Р. А. ПШЕНИЧНОВ, С. В. КОЛОТВИНОВ

ОСНОВЫ ПОСТРОЕНИЯ СИСТЕМЫ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ МИКРООРГАНИЗМОВ

МаВ

АКАДЕМИЯ НАУК СССР УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР

Р. А. ПШЕНИЧНОВ, С. В. КОЛОТВИНОВ

ОСНОВЫ ПОСТРОЕНИЯ СИСТЕМЫ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ МИКРООРГАНИЗМОВ

ПРОСТРАНСТВЕННЫЙ МОНИТОРИНГ

СВЕРДЛОВСК 1986

УДК 576.8.095

Р. А. Пшеничнов, С. В. Колотвинов. Основы построения системы генетического мониторинга природных популяций микроорганизмов. Пространственный мониторинг. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1986.

Монография посвящена изучению гетерогенности природных популяций микроорганизмов и экологических условий, поддерживающих гетерогенность, с целью создания системы генетического мониторинга. Изложены теоретические и методические подходы к построению такой системы, позволяющей оценить уровень пластичности природных популяций микроорганизмов. Приведены результаты экспериментальных исследований и биометрический анализ данных, которые получены при изучении природных субпопуляций кишечной палочки, выделенных в относительно «чистых» экологических зонах и в районах интенсивного загрязнения среды отходами производства. Рассмотрены возможности использования системы генетического мониторинга микроорганизмов для слежения за уровнем мутагенного фона окружающей среды в районах с развитой промышленностью.

Книга предназначена для специалистов — биологов и медиков, занимающихся разработкой вопросов мониторинга.

Ответственный редактор
член-корреспондент АН СССР **В. Н. Большаков**

Рецензенты

доктор биологических наук **О. А. Пястолова**
доктор медицинских наук профессор **З. Н. Кондрашова**

П $\frac{20305-1412-69(84)}{055(02)7}$ 34—1986

© УНЦ АН СССР, 1986

ПРЕДИСЛОВИЕ

Книга Р. А. Пшеничнова и С. В. Колотвинова посвящена изучению гетерогенности природных популяций *E. coli* как части общей системы экологического мониторинга. Интерес к этой проблеме в наши дни значительно возрос. Научно-техническая революция и антропогенное изменение среды обитания поставили перед исследователями в число первоочередных и актуальных задач разработку, апробацию и внедрение в практику новых, пусть более сложных, но совершенных способов контроля за состоянием биосферы. Внутрилабораторный первичный скрининг генотоксических соединений на различных тест-системах был лишь первым необходимым этапом таких работ. Логичным их развитием является создание пространственно-временной системы слежения за природными популяциями, структура которых постоянно трансформируется под влиянием всего комплекса природных и антропогенных воздействий — растущего мутационного пресса, меняющихся селективных воздействий, естественного отбора, дрейфа генов и других популяционно-генетических механизмов. Создание системы мониторинга природных популяций — необходимый этап и обязательное условие мониторинга биогеоценотического, лежащего в основе единой службы генетического контроля и прогнозирования антропогенно меняющейся среды обитания.

Авторы сумели охватить наблюдениями все основные звенья естественной циркуляции исследуемого вида и ряд характерных экологических ниш с векторизованным влиянием на природные популяции таких антропогенных воздействий, как повышенная радиация, возросший уровень химических мутагенов, селективное влияние интенсивной химио- и антибиотикотерапии, своеобразный физико-химический состав среды. Проанализировав структуру популяций по большому числу экологически значимых, генетически детерминированных и фенетически количественно выраженных признаков, они провели на должном уровне вариационно-статистическую обработку информации. Сравнительный анализ структуры субпопуляций выявил широкую внутривидовую изменчивость вида, делающую его выгодным и удобным объектом слежения. Установлено формирование локальных субпопуляций с характерной для каждой экологической ниши структурой генофонда. Перспективными представляются развитие данной работы с охватом новых экологических ниш, с расширением перечня регистрируемых признаков, проведение модельных наблюдений, повторные исследования (временно́й мониторинг).

Председатель Секции генетических аспектов проблемы «Человек и биосфера» академик Н. П. ДУБИНИН

ВВЕДЕНИЕ

Любое живое существо не мыслится вне среды его обитания. Представить человека без природы невозможно. Сегодня он активный, разносторонне и интенсивно преобразующий ее компонент. Хотя общая биомасса составляет 0,01 массы земной коры, а на долю человека приходится лишь 1 % ее, люди являются доминирующим видом, во многом определяющим облик планеты. За столетие человек извлекает, перерабатывает, утилизирует или рассеивает с отходами производства такой объем полезных ископаемых, на создание которого природа затратила миллион лет. При этом потребности людей постоянно растут.

Приведем некоторые данные. Ежеминутно с лица планеты сводится 20 га лесов, и их общая площадь уже снизилась с 75 до 27 %. За обозримый исторический период площадь пустынь возросла на 9 млн. км^2, площадь нарушенных земель — «промышленных пустынь», нуждающихся в рекультивации,— только в СССР достигла 2 млн. га и, несмотря на принимаемые меры, ежегодно увеличивается на 30—40 тыс. га. Ежегодно промышленно развитыми странами выбрасывается в атмосферу около 150 млн. т окислов серы и 5 млн. т окислов азота. За столетие содержание углекислого газа в атмосфере возросло на 10 % и, по предположительным расчетам, к 2050 г. увеличится вдвое. Уже сегодня ряд промышленно развитых капиталистических стран потребляет кислорода больше, чем воспроизводит.

До заключения Договора о запрещении испытаний ядерного оружия в атмосфере, воде и на поверхности Земли были взорваны ядерные заряды общей мощностью более 540 Мт, в атмосферу выброшено 200 млн. м^3 радиоактивной пыли. Сегодня в Северном полушарии на каждый квадратный километр приходится 100 мКи ^{137}Cs и 50 мКи ^{90}Sr, т. е. на 1 м^2 в любой стране этого полушария ежесекундно распадается 5 тыс. радиоактивных атомов.

Интенсивное загрязнение водоемов сопровождается уменьшением мобильных запасов пресной воды. Объем озер ежегодно сокращается на 60, подземных вод на 300, ледников на 250 км^3. Ряд государств начинает испытывать водный голод.

Уменьшается содержание гумуса, в ряде регионов снижается плодородие земель, растут площади, занимаемые упрощенными нестабильными агробиоценозами (сейчас ими занято

1,2 млрд. га, или 10 % всей суши). Антропогенное изменение среды обитания только за последние три столетия резко сократило рыбные запасы, привело к исчезновению 94 видов птиц, 63 видов млекопитающих; $25—50 \cdot 10^3$ видов растений, около 1200 видов животных находятся на грани исчезновения. В. И. Вернадский [57, с. 63] писал: «Биосфера быстро переходит в новое состояние — ноосферу; резко геологически меняется с помощью... человека».

О путях, форме и конечных результатах взаимоотношений человека с природой высказывались разные суждения как в зарубежной, так и в отечественной литературе. Так, академик Н. П. Дубинин отмечал: «Если загрязнение среды не будет контролироваться, то в условиях научно-технического прогресса мы можем оказаться не только перед экологической, но и перед генетической катастрофой. В этом случае патология станет основной формой существования человека» [24, с. 14]. Как бы отвечая ему, академик С. С. Шварц добавил: «Бить тревогу безусловно нужно, однако еще важнее определить конкретные пути решения противоречий между интересами развития современного общества и задачами сохранения биосферы в оптимальном состоянии. Современная биология, в частности экология, обладает достаточно развитой теорией, которая позволяет наметить эти пути и может стать научной основой активной охраны природы» [8, с. 7].

Поэтому как призыв, руководство к действию прозвучали на декабрьском (1983 г.) Пленуме ЦК КПСС слова: «Современные масштабы и темпы развития производительных сил требуют изменения отношения к вопросам, связанным с охраной окружающей среды и рациональным использованием природных ресурсов. Это задача большой экологической и социальной значимости. Ведь речь по существу идет о здоровье людей и о бережном, хозяйском подходе к национальному богатству страны. Более того, это вопросы будущего. От их решения зависят условия, в которых будут жить последующие поколения» [1, с. 2].

ГЛАВА 1

ОБЩИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О БИОЛОГИЧЕСКОМ МОНИТОРИНГЕ

Разработка рационального природопользования, включающего природоохранные мероприятия, естественно должна начинаться с выяснения сложившейся ситуации, с создания четкой общей программы и системы учета, контроля факторов, определяющих этот процесс. К настоящему времени такая программа сформирована: это Международная программа ЮНЕСКО «Человек и биосфера» — МАБ (от англ: The Man and the Biosphere). Основная ее задача — осуществление в разных районах многолетних комплексных исследований воздействия человека на естественные процессы в биосфере и изучение влияния изменений этих процессов на человека. Она использует опыт ранее осуществлявшейся Международной биологической программы, направлена на решение конкретных проблем управления естественными ресурсами планеты. Официально принята в 1970 г. на 16-й сессии Генеральной конференции ЮНЕСКО и объединила исследователей 94 стран, координируемых Международным советом (МКС) (рис. 1, *а*).

В 1971 г. на первой сессии МКС МАБ было принято 13 научных проектов для совместных исследований, а в 1974 г. на 18-й сессии Генеральной конференции ЮНЕСКО по инициативе советских ученых программа дополнена проектом № 14 «Изучение загрязнения окружающей природной среды и его влияния на биосферу». По первоначальному замыслу авторов проекта, он не должен был включать оперативные вопросы мониторинга окружающей среды. Его задача — научное обоснование системы мониторинга состояния экосистем и биосферы в целом. В числе первоочередных были намечены три направления.

1. Регистрация антропогенных загрязнений, анализ путей переноса и процессов трансформации загрязняющих веществ в экосистемах.

