности проб природной воды и почвы из пос. Каракастек и Умбеталы на культурах лимфоцитов овец

Вариант	Количество проанализированных метафаз	Частота хромосомных aberrаций, %	Частота геномных мутаций, %
Вода для животных			
Каракастек 3 %	100	6±2,4	1,0±1,0
Каракастек 5 %	100	12±3,2	1,0±1,0
Каракастек 10 %	100	16±3,6	4±1,9
Умбеталы 3 %	100	3±1,7	1,0±1,0
Умбеталы 5 %	100	5±2,2	3±1,7
Умбеталы 10 %	100	6±2,4	2±1,4
Почва			
Каракастек 3 %	100	14±3,5	1,0±1,0
Каракастек 5 %	100	12±3,2	1,0±1,0
Каракастек 10 %	84	13±3,7	2,0±1,5
Умбеталы 3 %	100	9±2,9	2,0±1,4
Умбеталы 5 %	100	11±3,1	1,0±1,0
Умбеталы 10 %	98	6,1±2,4	2,0±1,4
0,9 % NaCl (контроль)	100	3±1,7	–

Как видно из таблицы 5, пробы воды из пос. Каракастек, взятые в 5, 10 %, и почвенные экстракты 3, 5, 10 % концентрации показали значительно повышенную ($p < 0,003$) частоту хромосомных aberrаций в лимфоцитах овец по сравнению с внутренним контролем. Пробы воды из пос. Умбеталы во всех концентрациях не проявляют мутагенной активности в тесте на индукцию aberrаций хромосом. Почвенные экстракты максимальной концентрации из этой местности тоже показывают повышенный уровень хромосомных aberrаций, но ниже чем пробы из пос. Каракастек.

В основном они были обнаружены aberrации хроматидного типа, представленные одиночными разрывами или фрагментами. Также учитывали количество полиплоидных клеток. Обмены найдены при воздействии 10 % концентраций загрязненной воды и почвенной вытяжки из пос. Умбеталы и при добавлении 5 % почвенной вытяжки из пос. Каракастек в составе культуральной среды. Метафазных клеток с полиплоидным набором хромосом выявлено незначительное количество. Добавление максимальной концентрации воды и почвенных вытяжек с поллютантами вызывало повышение числа хромосомных aberrаций на 100 метафаз по сравнению с внутренним контролем (добавление только 0,9 % NaCl). Также при добавлении водных вытяжек почвы наблюдается митотоксический эффект (снижение митотического индекса). При этом наблюдалась обратная пропорциональная зависимость: чем большая концентрация пробы воды была добавлена в культуральную среду, тем меньше было метафазных пластинок, пригодных для цитогенетического анализа.

Выявленный спектр aberrаций хромосом с преобладанием aberrаций хроматидного типа свидетельствует о химическом загрязнении (рис. 4). Влияние загрязнения остатками пестицидов в заброшенных складах в исследуемых поселках Алматинской области на соматическую нестабильность хромосом, по-видимому, можно объяснить сложными взаимодействиями пестицидов и тяжелых металлов, т.е. их комбинированное действие оказывает синергидный эффект.



А — метафазная пластинка с пробелом в метацентрической хромосоме, пос. Каракастек 3 % вода;
Б — метафазная пластинка с хроматидным разрывом в акроцентрической хромосоме, пос. Каракастек 5 % почва

Рисунок 4. Хромосомные нарушения в культурах лимфоцитов овец

Комплексная оценка мутагенности на различных тест-системах. В таблице 6 представлены результаты оценки мутагенности проб воды и почвы на 5-ти модельных системах разного уровня генетической организации.

Как видно из таблицы 6, разные модельные системы имеют различную чувствительность к действию хлорорганических пестицидов. В связи с этим проведение тестирования только на одной-двух моделях не даст объективной картины последствий воздействия пестицидов. Ряд исследователей считают, что в случае использования одной тест-системы мутагенная активность выявляется для 40–50 % исследуемых пестицидов, в то время как пять тест-систем обнаруживают мутагенную активность более чем 90 % пестицидов [27]. Поэтому для точной прогностической оценки мутагенного эффекта и необходимо использовать несколько разных тест-систем.