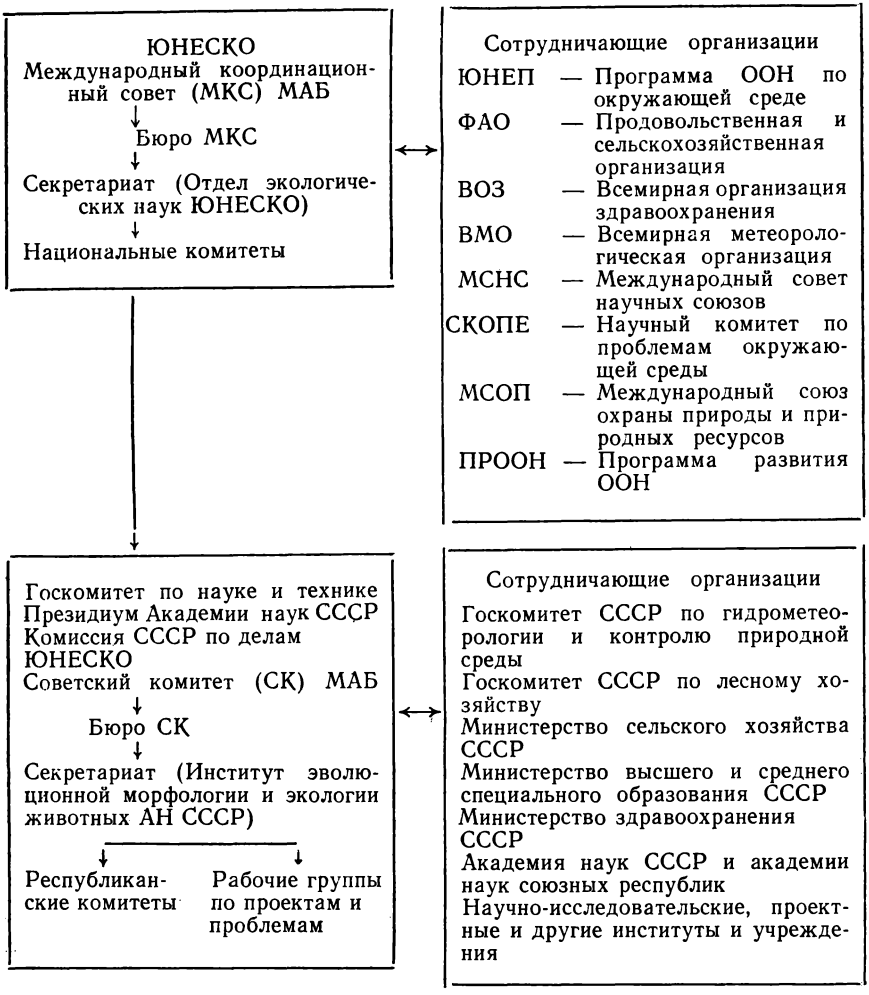
2. Исследование зависимости «доза — ответная реакция» путем полевых наблюдений и модельных опытов.

3. Идентификация показателей наблюдаемых изменений в экосистемах, являющихся результатом этих загрязнений.

Отдельной задачей выделены поиск биологических индикаторов состояния окружающей природной среды на клеточном,

Рис. 1, *а*

Структура и организация руководящих органов программы МАБ на международном и национальном уровнях

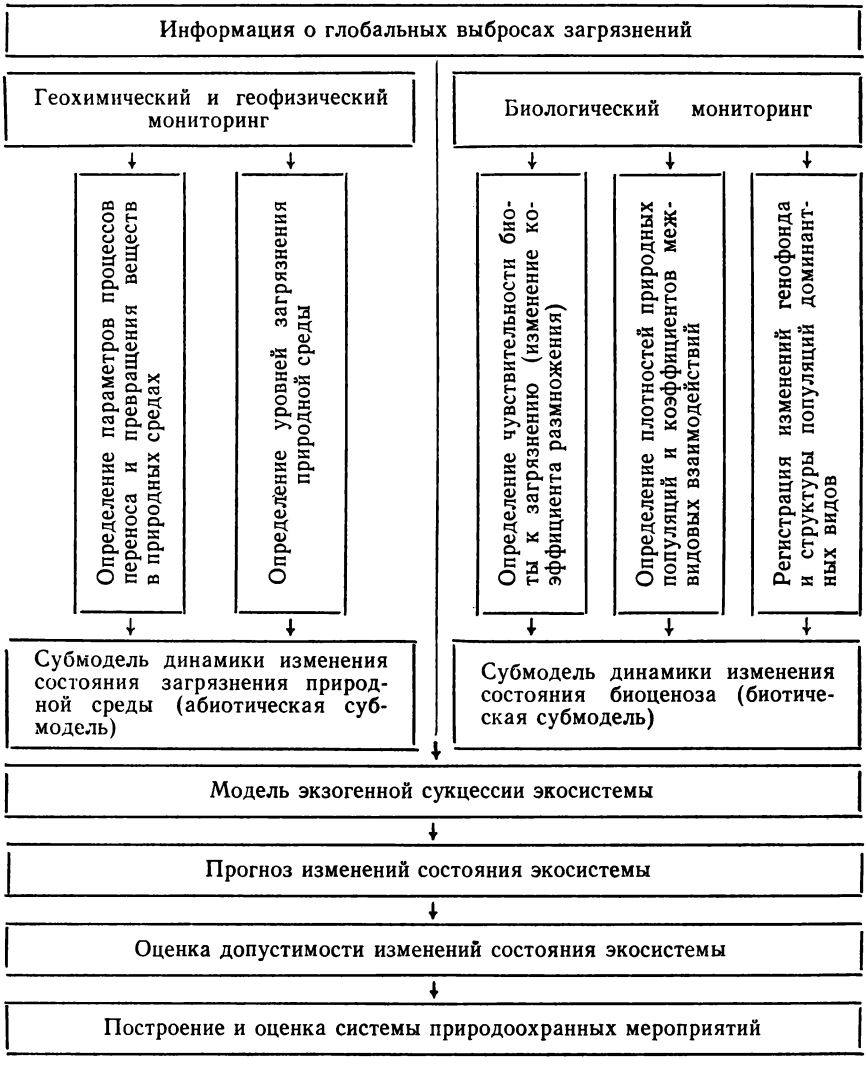


организменном, популяционном уровне и уровне экосистем, а также типизация биом для подсистем импактного локального (в местах непосредственного влияния источников загрязнения) и фонового (в местах влияния глобальных и региональных процессов) мониторинга. Накопленная в рамках программы информация позволила затем в кратком виде сформулировать и общую схему экологического мониторинга (рис. 1, *б*).

Итогом выполнения этого комплекса работ должно быть построение математической модели экзогенной сукцессии, служа-

Рис. 1, *б*

Экологический мониторинг загрязнения природной среды



щей инструментом прогноза изменения состояния региональных экосистем на фоновом глобальном уровне. Интегральным показателем реакции биоты на антропогенные нагрузки предложено считать изменения численности и структуры популяций доминирующих индикаторных видов, интерполируемые на другие виды рассматриваемых экосистем. Разработка глобальной системы мониторинга окружающей среды в рамках програм-

мы ООН по окружающей среде (ЮНЕП) и программы «Человек и биосфера» (ЮНЕСКО) привлекла широкий круг специалистов разных отраслей знаний. В научный оборот было введено множество новых терминов, понятий, методов, без единообразного понимания которых трудно сформулировать проблему в целом. Большинство исследователей, приступая к работе, пытались выразить свои представления об экологическом мониторинге и дать его определение. В целом эти определения сходны, и в качестве приемлемого можно привести определение, разработанное Пущинской биосферной станцией ИАП АН СССР: «Экологический мониторинг — это комплексная система наблюдений, оценки и прогноза изменений состояния биосферы под влиянием естественных и антропогенных факторов» [41].

Принято всю систему мониторинга делить на уровни и разделы.

Уровни — глобальный, региональный, локальный. В небольших по территории и однородных по географо-экономическим условиям государствах с региональным уровнем мониторинга может совпадать национальный, для больших стран он включает ряд разнотипных регионов.

Разделы — абиотический (геофизический, геохимический), биотический, или биологический, определяются спецификой регистрируемых параметров, методов наблюдений и оценки.

Цель геофизического и геохимического мониторинга — получение информации об уровнях загрязнений природной среды, характере влияния на биологические системы, а также прогноз уровней загрязнений и воздействия их на биоту в будущем. Объектами исследований являются атмосфера, гидросфера, литосфера. Кроме общих аэрологических, метеорологических наблюдений список измеряемых приоритетных параметров включает контроль баланса O_3, O_2, CO, CO_2, NO и NO_2 в атмосфере, измерение солнечной радиации, аэрозольного загрязнения и общего теплового баланса, регистрацию уровня радиоактивных веществ, загрязнений бенз(а)пиреном, пестицидами, полихлорированными бифенилами, тяжелыми металлами, фотохимическими оксидантами, нефтью, нефтепродуктами и т. д. Несомненный интерес представляет изучение миграции, кругооборота и трансформации загрязняющих веществ в природных средах, моделирование указанных процессов и создание математических моделей, которые позволяют прогнозировать ход этих процессов и возможное влияние их на биоту. Но даже география контроля или выбор числа и определение конкретных репрезентативных зон для его проведения до сих пор остаются до конца не решенными вопросами. В целом система должна охватить всю территорию страны со всем многообразием ее климато-географических особенностей, учитывать преимущественный тип и выраженность антропогенной

нагрузки, включать опытные и контрольные (фоновые) регионы. В качестве последних чаще избираются территории биосферных заповедников, заказников, необжитые и неосвоенные места [15, 28, 29, 30, 31, 67 и др.]. В связи с этим сделана попытка выявить пространственные закономерности распределения сочетаний антропогенных факторов, оказывающих прямое и косвенное действие на природную среду [20, 21, 47, 61 и др.]. Характеристика уровня влияний антропогенных факторов основана на следующих четырех показателях.

1. Общий уровень хозяйственной освоенности территории — ОУ. Это емкий интегральный показатель, учитывающий степень освоения и использования территории основными отраслями производственной и непроизводственной сфер народного хозяйства.

2. Наличие и мощность предприятий, являющихся основными и характерными источниками загрязнения природной среды — П.

3. Численность населения, объединенного в городах с населением от 100 000 и более — Н.

4. Плотность автодорожной сети — А.

По выраженности перечисленных влияний вся территория РСФСР и Тувинской АССР была разбита на четыре типа и восемь уровней хозяйственной освоенности (табл. 1.1). Мы сочли целесообразным выделить на указанных территориях два «ядра», две зоны наивысшего уровня хозяйственной освоенности с максимальной степенью антропогенной нагрузки на природу — Центральную часть РСФСР и Уральский промышленный регион.

В. А. Ковда и А. С. Керженцев [41] на основе опыта работы Пущинской биосферной станции ИАП АН СССР изложили представления о возможной структуре национальной службы Глобальной системы мониторинга окружающей среды (ГСМОС). Первичной организационной и функциональной ячейкой экологического мониторинга должна быть сеть стационарных биосферных пикетов (БП), объединенных региональной станцией (РС); последние входят в базовую станцию (БС), которая обобщает информацию, дает первичную оценку состояния среды региона и передает ее в национальный центр мониторинга (НЦ). Деятельность последних координируется Биосферным центром СЭВ, который входит в Биосферный центр ЮНЕП, обеспечивающий переработку и систематизацию всей накопленной информации с выдачей глобальных прогнозов изменения биосферы. Таким образом, общий поток информации должен идти по схеме БП—РС—БС—НЦ—БЦСЭВ—БЦЮНЕП.