Комплексная оценка мутагенности с применением 5-ти различных модельных систем

Вид тестирования	пос. Каракастек			пос. Умбеталы		
	Питьевая вода	Природная вода	Почва	Питьевая вода	Природная вода	Почва
Тест Эймса	+	+	+	+	+	+
<i>D. melanogaster</i> (X-хромосома)	-	-	-	-	-	-
<i>D. melanogaster</i> (аутосомы)	-	-	+	-	+	+
<i>D. melanogaster</i> тератогенность	+	+	+	+	+	++
Культуры лимфоцитов овец	Не тестировали	+	+	Не тестировали	-	+
Культуры лимфоцитов человека	-	Не тестировали	+	-	Не тестировали	+
<i>Allium</i> -тест	-	Не тестировали	+	+	Не тестировали	+

Примечание. Нет эффекта; +слабый эффект; ++ умеренный эффект.

Следует отметить также, что в наших исследованиях в пробах почвы обнаружены несколько наименований пестицидов, а также тяжелых металлов, поэтому имеет место их синергидное действие. Система тестов с использованием моделей разного уровня организации также является предпочтительной для оценки синергидного действия смеси разных опасных пестицидов. Применение нескольких тест-систем показало, что многокомпонентная среда может не иметь однозначного ответа во всех тестах из батареи, быть более видимой в одном тесте или в другом.

Ранее аналогичные исследования проводились нашей исследовательской группой в 5-ти поселках Талгарского района Алматинской области, где имелись склады устаревших пестицидов, при этом частично не утилизированных [26]. Концентрации разных наименований пестицидов, как в воде, так и в почве, были гораздо выше зарегистрированных в данной работе, при этом в почве в некоторых пробах суммарные концентрации пестицидов превышали ПДК в 100–1000 раз. Зарегистрированный мутагенный эффект на модельных системах варьировал от умеренного до сильного. При этом у дрозофилы были выявлены мутации размера и формы глаз, которые стойко передаются в ряду поколений уже в течение 4-х лет. Нашими коллегами установлена связь между содержанием пестицидов в продуктах питания и уровнем хромосомных aberrаций у населения исследованных поселков [28]. Также было показано повышение уровня хромосомных aberrаций в лимфоцитах овец и крупного рогатого скота [29]. В наших исследованиях зарегистрированный мутагенный эффект был значительно слабее, что подтверждает линейную зависимость от дозы пестицидов.

Таким образом, использование модельных систем позволяет адекватно оценить мутагенный эффект загрязненных проб и может быть прогностическим критерием для точной оценки экологических рисков, а также для экстраполяции данных на другие нецелевые организмы, в том числе и на человека.

Заключение

Несмотря на более чем двадцатилетний запрет на использование хлорорганических пестицидов, не утилизированные запрещенные пестициды все еще являются источником загрязнения окружающей среды в Казахстане. Они наносят вред экосистемам, поскольку мигрируют из почвы и воды в растения, попадают по пищевой цепи в организм животных и человека. И наши исследования, проведенные в разных районах Алматинской области с использованием генотоксических тестов на моделях разного уровня организации, это подтверждают.

Наибольшую опасность среди долгосрочных последствий воздействия пестицидов представляют их возможные мутагенные и тератогенные эффекты. Поэтому необходимо своевременно решать вопросы утилизации устаревших запрещенных пестицидов, а также изучать возможность ремедиации почвы и очистки воды в местах расположения хранилищ пестицидов. Постоянный мониторинг и строгий контроль за опасными субстанциями является необходимым для поддержания баланса экосистем и минимизации вреда, наносимого природе и человеку.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан в рамках исследовательской программы OR11465435 — «Разработка и применение новых геномных технологий защиты организмов от мутагенного влияния, повышения продуктивности природных ресурсов и улучшения качества жизни населения».

Список литературы

- 1 Jayaraj R. Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment / R. Jayaraj, P. Megha, P. Sreedev // *Interdiscip Toxicol.* — 2016. — Vol. 9 (3–4). — P. 90–100.
- 2 Mrema E. J. Obsolete pesticides — a threat to environment, biodiversity and human health. In *Environmental Security Assessment and Management of Obsolete Pesticides in Southeast Europe, NATO Science for Peace and Security* / E.J. Mrema, F.M. Rubino, C. Colosio // *Series C: Environmental Security*; Springer Science+Business Media Dordrecht. — 2013. — P. 1–21.
- 3 Mostafalou S. Pesticides: an update of human exposure and toxicity / S. Mostafalou, M. Abdollahi // *Arch Toxicol.* — 2017. — Vol. 91(2). — P. 549–599.
- 4 Chaiyarat R. Bioaccumulation of organochlorine pesticides in the liver of birds from Boraphet wetland, Thailand / R. Chaiyarat, C. Sookjama, K. Eiam-Ampaib, P. Damrongphol // *Sci Asia.* — 2014. — Vol. 40. — P. 198–203.
- 5 Li C. Persistent organic pollutants in typical lake ecosystems / C. Li, L. Yang, M. Shi, G. Liu // *Ecotoxicol Environ Saf.* — 2019. — Vol. 180. — P. 668–678.
- 6 Цыганков В. Хлорорганические пестициды в тихоокеанских лососях, птицах и млекопитающих Берингова, Охотского морей: автореф. дис. на соискание уч. степени канд. биол. наук: 03.02.08 «Экология» / В. Цыганков. — Владивосток, 2016. — 20 с.
- 7 Герунов Т.В. Иммуноксичность пестицидов: роль в патологии животных и человека / Т.В. Герунов, Ю.В. Редькин, Л.К. Герунова // *Успехи современной биологии.* — 2011. — Т. 131 (5). — С. 474–482.
- 8 Lind P.M. High plasma organochlorine pesticide levels are related to increased biological age as calculated by DNA methylation analysis / P.M. Lind, S. Salihovic, L. Lind // *Environ Int.* — 2018. — Vol. 113. — P. 109–113.
- 9 Илюшина Н.А. Мутагенность и канцерогенность пестицидов, опасность для здоровья человека. Систематический обзор / Н.А. Илюшина, О.В. Егорова, Г.В. Масальцев, Н.С. Аверьянова, Ю.А. Ревазова // *Здравоохранение РФ.* — 2017. — Т. 61(2). — С. 96–102.
- 10 Ракитский В.Н. Мутагенная и канцерогенная активность химических соединений / В.Н. Ракитский, В.С. Турусов // *Вестн. Рос. акад. мед. наук.* — 2005. — № 3. — С. 7–9.
- 11 Ma T.H. Genotoxic agents detected by plant bioassays / T.H. Ma, G.L. Cabrera, E. Owens // *Rev Environ Health.* — 2005. — Vol. 20 (1). — P. 1–14.
- 12 Sandal S. Genotoxic effects of chlorpyrifos, cypermethrin, endosulfan and 2,4-D on human peripheral lymphocytes cultured from smokers and nonsmokers / S. Sandal, B. Yilmaz // *Environ. Toxicol.* — 2011. — Vol. 26. — P. 433–442.
- 13 Абилов С.К. Выявление и прогнозирование мутагенной активности химических соединений окружающей среды: автореф. дис. на соискание уч. степени д-ра биол. наук: 03.00.15 «Генетика» / С.К. Абилов. — М., 2003. — 25 с.
- 14 Levin D.E. A new Salmonella tester strain, TA97, for the detection of frame shift mutagens. A run of cytosines as a mutational hot-spot / D.E. Levin, E. Yamasaki, B.N. Ames // *Mutat. Res.* — 1982. — Vol. 94, 2. — P. 315–330.
- 15 Демаков В.А. Совершенствование тест-систем на *Salmonella* для выявления мутагенов / В.А. Демаков, В.М. Колотов, А.А. Еремина // *Тез. докл. 14 Ежегод. конф. Европейского общества по мутагенам внешней среды.* — М., 1984. — С. 119, 120.
- 16 Leme M.D. *Allium cepa* test environmental monitoring: A review on its application / M.D. Leme, A. Marin-Morales // *Mutat Res.* — 2009. — Vol. 682 (1). — P. 71–81.
- 17 Бактон К. Методы анализа хромосомных aberrаций у человека: метод. рук. / К. Бактон, Г. Эванс. — Женева: Изд. ВОЗ, 1975. — 64 с.
- 18 Ames B.N. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian — microsome mutagenicity test / B.N. Ames, J. Mc Cann, E. Yamasaki // *Mutat. Res.* — 1975. — Vol. 31. — P. 347–364.
- 19 Maron D.M. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test / D.M. Maron, B.N. Ames // *Mutat Res.* — 1983. — Vol. 113. — P. 173–215.
- 20 Roberts D.B. *Drosophila in a practical approach* / Ed. by. D.B. Roberts // 2d edition Oxford. — New-York, Tokyo: Oxford University Press, 1998. — 389 p.
- 21 Джансугурова Л.Б. Большой практикум по генетике дрозофилы / Л.Б. Джансугурова, О.Т. Тажин, Р.И. Берсимбаев. — Алматы: Казак ун-ті, 1998. — 43 с.
- 22 Moorhead P.S. Chromosome preparations of leucocytes cultured from human peripheral blood / P.S. Moorhead, P.C. Nowell, W.J. Mellman, D.M. Battips, D. A. // *Hungerford, Exp Cell Res.* — 1960. — Vol. 20. — P. 613–616.
- 23 Шарипов. И.К. Методы анализа хромосом у млекопитающих: метод. пос. / И.К. Шарипов. — Алматы: Казак ун-ті, 1998. — 56 с.
- 24 Паушева З.П. Практикум по цитологии растений / З.П. Паушева. — М.: Агропромиздат, 1988. — 271 с.