Возникает вопрос: какое число региональных и базовых станций необходимо для организации и проведения всеобъемлющего мониторинга на территории нашей страны? Если ис-

Таблица 1.1

Дифференциация территории РСФСР по сочетанию антропогенных факторов (по Лопатиной [47])

Область, край, АССР	Показатели			
	ОУ	П	Н	А
I. Территории с «очаговой» хозяйственной освоенностью				
Архангельская	2 ареала — VI, IV, остальная территория — III—I	4	1	1
Мурманская	1 ареал — V, остальная — III—I	5	1	2
Карельская	1 ареал — IV, остальная — III—I	3	1	4
Коми	2 ареала — V, остальная — III—I	3	1	1
Астраханская	2 ареала — VI, IV, остальная — III, I	2	1	3
Калмыцкая	III	1	—	2
Алтайский	1 ареал — VI, остальная — IV, II	4	2	3
Новосибирская	1 ареал — VI, остальная — IV, III	6	4	2
Омская	IV, III	3	2	1
Томская	IV, III, I	2	1	1
Тюменская	IV, III, I	4	1	1
Красноярский	2 ареала — VII, остальная — III, I	5	2	1
Иркутская	1 ареал — VI, остальная — III, I	5	2	1
Читинская	III, I	3	1	2
Бурятская	III, II, I	1	1	2
Приморский	1 ареал — V, остальная — IV, I	1	2	3
Хабаровский	1 ареал — VI, остальная — III—I	3	2	1
Амурская	2 ареала — V, остальная — III, I	1	1	1
Камчатская	1 ареал — IV, остальная — II, I	1	1	1
Магаданская	1 ареал — IV, остальная — II, I	1	—	1
Сахалинская	1 ареал — V, остальная — III, I	2	1	3
Якутская	1 ареал — IV, остальная — III, I	1	1	1
II. Территории среднего уровня хозяйственной освоенности				
Вологодская	IV	5	1	3
Ленинградская	IV	5	—	6
Новгородская	IV	2	1	4
Псковская	IV	1	1	5
Калужская	IV	2	1	5

Окончание таблицы 1.1

Область, край, АССР	Показатели			
	ОУ	П	Н	А
Костромская	IV	1	1	3
Орловская	IV	2	1	4
Смоленская	IV	2	1	5
Кировская	IV	3	1	2
Марийская	IV	1	1	4
Белгородская	IV	3	1	4
Волгоградская	IV	6	2	3
Пензенская	IV	2	1	3
Башкирская	IV	6	3	3
Ставропольский	IV	4	1	4
Дагестанская	IV	1	1	5
Курганская	IV	2	1	3
Оренбургская	IV	6	2	3
III. Территории высокого уровня хозяйственной освоенности				
Калининская	V	4	1	4
Брянская	V	3	1	4
Владимирская	VI	3	1	5
Рязанская	V	5	1	5
Ярославская	VI	6	2	4
Горьковская	VI	6	3	4
Мордовская	V	2	1	4
Чувашская	V	3	1	5
Воронежская	V	5	2	3
Курская	VI	4	1	4
Липецкая	VI	5	1	5
Тамбовская	V	3	1	5
Куйбышевская	VI	6	4	4
Саратовская	V	5	2	3
Ульяновская	V	2	1	3
Татарская	V	5	2	3
Краснодарский	VI	5	3	4
Ростовская	VI	6	4	5
Кабардино-Балкарская	V	2	1	6
Северо-Осетинская	V	3	1	7
Чечено-Ингушская	V	5	1	5
Пермская	V	6	2	2
Удмуртская	VI	3	1	3
Кемеровская	VI	7	4	2
IV. Территории наивысшего уровня хозяйственной освоенности				
Московская	VIII	8	13	7
Тульская	VII	6	2	6
Ивановская	VIII	3	1	4
Свердловская	VII	9	4	2
Челябинская	VII	7	4	3
г. Ленинград	VIII	6	8	—

Таблица 1.2

Территориальная структура биосферного центра стран — членов СЭВ и СФРЮ (по [27])

Страна	Площадь, тыс. км²	Число РС	Зона РС, тыс. км²	Число БС	Зона БС, тыс. км²
СССР	22 400	88	255	10	2240
МНР	1565	5	313	1	1565
ГДР	108	1	108		
ПНР	313	1	313		
ЧССР	128	1	128		
ВНР	93	1	93	1	1276
СРР	238	1	238		
НРБ	111	1	111		
СФРЮ	256	1	256		
Итого . .	25 212	100	252	12	2100

ходить из принципа физико-географического районирования с учетом интегральной антропогенной нагрузки, то на территории СССР можно выделить 18 физико-географических районов, 88 зон и 305 провинций. Наиболее оптимальный и экономически рентабельный вариант — одна РС на физико-географическую зону и одна БС на регион территорией 2200 тыс. км². Эти расчеты приведены в табл. 1.2, где для сравнения дана примерная территориальная структура систем мониторинга для стран — членов СЭВ и СФРЮ.

По мнению ряда ведущих специалистов, условной минимальной единицей мониторинга и регулирования природной среды может быть территория водосборного района, наиболее приемлемая для целостного функционального исследования и регулирования человеком.

В 1981 г. регулярные наблюдения и контроль за загрязнением атмосферы охватывали в СССР 350 городов, вод суши — 1200 водных объектов с сетью из 4000 пунктов и вод морей — 1700 станций. Общий контроль за национальным мониторингом осуществлял Государственный комитет СССР по гидрометеорологии и контролю природной среды при Совете Министров СССР.

Поскольку только длительные, регулярные наблюдения могут отражать динамику изменений среды обитания и реакцию на этот процесс ее биотической компоненты, введены понятия о пространственном и временном мониторинге. Под первым понимается система одновременных наблюдений за изменением среды обитания и биоты в разных физико-географических зонах, при втором наблюдения проводятся там же периодически и на протяжении длительного времени. Отсюда логично представление о мониторинге как пространственно-вре-

менной системе контроля за окружающей средой, лежащей в основе рационального, управляемого человеком и обществом природопользования. Поэтому в реализации и развитии программ мониторинга должна строго выдерживаться преемственность, сопряженность и сопоставимость всех видов контроля. В соответствии с этими принципами предлагается различать ряд последовательных этапов наблюдений [11].

Первый этап должен включать «инвентаризацию» материалов, отражающих историю освоения территории, динамику антропогенной нагрузки в регионе и изменения состояния отдельных компонентов и экосистем в прошлом, сбор информации о временной структуре протекавших режимов и регистрацию информации в форме, допускающей пространственную интерпретацию прогнозных моделей.

Второй этап предусматривает выбор макрообъекта — зоны наблюдения, чаще — типа бассейна с набором основных экосистем, выбор основных результирующих потоков веществ и энергии, а также количественную оценку основных антропогенных загрязнений, обоснованный отбор доминирующих (индикаторных) видов биоты и ее регистрируемых признаков.

На третьем этапе в периодическом режиме реализуется намеченная программа наблюдений и рекомендуется проведение модельных опытов при дозированных антропогенных воздействиях в контролируемых условиях.

Схема экологического мониторинга включает мониторинг физический, химический и биологический как три взаимосвязанные компоненты единой системы слежения, однако не все они получили одинаково должное развитие и применение. Трудно представить описание изменения физических параметров вне связи с изменением химического состава среды, но и вместе они теряют смысл без четких представлений о реакции биоты на общие изменения. Это может привести к противоестественному разрыву обратных связей в системе человек — природа и одностороннему исследованию влияния людей на природу, без рассмотрения особенностей их существования в антропогенно меняющейся среде обитания. Исключить такой односторонний подход позволяет биологический мониторинг как обязательная часть мониторинга общеэкологического. Но именно эта часть наименее разработана в теоретическом и практическом плане.

Большинство специалистов сходно оценивают некоторые общие положения биологического мониторинга. Все согласны с тем, что биологический мониторинг — обязательная часть экологического. Очевидно, что он должен быть и временным, и пространственным, т. е. должен быть организован и реализовываться на глобальном, региональном, локальном уровнях и в периодическом режиме (с общепринятыми и постоянными интервалами). Выбор регионов должен осуществляться с учетом результатов пространственного анализа антропогенной на-

грузки [20, 21, 45, 47 и др.]; их число и локализация должны совпадать с таковыми, избранными для мониторинга физического и химического [30, 40]. Наблюдать необходимо за наиболее многочисленными, доминирующими видами, вносящими основной вклад в циркуляцию веществ и энергии в природе. Виды малочисленные и исчезающие представляют интерес для учета их роли в трофических цепях и сохранения общего разнообразия генофонда земли. В перечень учитываемых видов должны войти организмы с разной формой организации: микроорганизмы, растения, животные и человек. Наблюдения рекомендуется выполнять на субклеточном, клеточном, тканевом, организменном и популяционном уровнях. Получаемые результаты следует анализировать с учетом роли каждого вида в миграции, кругообороте и биотрансформации поллютантов.

Проведенные исследования были посвящены в основном инвентаризации видов флоры в различных регионах (более полно и системно — на территориях биосферных заповедников), динамике численности доминирующих видов и изменению их репродуктивных свойств, гетерогенности и структуре природных популяций, реакции биоты на отдельные поллютанты и их сочетания, участию некоторых видов в миграции, кругообороте и биотрансформации загрязняющих веществ, возможности и целесообразности использования ряда видов как индикаторных для оценки степени загрязнения окружающей среды. Последнее представляет особый интерес в качестве основы биологического мониторинга. На этих сведениях целесообразно остановиться более подробно.

Микроорганизмы. Большинство опубликованных работ посвящено описанию микробного пейзажа природных экосистем, определению видовой принадлежности, концентрации отдельных (особенно санитарно-показательных) видов микроорганизмов в различных средах. Описаны также успешные опыты по индуцированному, природному мутагенезу и применению измененных, селекционированных форм для генетического картирования, в производственных целях — как гиперпродуцентов биологически активных соединений. Имеются данные о роли «атипичных» форм в биологических процессах, в медицинской микробиологии и инфекционной патологии. Для понимания рассматриваемого вопроса большой интерес представляют сведения о применении микробных моделей с целью выявления мутагенов среди антропогенных веществ, поступающих в биосферу, и как индикаторов суммарного загрязнения среды мутагенами различной природы.

В обобщающих работах [145, 172, 181] приведены результаты испытаний соответственно 34, 101 и 465 соединений. Нами издан «Каталог мутагенов» [36—39] с описанием структуры, свойств и биологических эффектов 475 основных природных и

синтезированных соединений, регулярно поступающих в окружающую среду и обладающих в той или иной степени прямым или потенциальным мутагенным действием. Периодически печатаются отчеты Международного центра мутагенов окружающей среды. Эти материалы были нами систематизированы [64] и установлено, что в одной трети случаев авторы предпочли использовать для выявления и количественной оценки мутагенов окружающей среды именно микробные тест-системы как более простые, стандартные и экспрессные. Такой предварительный контроль, инвентаризация синтезируемых и внедряемых в народное хозяйство соединений необходимы. Учитывая, что к настоящему времени создано более 3,5 млн. соединений и число их ежегодно увеличивается на 30—40 тыс., а исследовано пока около 10 %, масштабы контроля на микробных системах будут и далее расти.

Однако сказанным не исчерпываются возможности использования микроорганизмов как форм контроля среды. В 1981 г. мы отмечали [64, с. 77], что «в природных условиях эти вещества действуют на организм человека, животных, растения, микроорганизмы не изолированно, а в виде разнообразных сочетаний при разных концентрациях компонентов. Тогда возможны комутагенное действие (активация потенциальных мутагенов немутагенными веществами), эффекты суммации, усиления или ослабления (Nagao, Sugimura, 1978; Yoshida e. a., 1979; Ishizawa e. a., 1979; Arisawa e. a., 1978; Rosin, Stich, 1978; Kada, 1978). Имеется большое чиисло наблюдений о том, что колебания температуры, действие электрических и магнитных полей, фотоактивация, состав среды, в которой реализуется действие смесей, оказывают определенное влияние на конечный эффект мутагенов (Commoner e. a., 1978; Christman, Baumgartner, 1980; McCoy e. a., 1979; Pool, 1979; Kada e. a., 1978). Отсюда возникает новая и большая актуальная проблема — разработка способов определения суммарного действия мутагенов в трех основных средах (воздухе, почве, воде). Это позволило бы наметить новый, более рациональный подход к организации службы генетического контроля — первичное картирование с помощью суммационных тестов и последующую расшифровку конкретных причин, обусловливающих ее».

За истекшие четыре года число исследований, выполненных по указанной программе, значительно возросло, что позволило нам в 1983 г. впервые систематизировать их в отдельном обзоре [63]. Подавляющее большинство авторов отдало предпочтение микробным тест-системам для первичного картирования и суммарного определения мутагенов окружающей среды. Разработаны и применяются методы выявления общетоксического действия ряда поллютантов на динамику численности некоторых индикаторных видов микроорганизмов [84]. Однако, как правило, речь чаще идет о модельных опытах, а не о реакции природных попу-

Таблица 1.3

Организмы, обитающие в чистой и загрязненной воде (по [6])

Организмы, обитающие в чистой воде	Организмы, обитающие в загрязненной воде
Водоросли Cladophora (зеленые) Ulothrix (зеленые) Navicula (диатомовые) Простейшие Trachelomonas Насекомые Plecoptera (веснянки) Negaloptera (вислокрылки и коридалы) Trichoptera (ручейники) Ephemeroptera (поденки) Elmidae (амфизоиды) Двустворчатые моллюски Unionidae (перламутровые, формы пуговицы) Рыбы Etheostoma (окунь) Notropis (шайнер) Chrosomus (хрозомус)	Бактерии Sphaerotilus Грибки Leptomitus Водоросли Chlorella (зеленые) Chlamydomonas (зеленые) Oscillatoria (сине-зеленые) Phormidium (сине-зеленые) Stigeoclonium (зеленые) Простейшие Carchesium (стебельчатые, колониальные, реснитчатые) Colpidium (неколониальные, реснитчатые) Кольчатые черви Tubifex (иловые черви) Limnodrilus (иловые черви) Пиявки *Helobdella stagnalis* Насекомые *Culex pipiens* (комары) *Chrinomus (Tedipes)* (черви красного цвета) *Tibifera (Eristalis Tenax)* (крыска) Улитки *Physa integra* Двустворчатые моллюски *Sphaerium* (форма ногтя пальца) Рыбы *Cyrinus carpio* (карп)

ляций и микробных сообществ на антропогенное загрязнение биосферы. Целесообразность и необходимость использования микробных видов как индикаторов в системе мониторинга очевидны [62].

Почвенные беспозвоночные. На долю этих организмов в отдельных биогеоценозах приходится до 95 % животной биомассы и 99 % видового состава (в некоторых почвах их 200—300 видов). Ряд из них является удобным объектом наблюдений, так как они характеризуются устойчивой высокой численностью, отвечают разным «экологическим требованиям» и своеобразно реагируют на разные типы антропогенных загрязнений [18, 19, 49, 59, 60 и др.]. В СССР проведена большая подготовительная работа по возможному использованию почвенных беспозвоночных в качестве биоиндикаторов загрязнений. Опубликованы определители почвенной фауны, разработаны «Методы почвенно-зоологических исследований», сформирована

унифицированная для стран СЭВ программа зоологических исследований почвы, на базе Репетекского, Приокско-Террасного, Березинского и Центрально-Черноземного биосферных заповедников развертываются исследования по биологическому мониторингу с использованием в качестве индикаторов ряда видов почвенных беспозвоночных.

Представители морской и речной флоры, фауны. За последние годы опубликована серия работ [13, 14, 98, 101, 103, 106, 109, 156, 159, 162, 166, 171, 175 и др.], посвященных использованию ряда красных, зеленых, бурых водорослей, моллюсков, иглокожих, рыб, морских птиц для изучения путей миграции, возможной аккумуляции, кругооборота и биотрансформации отдельных поллютантов (в основном солей железа, цинка, марганца, меди, свинца, никеля и некоторых пестицидов, инсектицидов и других веществ). Для изучения биоаккумуляции мутагенов гомогенаты ряда растений и моллюсков с положительным результатом исследовались на индикаторных видах микроорганизмов *Salmonella typhimurium* и *Schizosacharomices pombe* [157]. И хотя целесообразность использования ряда представителей морской флоры и фауны как биологических мониторов очевидна, доступная литература пока не содержит описания подобных системных наблюдений.

В речной и озерной, особенно в мало- и непроточной воде, при промышленном загрязнении концентрация поллютанта может быть очень высокой, а уровень — стабильным или возрастающим. Примером служат Великие озера США, которые сейчас часто называют «мертвыми озерами». В таких случаях взаимосвязь и зависимость между уровнем, типом загрязнений, содержанием растворенного O_2 и разнообразием водной флоры, фауны, численностью и соотношением видов, динамикой и структурой популяций четко выражены. Как правило, «благополучная система» чистых водоемов насчитывает большое число хорошо сбалансированных видов. Известны и виды, «предпочитающие» загрязненную воду. В книге «Стратегия защиты окружающей среды от загрязнений» [6] дан краткий перечень тех и других видов как биомониторов промышленных загрязнений (табл. 1.3).

Характерное для загрязненных вод общее сокращение видов, а также нарастание численности устойчивых и даже утилизирующих поллютанты популяций отражены в рис. 2.

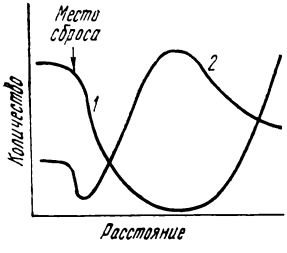


Рис. 2. Динамика численности популяций водных организмов, чувствительных (*1*) и стойких (*2*) к загрязнению воды органическими отходами (по [6]).

Если в литературе сравнительно часто приводятся сведения о влиянии отдельных (наиболее распространен-

ных и массовых) поллютантов на динамику численности и перераспределение видов в антропогенно загрязненных водоемах, то влияние их на генофонд популяций изучено недостаточно. Среди немногих известных следует указать работу [126], в которой описаны изменения аллельных частот у веслоногих в течение ряда поколений. Адаптивную ценность представляет один из аллелей фосфоглюкоизомеразы. У мидий при изучении продуктов семи ферментных локусов методом электрофореза (ЭФ) в полиамилакридном геле (ПААГ) в четырех из них выявлены более высокая частота мутационных изменений самых распространенных аллелей и значительное снижение средней гетерозиготности у особей в более загрязненных водах [97]. Метод сестринских хроматидных обменов, примененный у рыб, имеющих в кариотипе малое число хромосом,— евдошки [191], был с успехом использован для оценки уровня загрязнения водоемов рядом мутагенов, в том числе пестицидами. При мониторинге ряда рек и озер Нидерландов обнаружено, что накопление мутагенов в р. Рейн значительно активирует микросомальные системы биотрансформации рыб, что нехарактерно для рыб, обитающих в относительно чистой р. Маас и малозагрязненных озерах [182].

Приведенные сведения свидетельствуют о возросшем внимании к вопросу биомониторинга водоемов, изменению видового состава и численности видов при антропогенном загрязнении последних. Вместе с тем крайне недостаточно, преимущественно в модельных опытах, исследуется дисгенетическое действие поллютантов: лишь в единичных работах описано их влияние на генофонд природных популяций. Отсюда следует заключить, что подбор ограниченных по числу, но достаточно репрезентативных и универсальных индикаторных видов флоры, фауны и методов описания их характеристик, в частности, отражающих влияние конкретных загрязнений на структуру популяций, относится к числу малоисследованных и требующих своего решения вопросов.

Развитие наземной растительности, типичное для доагрикультурного периода истории, в век глобального техногенного влияния привело к критической ситуации в ряде индустриально развитых стран. Например, среди сосудистых растений количество исчезнувших видов составляет, %: ВНР — 1; Англия — 1,1; ФРГ — 2,2; ГДР — 2,4; ЧССР — 4; Бельгия — 4,5. Полагают, что около 20 тыс. видов растений находятся под угрозой полного исчезновения, и значительная часть их уже занесена Международным союзом охраны природы и природных ресурсов (МСОП) в «Красную книгу». Для рационального построения охранных мероприятий, с учетом флорогенетической и фитогеографической характеристик, целесообразно брать за основу единую интегративную характеристику вида — аутфитосозологический индекс, определяемый с учетом

уникальности вида, его таксономической репрезентативности, категории редкости по системе МСОП, количеству и площади локалитетов, фитогеографического, народнохозяйственного и исторического значения вида, его способности к генеративному и вегетативному размножению, конкурентоспособности, стохе- и антропотолерантности, стабильности экологических условий произрастания.