- 25 Рокицкий П.Ф. Введение в статистическую генетику / П.Ф. Рокицкий. — Минск: Высш. шк., 1978. — 448 с.
- 26 Mit N. Ecological risk assessment and long-term environmental pollution caused by obsolete undisposed organochlorine pesticides / N. Mit, O. Cherednichenko, A. Mussaeva, O. Khamdiyeva, A. Amirgalieva, M. Begmanova, A. Tolebaeva, G. Koishekenova, S. Zaypanova, A. Pilyugina, M. Amandykova, A. Tlenshieva, A. Nurzhanova, A. Mamirova, B. Bekmanov, L. Djansugurova // J Environ Sci Health B. — 2021. — Vol. 56 (5). — P. 490–502.
- 27 Федоров Л.А. Пестициды — токсический удар по биосфере и человеку / Л.А. Федоров, А.В. Яблоков. — М.: Наука, 1999. — 461 с.
- 28 Djangalina E. Comprehensive assessment of unutilized and obsolete pesticides impact on genetic status and health of population of Almaty region / E. Djangalina, N. Altynova, Sh. Bakhtiyarova, U. Kapysheva, B. Zhaksymov, E. Shadenova, M. Baizhanov, O. Sapargali, A. Garshin, A. Seisenbayeva, M. Delannoy, S. Jurjanz, E. Khussainova, B. Bekmanov, L. Djansugurova // Ecotoxicol Environ Safety. — 2020. — Vol. 202. — 110905.
- 29 Жапбасов Р. Методические рекомендации по цитогенетическому тестированию сельскохозяйственных животных на генотоксичность неутилизованных и запрещенных к использованию пестицидов на территории Алматинской области / Р. Жапбасов, А.М. Жомартгов, К.Ж. Досыбаев, А.А. Корнилова, Г.К. Мусабаева, С.Т. Ахметжан, Л.Б. Джансугурова, А.А. Нуржанова, Б.О. Бекманов. — Алматы: Қазақ ун-ті, 2020. — 162 с.

Н.В. Мить, О.Г. Чередниченко, А.С. Мұсаева, О.Х. Хамдиева, А.С. Әмірғалиева,
М.О. Бегманова, А.Д. Төлебаева, А.Л. Пилюгина, С.К. Нұралиев, С.Б. Зайпанова,
Г.А. Қойшекенова, А.К. Бекитаева, Т. Қапасұлы

Алматы облысы Жамбыл ауданындағы бұрынғы хлорорганикалық пестицидтерді сақтау қоймаларының жанынан жиналған су және топырақ үлгілерінің мутагендік әсерін әртүрлі модельдік тест-жүйелерді қолдану арқылы бағалау