Возможно, что определение ряда характеристик (стохе- и антропотолерантности и др.) должно основываться на достаточной информации о стойкости вида к повреждению абиотическими, биотическими факторами и об уровне антропогенных загрязнений среды, на исследованиях, проводимых систематически и в разных географо-климатических зонах. Эти же характеристики могут стать основой для возможного использования вида как индикатора в системе экологического мониторинга.

В связи с этим представляют интерес многочисленные наблюдения за участием растений как звеньев общетрофических цепей в миграции ряда широко распространенных поллютантов — ионов металлов и их солей, полициклических ароматических углеводородов, нитрозосоединений, пестицидов, микотоксинов и других соединений, обладающих общетоксическим и дисгенетическим действием. При анализе следует учитывать, что возможности усвоения, аккумуляции и биотрансформации поллютантов, их распределения в органах, как и влияние на физиологию, генетический аппарат и репродуктивные свойства, неодинаковы и в известной мере могут быть отнесены к видоспецифическим характеристикам растений. В качестве примера можно отметить, что при одинаковой концентрации свинца в почве 4 мг/кг его накопление в корнях разных растений колебалось от 21 до 764 мг/кг и составляло в листьях салата 37, в корнях моркови — 21, в клубнях картофеля — 1,2, в плодах помидора — 2,1, в зерне кукурузы — 3,3 мг/кг. По-разному распределены микотоксины в пробах арахиса, кукурузы, бобов, пшеницы, овса и других растений [46].

Наличие большого числа поллютантов и различных их сочетаний в природе, неодинаковый уровень их поглощения, аккумуляции, трансформации, разные тип распределения в органах растений и уровень чувствительности последних к поллютантам, неодинаковое влияние на морфофизиологические, репродуктивные свойства, конкурентоспособность и генетический аппарат требуют накопления большого объема фактической информации, прежде чем может быть сделано заключение о пригодности конкретного вида как биоиндикатора. Специфичность избранных объектов, естественно, отражается и на наборе регистрируемых параметров. Кроме методов, традиционных для биогеоценологии и популяционной экологии (определение ряда морфофизиологических показателей, продуктивности, геноструктуры, динамики численности популяций

и др.), рекомендуются и иные, рассчитанные на учет регуляторных функций биомембран, эффективности оксигеназных систем, структуры и функции фотосинтезирующего аппарата. В качестве конкретных признаков, позволяющих учесть реакцию растений на действие поллютантов, предлагается учет интенсивности фотосинтеза, фотохимической активности (по реакции Хилла), индуцированного свечения и флюоресценции, сверхслабого свечения липидных мембран, активности ряда ферментов (каталазы, пероксидазы, полифенолоксидазы), проницаемости мембран клеток, а также описание мезоструктуры фотосинтетического аппарата, характеристик отраженного сигнала сверхвысокочастотного излучения [44, 84] и др.

Вопросы контроля и учета возможного мутагенного действия поллютантов на растительных объектах рассматривались чаще в модельных экспериментах. В 1981 г. нами проанализировано более тысячи публикаций на предмет частоты использования различных тест-систем для выявления мутагенов среди поступающих в природу соединений. В 7,5 % случаев это были растения [64]. Опыты проводились в полевых и лабораторных условиях на 43 видах растений, чаще использовались семена риса, гречихи, пшеницы, гороха, ячменя, кукурузы, хлопчатника, люпина [7, 56, 58, 68, 111, 115, 164]; в последние годы все более широкое применение получают культуры клеток растений [33, 34]. Обработка растений проводится водными растворами, газообразными мутагенами, растительными экстрактами [76, 78, 194]. Регистрируемые признаки касаются в основном изменения типа и длины стебля, формы листьев и прилистников, длины вегетационного периода, окраски растений, длины плодоножки, числа и формы семян, хлорофильных мутаций, дефекта синтеза отдельных ферментов, изменения эмбриогенеза пыльцы, микроспорогенеза, микрогаметогенеза, проявляются в тесте нерасхождения хромосом, микроядерном тесте и др. [56, 114, 128, 140, 148, 157].

Большинство авторов отмечает широкие меж- и внутривидовые, линейные и даже индивидуальные различия в реакции на мутагены, что не препятствует подбору определенных видов растений в качестве индикаторов загрязнения среды мутагенами [4, 5, 53, 79, 179]. В числе возможных претендентов на роль генетических биомониторов чаще называют *Vicia faba* [117, 149], *Zea mays* [163, 190], *Tradeskantia reflecta* [124, 150, 151, 176, 177, 196], *Arabidopsis* [169, 170, 178, 194 и др.]. По крайней мере, четырежды растения были успешно использованы в природе для генетического мониторинга антропогенно загрязненной среды обитания. Так, в 1976 г. *Zea mays* линии W-22 были высажены по определенному плану на разном удалении от двух заводов по выплавке свинца и двух нефтехимических комплексов в США. Во время цветения собрали султаны и произвели анализ мутаций. Как правило, ча-

стота мутаций в 6—16 раз превышала спонтанный фон и снижалась по мере удаления от предприятия [120, 121].

Аналогичная картина описана при двухлетних наблюдениях за *Zea mays* и *Tradescantia*, высаженными вблизи заводов по выплавке цветных металлов и охлаждающих установок экспериментальных ядерных реакторов в США [146]. В 1980 г. два триплоидных клона традесканции с линейной высокой чувствительностью к мутагенам высадили вокруг семи ядерных энергетических установок (ЯЭУ) в Японии. Мутагенный эффект оценивали по частоте проявления в цветках тычиночных волосков с сине-розовыми клетками. На основании анализа 12 млн. препаратов установлено увеличение мутационного груза при росте экспозиции, уменьшении расстояния от ЯЭУ и в зонах с преобладающим направлением ветров от установок [133].

При сравнительном наблюдении оноклеи (*Matteuccia struthiopteris*) в пойме р. Хьюстон, сильно загрязненной полихлорированными бифенилами, и в относительно чистой р. Коннектикут (США) обнаружено, что частота соматических гаметофильных мутаций в первой популяции была в 5,26—6,14 раза выше, чем в контрольной [139]. Заключение о целесообразности использования высших растений как генетических мониторов поддержали и участники международного семинара, проходившего на базе Национального института охраны окружающей среды в 1978 г. во Флориде, США [119]. И хотя растения, в одинаковой мере пригодные для регистрации общетоксического, летального и мутагенного действия основных поллютантов, пока изучены недостаточно, тем не менее вопрос о возможности лихено-, брио-, дендро-, как и фитомониторинга в целом, с составлением соответствующих территориальных индикационных карт, можно считать назревшим и в обозримом времени возможным для практического решения [43, 83, 116, 149, 163, 178]

Восхождение по трофической цепи от продуцентов до консументов 1-го и 2-го порядков делает выбор индикаторных видов все более сложной задачей. Это обусловлено не только высокой «специализацией» и зависимостью таких видов от многочисленных конкретных климато-географических условий существования, но и возрастающей сложностью связей вида со средой обитания. Наличие «жизненного пространства», достаточного притока энергии, численность популяции, длительность жизни и доля особей, доживающая до половой зрелости, репродуктивные особенности, наличие симбионтов и хищников, адаптивные потенции, степень разнородности популяций, способность к внутривидовой кооперации и т. д. значительно затрудняют выбор индикаторных видов среди наземных животных. По сути дела, в природе кроме человека вряд ли существует иной вид, который бы претендовал на полную индикатор-

ную универсальность в качестве объекта биологического мониторинга.

Условия обитания и своеобразие животного мира не- и палеарктической, неотропической австралийской, восточной, эфиопской областей, как и отличия их биом с различным набором доминирующих видов, делают поиск ограниченного числа универсальных биомониторов потенциально бесперспективным и заставляют искать выход в подборе индикаторных видов, характерных для каждого типа биом. Такой подход особенно четко проявился при формировании общих принципов организации экологического мониторинга, планирования сети биосферных заповедников и реализации ими программ биологического учета и контроля [31, 54, 85]. Большинство участников проекта № 14 уже на первом этапе его реализации обоснованно сконцентрировали внимание на выборе характерных для каждого типа биом индикаторных видов животных с последующим персистентным описанием их качественных и количественных характеристик [16, 26, 32, 44, 51, 69, 86 и др.].

Определенная направленность книги, а также ограниченный ее объем позволяют лишь кратко остановиться на основных методах выявления и оценки влияния химических антропогенных загрязнений на мутационный процесс и формирование разнородности геноструктуры популяции. Следует отметить, что большинство работ этого плана имеет экспериментальный модельный характер.

Одной из первых и наиболее массовых форм контроля химических мутагенов остаются опыты на животных. На основании анализа 1015 публикаций, относящихся к 1978—1981 гг., можно утверждать, что авторы 31,6 % работ отдали предпочтение этой тест-системе [64]. В последние годы такие исследования все чаще выполняются на клеточных и органных культурах, в первичных и перевиваемых клеточных линиях с применением стандартных синтетических сред. В качестве доноров наиболее часто используются линейные крысы, сирийские хомячки, мыши, реже обезьяны, кролики, куры, морские свинки, индийские мунтжаки, кенгуровые крысы и другие животные. Источником первичных культур являются ткани печени, легких, крови, костного мозга, половые клетки, тимус или извлекаемые из них препараты ДНК. При работе с перевариваемыми культурами предпочтение отдается эталонным линиям (типа СНО, L 5178, V 79, МЗ-1, ЯКХ и др.), если возможно — диплоидным и синхронизированным культурам.

Для выявления генотоксического эффекта использовано большое число маркеров: связывание исследуемых веществ и их метаболитов с ДНК, РНК и комплексирующимися белками, разрывы и внеплановый синтез ДНК, регистрируемые нарушения репликаций и репаративных процессов, разнообразные аномалии сперматогенеза и овогенеза, сестринские хрома-

тидные обмены, аберрации, нерасхождение и уменьшение числа хромосом, наличие точковых мутаций по типу замены пар оснований или сдвига рамки считывания (в том числе ведущие к ауксотрофии или ее реверсии), изменение антибиотикоустойчивости, утрата клетками ферментативных свойств или синтез нетипичных белков, микроядерный тест и др. Описание соответствующих методических приемов дается в ряде работ [27, 41, 46, 91, 93, 99, 102, 105, 107, 110, 113, 153, 160, 161, 186, 188, 189, 193 и др.]. Полученные результаты неоднократно систематизировались [48, 108, 132, 147, 167, 192, 198].