Қазіргі уақытта ескірген хлорорганикалық пестицидтерге тұрақты органикалық ластағыштар ретінде қолдануға тыйым салынған. Аталған заттарды кәдеге жаратпаса, олар топырақ пен суды ластап, қоректік тізбекте жиналып, өсімдіктерге, жануарларға және адамдарға зиянын тигізеді. Зерттеудің мақсаты — қоймалардың айналасындағы су мен топырақтың жойылмаған хлорорганикалық пестицидтермен ластануын және олардың генотоксикалық әсерін бағалау. Алматы облысы Жамбыл ауданына қарасты екі елді мекендегі пестицидтердің бұрынғы қоймалары зерттелді. Химиялық талдау қоймалардың айналасындағы топырақтың хлорорганикалық пестицидтермен және ауыр металдармен ластанғанын көрсетті. Қоршаған ортаның қауіптілігін бағалау үшін қоймалардың жанынан алынған су мен топырақ үлгілері пайдаланылды. Су және топырақ үлгілерінің генотоксикалық әсері әртүрлі модельдік объектілерде бағаланды: *Salmonella typhimurium*, *Drosophila melanogaster*, *Allium cepa*, қой лимфоциттерінің және адам лимфоциттерінің дақылдары. Су және топырақ үлгілері барлық модельдік жүйелерде әлсіз мутагендік әсер туғызып, мутациялар мен хромосомалық аберрациялардың жиілігін арттырғаны анықталды. Модельдердің әрқайсысы үшін генотоксикалық әсер көрсетілсе де, дегенмен, әртүрлі модельдер пестицидтердің әсеріне әртүрлі сезімталдықты және әртүрлі жауап дәрежесін көрсеткен. Сондықтан пестицидтердің мутагенділігін адекватты бағалау үшін әртүрлі объектілері бар сынақтар батареясын қолдану қажет. Зерттеу нәтижелері пайдаланылмаған ескірген пестицидтердің әлі де қоршаған ортаны ластайтынын және қоршаған ортаның ластануын болдырмау үшін дер кезінде қауіпсіз түрде жойылу керектігін көрсетті.

Кілт сөздер: мутагендік әсер, хлорорганикалық пестицидтер, модельдік жүйелер, рецессивті летальды мутациялар, хромосомалардың аберрациялары, лимфоциттердің дақылдары, *Salmonella typhimurium*, *Drosophila melanogaster*, *Allium cepa*.

N.V. Mit, O.G. Cherednichenko, A.S. Musaeva, O.Kh. Khamdiyeva, A.S. Amirgalieva,
M.O. Begmanova, A.D. Tolebaeva, A.L. Pilyugina, S.K. Nuraliev, S.B. Zaypanova,
G.A. Koishekenova, A.K. Bekitaeva, T. Kapasuly

Evaluation of the mutagenic effect of water and soil samples collected near the former storage facilities for organochlorine pesticides in the Zhambyl district of the Almaty region using various model test systems

Obsolete organochlorine pesticides are currently prohibited as persistent organic pollutants. If undisposed they continue to pollute soil and water, to accumulate in the food chain and to harm plants, animals and human body. The aim of the study was to assess the pollution of water and soil around the warehouses by un-

utilized banned organochlorine pesticides and their possible genotoxic effects. Former warehouses of pesticides were investigated in two settlements of Zhambyl district of Almaty region. Chemical analysis showed contamination of the soil around the warehouses with organochlorine pesticides and heavy metals. Water and soil samples taken near the storage facilities were used for environmental risk assessment. The genotoxic effect of water and soil samples was evaluated on various model objects: *Salmonella typhimurium*, *Drosophila melanogaster*, *Allium cepa*, sheep and human lymphocyte cultures. It was found that water and soil samples caused a weak mutagenic effect in all model systems, increasing the frequency of mutations and chromosomal aberrations. Although a genotoxic effect was demonstrated for each of models, different models showed different sensitivity to the action of pesticides and varied degrees of response. Therefore, for adequate assessment of the mutagenicity of pesticides, it is necessary to use a battery of tests with different model objects. The results demonstrated that obsolete pesticide residues still pollute the environment and must be disposed of in a safe way in a timely manner to avoid environmental pollution.

Keywords: mutagenic effect, organochlorine pesticides, model systems, recessive lethal mutations, chromosome aberrations, lymphocyte cultures, *Salmonella typhimurium*, *Drosophila melanogaster*, *Allium cepa*.

References

- 1 Jayaraj, R., Megha, P. & Sreedev, P. (2016). Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. *Interdiscip Toxicol*, 9(3-4), 90-100.
- 2 Mrema, E.J., Rubino, F.M. & Colosio, C. (2013). Obsolete pesticides — a threat to environment, biodiversity and human health. In *Environmental Security Assessment and Management of Obsolete Pesticides in Southeast Europe*, NATO Science for Peace and Security. *Series C: Environmental Security; Springer Science+Business Media Dordrecht*, 1-21.
- 3 Mostafalou, S. & Abdollahi, M. (2017). Pesticides: an update of human exposure and toxicity. *Arch Toxicol*, 91(2), 549-599.
- 4 Chaiyaratana, R., Sookjama, C., Eiam-Ampaib, K. & Damrongphol, P. (2014). Bioaccumulation of organochlorine pesticides in the liver of birds from Boraphet wetland, Thailand. *Sci Asia*, 40; 198-203.
- 5 Li, C., Yang, L., Shi, M. & Liu, G. (2019). Persistent organic pollutants in typical lake ecosystems. *Ecotoxicol Environ Saf.*, 180; 668-678.
- 6 Tsygankov, V. (2016). Khlrororganicheskie pestitsidy v tikhoookeanskikh lososiakh, ptitsakh i mlekopitaiushchikh Beringova, Okhotskogo morei [Organochlorine pesticides in Pacific salmon, seabirds and marine mammals from the Okhotsk and the Bering Seas]. *Extended abstract of candidate's thesis*. Vladivostok [in Russian].
- 7 Gerunov, T.V., Redkin, Yu.V. & Gerunova, L.K. (2011). Immunotoksichnost pestitsidov: rol v patologii zhitovnykh i cheloveka [Immunotoxicity of pesticides: role in animal and human pathology]. *Uspekhi sovremennoi biologii - Advances in Modern Biology*, 131 (5); 474-482 [in Russian].
- 8 Lind, P.M., Salihovic, S. & Lind, L. (2018). High plasma organochlorine pesticide levels are related to increased biological age as calculated by DNA methylation analysis. *Environ Int.*, 113; 109-113.
- 9 Ilyushina, N.A., Egorova, O.V., Masaltsev, G.V., Averyanova, N.S. & Revazova, Yu.A. (2017). Mutagennost i kantserogennost pestitsidov, opasnost dlia zdorovia cheloveka. Sistemacheskii obzor [Mutagenicity and carcinogenicity of pesticides, danger to human health. Systematic review]. *Health Care RF.*, 61(2); 96-102 [in Russian].
- 10 Rakitsky, V.N. & Turusov, V.S. (2005). Mutagennaiia i kantserogennaiia aktivnost khimicheskikh soedinenii [Mutagenic and carcinogenic activity of chemical compounds]. *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*, 3; 7-9 [in Russian].
- 11 Ma, T.H., Cabrera, G.L., & Owens, E. (2005). Genotoxic agents detected by plant bioassays. *Rev Environ Health*. 20(1); 1-14.
- 12 Sandal, S. & Yilmaz, B. (2011). Genotoxic effects of chlorpyrifos, cypermethrin, endosulfan and 2,4-D on human peripheral lymphocytes cultured from smokers and nonsmokers. *Environ. Toxicol.*, 26; 433-442.
- 13 Abilev, S.K. (2003). Vyiavlenie i prognozirovaniie mutagennoi aktivnosti khimicheskikh soedinenii okruzhaiushchei sredy [Identification and prediction of mutagenic activity of chemical compounds of the environment]. *Extended abstract of Doctor's thesis*. Moscow [in Russian].
- 14 Levin, D.E., Yamasaki, E. & Ames, B.N. (1982). A new Salmonella tester strain, TA97, for the detection of frameshift mutagens. A run of cytosines as a mutational hot-spot. *Mutat. Res.*, 94(2); 315-330.
- 15 Demakov, V.A., Kolotov, V.M., & Eremina, A.A. (1984). Sovershenstvovaniie test-sistem na Salmonella dlia vyiavleniia mutagenov [Improvement of test systems for Salmonella to detect mutagens]. *Tezisy dokladov 14 Ezhegodnoi konferentsii Evropeiskogo obshchestva po mutagenam vneshnei sredy — Reports of 14 Annual conference European Society for Environmental Mutagens*. Moscow, 119, 120 [in Russian].
- 16 Leme, M.D. & Marin-Morales, A. (2009). *Allium cepa* test environmental monitoring: A review on its application. *Mutat Res.*, 682(1); 71-81.
- 17 Buckton, K. & Evans, G. (1975). *Metody analiza khromosomnykh aberratsii u cheloveka: metodicheskoe rukovodstvo [Methods for the analysis of chromosomal aberrations in humans (methodological guide)]*. Geneva: WHO publication [in Russian].
- 18 Ames, B.N., Mc Cann, J. & Yamasaki, E. (1975). Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian — microsomes mutagenicity test. *Mutat. Res.*, 31; 347-364.