Как правило, эксперименты in vitro являются лишь первым этапом контроля, заключению предшествуют опыты на животных. Для этого проводятся острые опыты, хронические затравки, полевые наблюдения с регистрацией морфологических и функциональных показателей семяродного эпителия, цитогенетического анализа клеток костного мозга, лейкоцитов, учетом общей, до- и постимплантационной смертности и изучением потомства животных [73]. В 1969 г. Легатором и Мэллингом [143] был предложен метод, получивший название «тест хозяина-посредника». После затравки подопытным животным, с учетом органотропности поллютанта, вводится на некоторое время взвесь индикаторных бактерий, дрожжей, бактериофагов, спор грибов или клеток млекопитающих. Регистрируемое изменение их генотипа позволяет количественно оценить вклад вещества и его метаболитов в мутационный процесс [94—96, 118, 142]. Получили распространение тесты доминальных леталей, наследуемых транслокаций, потери и нерасхождения половых хромосом, специфических локусов, спот-тест и др. [71, 112, 135, 136, 154, 168, 174, 180].

Интерпретация тестов — довольно сложный процесс, особенно если учитывать меж- и внутривидовые (линейные и даже индивидуальные) различия в биотрансформации и уровне чувствительности животных к действию разных мутагенов [42, 89, 100, 123 и др.].В целом можно утверждать, что регистрация основных типов генотоксического действия на органном и клеточном уровнях с учетом геномных, хромосомных изменений и точковых мутаций является реальностью, а выбор тех или иных тестов во многом определяется возможностями лабораторий и приверженностью их сотрудников к тем или иным методам. Поэтому поиск общепризнанных стандартных схем контроля приобретает все большую актуальность [11, 88]. В то же время экологический мониторинг гетерогенности природных популяций животных остается малоисследованной проблемой, хотя интересные подходы намечены в работах Н. П. Дубинина [25], Ю. П. Алтухова [3] и др. Выбор индикаторных видов, как и унифицированных способов описания их гетерогенности, в пределах разных биом, скорее, можно считать очередной задачей, чем предметом описания.

Человек — первоочередной объект экологического мониторинга. Более того, многие авторы рассматривают наблюдения за популяциями одноклеточных, простейших, растений и животных как предварительные для возможной экстраполяции накопленной информации на людские коллективы, но дополненные прямыми наблюдениями за человеческими популяциями. Вместе с тем можно утверждать, что мониторинг человеческих популяций (пусть читателя не смущает приложение этого биологического термина к *Homo sapiens*) — наиболее сложный и наименее изученный вопрос. При его рассмотрении, кроме общебиологических подходов — учета высокой сложности строения и организации, диплоидности генетического аппарата, особого положения в природной среде, бисексуальности, сложности процессов биотрансформации ксенобиотиков, репарационных процессов и других, следует принимать во внимание и поведенческие реакции, уровень социальной организации общества.

Увеличение общей и генетически эффективной численности (демографический взрыв), неодинаковые тенденции в изменении возрастной структуры популяций и репродуктивной ее компоненты в разных регионах, урбанизация, рост миграционных процессов при снижении коэффициента инбридинга, рост энергетики, укрупнение производства, интенсификация сельского хозяйства, снижение уровня естественного отбора в развитых странах — все это необходимо учитывать при организации мониторинга людских популяций. Определены службы, ответственные за учет численности, структуры населения, планирование развития народного хозяйства, здоровье людей, концентрацию поллютантов в биосфере и общетоксическое их действие (ЦСУ, Госплан, минздрав, гидрометеослужба, санэпидслужба), а вопрос об организации общегосударственной службы генетического контроля до сих пор не решен, хотя целесообразность ее создания очевидна. Приведем лишь несколько цифр.

К настоящему времени описано 1364 наследуемых заболевания, 736 из которых передаются в людских популяциях аутосомно-доминантно, 521 — аутосомно-рецессивно и 107 — Х-сцепленно. Существуют еще 1447 болезней с предполагаемой генетической природой. К их числу кроме наследуемых многие специалисты относят такие «болезни цивилизации», как онкологические заболевания, иммунодефектные состояния, некоторые формы аллергии, ряд психических нарушений, атеросклероз. Более 10 % населения земного шара сегодня имеют те или иные выраженные генетические дефекты, и дальнейшее нарастание мутационного груза может представить определенную опасность для людских популяций [10, 23, 39, 122, 141, 144]. Есть и сторонники более оптимистических прогнозов [52], но и они относят экологический — генетиче-

ский мониторинг человеческих популяций к числу первоочередных задач.

Остановимся на некоторых интересных подходах к решению этого вопроса. В принципе возможны четыре способа оценки влияния поллютантов на интенсивность мутационного процесса и генофонд людских популяций.

1. Сравнение со спонтанным уровнем мутаций для определения степени возрастания мутационного процесса.

2. Учет абсолютного числа мутантных форм.

3. Расчет дозы, удваивающей число мутаций в популяциях (как в радиационной генетике).

4. Определение эквивалентной дозы ионизирующего облучения.

Чаще отдают предпочтение первому способу, позволяющему учесть дополнительный вклад индуцированных мутаций в спонтанный мутационный фон [9].

При проведении подобных исследований большое значение придается учету следующих обстоятельств.

1. Правильному выбору объекта наблюдения. Полагают, что население крупного города является большой характерной панмиктической популяцией, адекватным «ядром» большого антропологического пласта, несущего в себе достаточную генетическую информацию.

2. Необходимости учета трех основных типов мутаций — генных, хромосомных и геномных.

3. Объему репрезентативной выемки, зависящему от применяемого метода оценки и величины мутационного груза в популяциях. Так, для выявления достоверных частот хромосомных аномалий при цитогенетическом исследовании исходов беременности репрезентативная группа для установления превышения мутационного процесса над фоном в два раза должна быть не менее 85, а для выявления 10 %-ного повышения уже необходимо изучить исходы 6050 беременностей [9].

4. Наблюдаемое изменение генофонда чаще является результатом влияния суммы разнообразных поллютантов и относится к числу многофакторных процессов, где трудно, а иногда и невозможно вычленить влияние отдельного(ых) фактора(ов) на основную массу населения. Но при исследовании «профессиональных» групп с доминирующим длительным влиянием конкретных загрязнений в высоких концентрациях в принципе возможно описание векторизированного процесса с характерной динамикой биологических и морфологических параметров. Это позволяет локализовать первичные источники мутаций и сформулировать соответствующие рекомендации, т. е. активно вмешиваться в процесс.

5. Так как проблема химического мутагенеза применительно к людским коллективам сформировалась в последние

десятилетия, то, видимо, достаточно охватить соответствующими наблюдениями три последних поколения. Сопоставление генофонда населения крупных промышленных городов и групп, находящихся на значительном расстоянии от промышленных центров и подверженных действию лишь глобальных поллютантов, в известной мере позволяет вычленить и лучше понять процесс индуцированного химического мутагенеза.

6. Понятие о пороговых и предельно допустимых концентрациях для химических мутагенов менее применимо, чем расчет степени генетического риска.

Для учета уровня мутационного давления и его фенореалий в человеческих популяциях чаще изучают «сторожевые» фенотипы или разнообразные фенотипические отклонения от нормы, частоту встречаемости вновь образующихся хромосомных аномалий, отклонения в электрофоретическом, изоферментном спектре сывороточных и тканевых белков. Конкретными объектами регистрации являются: нарушения спермо- и овогенеза, частота «спонтанных» выкидышей, абортов, преждевременных родов, недоразвития плодов, мертворождений, врожденных уродств, наследственных болезней; выявление гомозиготной компоненты в потомстве при близкородственных браках; определение белковых аномалий при двумерном электрофорезе в полиакриламидном геле и тестировании ферментных потенций изолированных фракций; сравнительный количественный учет хромосомных аномалий в лимфоцитах периферической крови рабочих вредных химических производств в сравнении с контрольными группами. Дополнительная информация по затронутым вопросам содержится в следующих обзорах и оригинальных работах [9, 22, 55, 70, 87, 104, 125, 129—131, 152, 183—186, 191, 195 и др.].

К сожалению, проведение подобного генетического мониторинга человеческих популяций пока в основном сводится к регистрации необратимых, иногда летальных изменений генотипов и представляет диагностический, реже прогностический интерес. Лишь изучение профессиональных групп может быть основой для принятия конкретных профилактических мер.

В заключение необходимо отметить следующее.

1. Биологический мониторинг должен стать обязательной частью мониторинга общеэкологического. Только он позволяет учесть влияние антропогенно меняющейся среды обитания на биоту, а последней — на среду обитания и обеспечить выявление как прямых, так и обратных причинно-следственных связей, лежащих в основе современного этапа эволюции биосферы.

2. Как и любая форма мониторинга, биологическое слежение должно быть пространственно-временным, проводиться на примере контрольных и опытных биом (с регистрацией типа и уровня антропогенной нагрузки).

3. К первоочередным вопросам относится обоснованный подбор так называемых индикаторных видов, характерных для каждого типа биом. Очевидно, это должны быть доминантные виды — характерные представители всех основных звеньев трофической цепи, принимающие участие в биотрансформации поллютантов, с различным уровнем сложности организации: микроорганизмы, простейшие, растения, животные, человеческие популяции. Обоснованный выбор экологически значимых и генетически детерминированных признаков индикаторных видов должен предшествовать началу работ.

Рассмотрению указанных вопросов на примере одного из микробных видов как возможного биоиндикатора в системе экологического мониторинга посвящен следующий раздел книги.

ГЛАВА 2

ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА ИНДИКАТОРНОГО ВИДА МИКРООРГАНИЗМОВ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Хотя не вызывает сомнений тот факт, что число индикаторных микробных видов должно быть ограниченным, а отбор обоснованным и рациональным, однако неясно, какие критерии должны стать основой такого отбора.

По мнению большинства специалистов, желательно охватить наблюдениями виды микроорганизмов с различной сложностью организации— макромолекулярной (вирусы) и клеточной эу- и прокариотического типа (простейшие и бактерии). Среди них следует отдать предпочтение доминантным видам, типичным представителям крупных таксономических групп, регулярно присутствующим в основных природных средах — в воде, почве, воздухе, организме людей и животных. Это позволило бы интерполировать результаты изучения вида на большое число однотипных микроорганизмов. Участие в процессах природного синтеза или биодеструкции, важная роль для жизнедеятельности других доминантных видов также должны быть учтены при выборе претендентов. Перечисленным признакам вполне отвечает характерный представитель большой группы кишечных бактерий *Escherichia coli commune.*

Микроорганизмы семейства кишечных бактерий широко распространены в природе, разнообразны, а численность едва ли поддается учету. Среди них есть сапрофиты, условно патогенные и болезнетворные виды — всего около 250. Что же объединяет их в одну группу — семейство *Enterobacteriaceae*? По мнению большинства специалистов, таких признаков два — единство происхождения и общая среда обитания.

Согласно унитарной теории развития [72], родоначальником всего обширного семейства является *Escherichia coli commune.* От нее в процессе многовековой эволюции выделились в самостоятельные варианты, а затем и в отдельные виды многообразные сапрофитические, условно-патогенные и патогенные кишечные бактерии. Это мнение подтверждает наличие у всей группы общих морфологических, физиологических, биохимических, культуральных и иных свойств. Микробы кишечной группы входят в один общий биоценоз, заполняют единую экологическую нишу, все они находят оптимальные условия для роста и размножения в толстом кишечнике людей,

животных, а в окружающей среде — в воде, почве, воздухе могут лишь переживать, сохраняясь различное время. У новорожденных людей полости тела стерильны, но уже в первые дни или недели интенсивно заселяются характерной микрофлорой. У взрослых концентрация кишечных бактерий достигает в тонком кишечнике 10^5—10^6, в слепой и ободочной 10^8—10^{10}, в сигмовидной и прямой кишке до 10^{11} в 1г, или 10—20 % от кишечного содержимого. С каждым граммом каловых масс в окружающую среду выделяются миллиарды бактерий [72]. Аналогичная динамика колиформ характерна для домашних животных, особенно при стойловом содержании, но концентрация несколько иная. У диких животных они встречаются непостоянно.

Людей, животных и коли-бактерии связывают отношения симбиоза, а точнее — мутуализма. Полость кишечника является для микроба оптимальной средой обитания, источником субстрата и энергии. Приносимая этой группой микробов польза разнообразна и существенна.

1. В процессе жизнедеятельности *E. Ooli* постоянно и в значительных количествах синтезируют витамины В, Е, К, которые утилизирует макроорганизм.

2. Микробы продуцируют и экскретируют в просвет кишечника ряд протеолитических, сахаролитических и иных экзоферментов, участвующих в пищеварении.

3. Они участвуют в конверсии желчных пигментов и кислот.

4. Выступают регулятором численности и качественного состава нормальной микрофлоры кишечника.

5. Антагонистически влияют на проникшую в кишечник патогенную микрофлору.

6. Взаимодействуют с эпителием кишечника и стимулируют образование клетками гистамина, что способствует поддержанию тонуса кишечного тракта.

7. Продуцируют белки-антигены, способствующие развитию полноценного лимфоидного аппарата кишечника.

Вместе с тем при нарушении целостности и проницаемости кишечной стенки *E. coli* могут быть причиной тяжелых, даже летальных осложнений.

Желудочно-кишечный тракт — открытая функциональная система, и циркуляция колиформ в природе достаточно полно изучена и описана: размножившиеся в организме человека, животного микроорганизмы с бытовыми (организованными или неорганизованными, подвергнутыми частичной очистке или в нативном виде) стоками поступают в окружающую среду, в почву и открытые водоемы, где основная часть их отмирает. Другая часть, достигнув водозабора, поступает на очистные сооружения и после частичной инактивации может в следовых количествах присутствовать в водопроводной воде

(допустимая концентрация не должна превышать трех клеток на 1 л воды). Возможными источниками реинвазии также могут быть обсемененные *E. coli* руки, пища, белье. Кишечная палочка постоянно присутствует в почве и стоках животноводческих ферм, в промстоках и отстойниках предприятий со смешанной системой канализации, периодически встречается в воздухе. Можно утверждать, что ее присутствие и концентрация отражают степень загрязнения окружающей среды продуктами жизнедеятельности человека и домашних животных. По общему мнению, этот микроорганизм является основным санитарно-индикаторным видом, используемым органами санэпидслужбы в практической работе.

Многомерное пространство, координатами которого служат условия и ресурсы среды, можно определить как экологическое [77], конкретный набор координат, относительно которого рассматривается положение вида по его численности и геноструктуре — его модель [90]. Чем полнее набор координат, описывающих изменение численности и структуры популяции, тем полнее модель. Из сказанного следует, что при мониторинге объектами изучения должны быть *E. coli,* присутствующие в организме людей, животных, а также в бытовых сточных водах, в воде открытых водоемов, водопроводной воде, в промстоках основных типов промышленных предприятий с характерным химическим составом, содержанием химических мутагенов и уровнем радиоактивности. Область, определяемую координатами условий среды, называют экотопом, или местообитанием, а экологическую нишу чаще связывают с многомерной областью, определяемой и координатами ресурсов. В. Е. Соколов, Ю. Г. Пузаченко и Ю. И. Чернов [77] дополнительно вводят понятие фундаментальной экологической ниши, под которой подразумевают «область многомерного пространства, в которой физиологические и видоспецифические параметры допускают существование вида, хотя бы и сколь угодно малой численностью» (с. 16). С этих позиций организм людей, животных, являющийся оптимальной средой развития, размножения, миграции для *E. coli,* приближается к понятию экологической ниши (ЭН), а все другие исследуемые объекты, допускающие более или менее длительное переживание этого микроба, очевидно, следует относить к экотопам, или фундаментальным экологическим нишам (ФЭН).

Использование микроорганизмов в системе биологического мониторинга предусматривает описание динамики численности и структуры популяции не только в пространстве, но и во времени. Большинство авторов считает пятилетний интервал достаточным для выявления существенных сдвигов, обусловленных антропогенными воздействиями. Изучать необходимо свежевыделенные клоны, видовая принадлежность которых к *E. coli* установлена по системе ТИМАЦ. Репрезентативность

групп устанавливается исходя из общестатистических закономерностей.

Изложенное можно сформулировать следующим образом.

1. Включение определенного набора микробных видов (аутотрофов и гетеротрофов, синтезирующих бактерий и деструкторов, трофически зависимых индикаторов и санитарно-показательных видов) в общую систему биологического слежения за антропогенно меняющейся средой обитания целесообразно и очевидно.

2. По мнению специалистов [72], из группы санитарно-показательных микроорганизмов *E. coli* — основной претендент на роль индикаторного вида.

3. Мониторинг должен быть пространственным, поэтому наблюдения необходимо проводить на всех этапах его природной циркуляции: исследованию подлежат группы клонов, выделенные от здоровых людей, сельскохозяйственных животных, присутствующие в бытовых сточных водах, открытых водоемах, водопроводной воде, существующие в экстремальных условиях — в промстоках нефтехимических комплексов (с высоким содержанием химических мутагенов), в промышленно-бытовых стоках, типичных для региона крупных предприятий со своеобразным физико-химическим составом вод, в отстойниках АЭС (с повышенным уровнем радиоактивности). Обязательна одновременная регистрация основных физико-химических факторов, влияющих на численность и структуру популяций.

4. Объектом описания должны быть репрезентативные группы клонов, видовая принадлежность которых к *E. coli* установлена исследованиями по системе ТИМАЦ.

5. Регистрации подлежат экологически значимые, количественно учитываемые, генетически детерминированные (поли- и моногенные) признаки. Наиболее доступные из них приведены в табл. 2.1.

6. Наблюдения следует проводить регулярно с общепринятыми интервалами в 4—5 лет, а при критических ситуациях целесообразны и внеочередные экспертные оценки, проводимые по той же схеме.

В наших исследованиях изоляцию и типирование клонов кишечной палочки, выделенных из различных источников, и изучение генетических признаков проводили по указанной схеме (табл. 2.1).

Первичная статистическая обработка полученного фактического материала предусматривала расчет среднего арифметического значения признака M, ошибки средней арифметической m и среднего квадратичного отклонения σ. При сравнении отдельных парных показателей двух групп для определения достоверности различий (или отсутствия таковых) применен критерий Стъюдента.

Для удобства сравнения групп и большей наглядности ма-

Таблица 2.1

Схема описания основных физико-химических свойств фундаментальных экологических ниш и регистрации признаков выделенных из них клонов

№ п. п.	Регистрируемые свойства, признаки	Способ оценки
	Общая характеристика среды обитания	
1	Описание фундаментальной экологической ниши [77]	Исходя из специфики ниши как среды обитания
	Основные регистрируемые физико-химические параметры среды обитания (для бытовых сточных вод, открытых водоисточников, промстоков)	
2—41	Температура (среднегодовая и в момент забора), кислотно-щелочное равновесие или pH среды, окислительно-восстановительный потенциал (eH), концентрация растворенного кислорода (pO_2), окисляемость, биологическое потребление кислорода ($БПК_5$), запах, прозрачность, цветность, мутность, сухой остаток, наличие и концентрация сульфатов, хлоридов, железа, марганца, никеля, цинка, олова, мышьяка, свинца, хрома, фтора, урана, общая жесткость, щелочность общая и некарбонатная, концентрация кальция, магния, калия+натрия, бикарбонатов, солей аммония, нитратов, нитритов, фенола, нефтепродуктов (суммарно), хлор- и фторорганических пестицидов, уровень излучения, поток теплых нейтронов, содержание индикаторного мутагена — бенз(а)пирена	ГОСТы 18963-73 «Вода питьевая»; 24481-80 «Вода питьевая. Отбор проб»; 2874-73 «Вода питьевая, методы анализа»; 17.1.03—77/СТ СЭВ 1924-79 «Охрана природы. Гидросфера. Правила выбора и оценка качества водоисточников централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения»; «Правила охраны поверхностных вод от загрязнения сточными водами» (1974)
42	Уровень соответствия структуры популяции среде обитания	Определяется в модельных опытах по динамике отмирания «местных» клонов и эталонных музейных культур *E. coli* в фильтратах вод, из которых выделены местные штаммы
43	Определение суммарной мутагенной активности вод с дифференциацией прямых и потенциальных мутагенов, действующих на основе замены пар оснований и сдвига рамки считывания ДНК	По методу Эймса с оригинальным комплектным препаратом, включающим набор разновидовых лиофилизированных микросомальных фракций