- 19 Maron, D.M. & Ames, B.N. (1983). Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat Res.*, 113; 173–215.
- 20 Roberts, D.B. (1998). *Drosophila in a practical approach*. 2d edition Oxford, New-York, Tokyo: Oxford University Press.
- 21 Djansugurova, L.B., Tazhin, O.T. & Bersimbaev, R.I. (1998). *Bolshoi praktikum po genetike drozofily [Workshop on the Drosophila genetics]*. Almaty: Kazakh universiteti [in Russian].
- 22 Moorhead, P.S., Nowell, P.C., Mellman, W.J., Battips, D.M. & Hungerford, D.A. (1960). Chromosome preparations of leucocytes cultured from human peripheral blood. *Hungerford, Exp Cell Res.*, 20; 613–616.
- 23 Sharipov, I.K. (1998). *Metody analiza khromosom u mlekopitaiushchikh: metodicheskoe posobie [Methods for analysis of chromosomes in mammals (methodological guide)]*. Almaty: Kazakh universiteti [in Russian].
- 24 Pausheva, Z.P. (1988). *Praktikum po tsitologii rastenii [Workshop on plant cytology]*. Moscow: Agropromizdat [in Russian].
- 25 Rokitskii, P.F. (1978). *Vvedenie v statisticheskuiu genetiku [Introduction to statistical genetics]*. Minsk: Vysshiaia shkola [in Russian].
- 26 Mit, N., Cherednichenko, O., Mussaeva, A., Khamdiyeva, O., Amirgalieva, A., Begmanova, M., Tolebaeva, A., Koishakenova, G., Zaypanova, S., Pilyugina, A., Amandykova, M., Tlenshieva, A., Nurzhanova, A., Mamirova, A., Bekmanov, B. & Djansugurova, L. (2021). Ecological risk assessment and long-term environmental pollution caused by obsolete undisposed organochlorine pesticides. *J Environ Sci Health B*, 56(5); 490–502.
- 27 Fedorov, L.A. & Yablokov, A.V. (1999). *Pestitsidy — toksicheskii udar po biosfere i cheloveku [Pesticides are a toxic blow to the biosphere and man]*. Moscow: Nauka [in Russian].
- 28 Djangalina, E., Altynova, N., Bakhtiyarova, Sh., Kapysheva, U., Zhaksymov, B., Shadenova, E., Baizhanov, M., Sapargali, O., Garshin, A., Seisenbayeva, A., Delannoy, M., Jurjanz, S., Khussainova, E., Bekmanov, B. & Djansugurova, L. (2020). Comprehensive assessment of unutilized and obsolete pesticides impact on genetic status and health of population of Almaty region. *Ecotoxicol Environ Safety*, 202; 110905.
- 29 Zhapbasov, R., Zhomartov, A.M., Dosybaev, K.Zh., Kornilova, A.A., Musabaeva, G.K., Akhmetjan, S.T., Djansugurova, L.B., Nurzhanova, A.A. & Bekmanov, B.O. (2020). *Metodicheskie rekomendatsii po tsitogeneticheskomu testirovaniu sel'skokhoziaistvennykh zivotnykh na genotoksichnost neutilizirovannykh i zapreshchennykh k ispolzovaniuu pestitsidov na territorii Almatinskoi oblasti [Guidelines for cytogenetic testing of farm animals for genotoxicity of unused and prohibited pesticides on the territory of the Almaty region]*. Almaty: Kazakh universiteti [in Russian].