Продолжение таблицы 2.1

№ п. п.	Регистрируемые свойства, признаки	Способ оценки
	Определение видовой принадлежности выделенных штаммов	
44	Типичность культуральных, биохимических и тинкториальных свойств, морфологии выделенных бактерий	На среде Эндо, МПА, МПБ, оксидазная проба, окраска по Граму и световая микроскопия
45—49	Способность сбраживать лактозу при 43 °С, расщеплять белки с образованием индола, интенсивность кислотообразования при ферментации углеводов, их расщепление до ацетилметилкарбинола	По схеме ТИМАЦ, с частичным использованием системы СИБ
	Качественная и количественная регистрация экологически значимых, фенетически выраженных и генетически детерминированных признаков выделенных клонов	
50, 60	Возможность утилизации 11 углеводов и многоатомных спиртов (глюкозы, мальтозы, лактозы, арабинозы, рамнозы, сорбита, инозита и др.) до кислоты и газа	На средах Гисса по общепринятой схеме
61	Определение прото- или ауксотрофности клонов, в последнем случае с расшифровкой природы трофической зависимости по 36 аминокислотам, витаминам, пуринам и пиримидинам	На средах Р. Холлидея [74, 75]
62—65	Динамика развития на жидких и плотных, глюкозо-солевых минимальных и органических полных (М-9 жидкая и агаризированная, МПБ и МПА) средах с вычислением среднего радиуса колоний, формируемых к 72-му часу развития на агаризированной среде М-9, МПА ($Д_{М-9}$, $Д_{МПА}$), максимальная быстрота и средняя скорость репликации клонов ($\mu_{ср}$ и $\mu_{макс}$), максимальная плотность и время ее достижения ($Д_м$ и $Т_{дм}$), экономический коэффициент утилизации субстрата (У), степень закисления (pH) жидких сред М-9 и частично при развитии в МПБ	По общепринятым методикам

Окончание таблицы 2.1

№ п. п.	Регистрируемые свойства, признаки	Способ оценки
66—72	Антагонистическая активность в отношении сопутствующей условнопатогенной микрофлоры	На МПА методом поперечных штрихов с использованием в качестве индикаторных штаммов Shigella Sonne, № 177 b, Shigella Flexneri № 170, Shigella Flexneri № 337, Proteus vulgaris, Proteus mirabilis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli (026)
73—82	Наличие и уровень устойчивости к 10 основным антибиотикам с различными механизмами действия и частотой применения	Метод диффузии в агар с использованием стандартных бумажных дисков, пропитанных полимиксином М, эритромицином, тетрациклином, пенициллином, стрептомицином, мономицином, канамицином, неомицином, новобиоцином, левомицетином
83—92	Чувствительность к колицинам	Методом отсроченного антагонизма в отношении колициногенных штаммов коллекции Фредерика, продуцирующих колицины B, D, E+J, F, J, K, V и др.
93	Устойчивость к ультрафиолетовому излучению	Выживаемость на МПА при дозах облучения 75, 100, 125 эрг/см^2
94	Устойчивость к активному хлору	По выживаемости в физрастворе с концентрацией активного хлора 0,5—0,1—0,02 мг/л при 20 °С в течение 30 мин

териала использован способ построения сравнительных графических полигонов. Накопленный материал допускал использование в качестве фоновых, нулевых, групп двух субпопуляций — групп клонов, выделенных из организма здоровых людей (естественной среды развития) и воды относительно чистого открытого водоема (среды переживания бактерий). Учитывая, что большинство изолятов (5 из 8) отбирали из вод и промстоков, среда переживания — вода открытого водоема — была избрана как фоновая. Все качественные и количественные характеристики этой группы клонов были приняты за 100 %. Аналогично были пересчитаны все цифровые характеристики других групп. За основу «графического полигона» взята окружность. В ней на равном расстоянии построены радиусы, по числу соответствующие количеству сопоставляемых признаков. Перечень и маркировка радиусов приведены ниже.

1. Количество антибиотиков, к которым отсутствует чувствительность, шт.

2. Время генерации на полной органической среде МПБ, мин.

3. Максимальная плотность культур на МПБ, ед. опт. плотн.

4. Время достижения максимальной плотности на МПБ, ч.

5. Среднее время генерации на минимальной глюкозо-солевой среде М-9, мин.

6. Максимальная плотность культур в среде М-9, ед. опт. плотн.

7. Время достижения максимальной плотности в среде М-9, ч.

8. Средний диаметр колоний на мясопептонном агаре (МПА) к 72-му часу, мм.

9. То же на агаризованной среде М-9.

10. Антагонизм к шигеллам Зонне — штамм 1775, зона угнетения роста, мм.

11. То же к шигеллам Флекснера — штамм 170.

12. То же к шигеллам Флекснера — штамм 337.

13. Выживаемость после действия УФ облучения в дозе 75 эрг/см^2, %.

14. То же при дозе 100 эрг/см^2.

15. То же при дозе 125 эрг/см^2.

16. Выживаемость после действия хлора (концентрация остаточного хлора 0,5 мг/л), %.

17. То же при концентрации 0,1 мг/л.

18. То же при концентрации 0,02 мг/л.

19. Уровень чувствительности к пенициллину — зона угнетения роста, мм.

20. То же к новобиоцину.

21. То же к стрептомицину.

22. То же к мономицину.

23. То же к канамицину.

24. То же к неомицину.

25. То же к левомицетину.

26. То же к тетрациклину.

27. То же к эритромицину.

28. То же к полимиксину М.

29. То же клонов к колицину В, стерильная зона, мм.

30. То же к колицину D.

31. То же к колицину Е.

32. То же к колицину J.

33. То же к колицину I.

34. То же к колицину F.

35. То же клонов к колицину К.

Окружность характеризует на графике свойства популяции, обитающей в речной воде, а точка пересечения каждого

радиуса с окружностью отражает 100 %-ное значение соответствующего признака группы. Отложив по обе стороны от окружности при соблюдении масштаба значения $\pm m$ каждого признака «речной» субпопуляции, получаем график, отражающий уровень ее неоднородности по всем перечисленным признакам. Далее, откладывая на соответствующих радиусах (и их продолжениях) в том же масштабе значения тех же признаков, характеризующих другую группу клонов, получаем графический полигон, отражающий количественное соотношение всех анализируемых маркеров генофонда второй группы в сравнении с фоновой группой, обитающей в речной воде, и т. д.

Для изучения структуры взаимосвязей внутри комплекса признаков группы и отделения существенных связей от несущественных использован один из способов многофакторного анализа — метод корреляционных плеяд [66, 80—82, 187]. Последовательность выделения плеяд заключалась в следующем. Вычисляли попарные коэффициенты корреляции между генетическими признаками внутри каждой группы клонов. Формула расчета коэффициента корреляции для пары признаков x и y (количественные значения которых $x_1, x_2, \ldots x_n$; $y_1, y_2, \ldots y_n$) представляла собой отношение суммы произведения отклонений от среднего значения x и y к извлеченному из квадратного корня значению произведения суммы квадратов отклонений от средних значений:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^{n} (x_i - M_x)(y_i - M_y)}{\sqrt{\sum_{i=1}^{n} (x_i - M_x)^2 \sum_{i=1}^{n} (y_i - M_y)^2}}.$$

Уровень значимости коэффициента корреляции t_r определялся как отношение произведения коэффициента корреляции на извлеченное из корня значение степеней свободы к извлеченному из корня значению разности единицы и квадрата коэффициента корреляции:

$$t_r = \frac{r\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}.$$

Число связей было равно $N(N-1)/2$, где N — число признаков. Расчеты проводили с помощью ЭВМ. Коэффициенты корреляции выводили на печать в виде матриц взаимосвязей, в которых их располагали в соответствии с абсолютным значением (от $+1{,}0$ к $-1{,}0$). Программа расчета коэффициентов корреляции и пересортировки матрицы в соответствии с абсолютным значением коэффициентов приведена в «Приложении». При выделении плеяд принимали во внимание лишь достоверные связи ($r/m_r \nless 2{,}0$). Коэффициенты корреляции, достоверность которых была доказана, сводили в вариационные

ряды, разбитые на классы по величине коэффициента корреляции. Затем строили кривые распределения частот модулей коэффициентов корреляции.

Следующий этап биометрического анализа — определение структуры взаимосвязей между генетическими признаками исследуемых клонов и выделение группы признаков, связанных на определенном корреляционном уровне, т. е. корреляционных плеяд. Для этого строили корреляционное кольцо, располагая генетические признаки по окружности и соединяя их линиями (хордами), если между ними имелась связь. Так как на нулевом уровне практически связаны все изучаемые признаки, в соответствии со способом подвижного уровня была введена третья координата, перпендикулярная плоскости корреляционного кольца и градуированная нарастающей снизу вверх абсолютной величиной коэффициента корреляции. Такой «корреляционный цилиндр» рассекался на разных уровнях (например, $|r| \geqslant 0{,}4$; $|r| \geqslant 0{,}5$ и т. д.), и каждое сечение представляло собой корреляционное кольцо. Выявленные плеяды «развертывали» на отдельном чертеже, избегая перекреста линий, и определяли внутреннюю структуру плеяд.

В некоторых случаях вводили упорядочение в системы рассматриваемых признаков при помощи принципа «максимального корреляционного пути» [17], позволяющего связать все n признаков системы при помощи n—1 связей так, чтобы сумма коэффициентов корреляции была максимальной.

Далее рассматриваются результаты пространственного мониторинга восьми групп клонов *E. coli*, выделенных в течение 1978—1983 гг. сотрудниками лаборатории популяционной генетики микроорганизмов Института экологии растений и животных УНЦ АН СССР (Г. А. Кочурова, Л. Н. Кожина, З. Л. Парамонова), кафедры микробиологии Пермского и Свердловского медицинских институтов (С. В. Колотвинов, Ю. Н. Маслов, Т. Л. Механошина) под общим руководством доктора медицинских наук профессора Р. А. Пшеничнова. Описаны и сопоставлены группы, изолированные на основных этапах естественного пути циркуляции этого вида — от здоровых лиц, из бытовых сточных вод, воды открытого природного водоема (источника водозабора) и питьевой водопроводной воды. В качестве экстремальных фундаментальных экологических ниш использованы воды природного биоотстойника Белоярской АЭС, промстоки крупного нефтекомплекса (с высоким содержанием химических мутагенов), организм людей, перенесших острые кишечные заболевания (подвергнутых интенсивной химио- и антибиотикотерапии) и крупный рогатый скот в условиях стадного содержания. В целом все группы исследованы по описанной выше схеме. Редкие отклонения от нее были связаны с постепенным расширением методов применяемого анализа.

ГЛАВА 3

ХАРАКТЕРИСТИКА ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ НИШ — МЕСТ ИЗОЛЯЦИИ СУБПОПУЛЯЦИЙ

ТОЛСТЫЙ КИШЕЧНИК ЧЕЛОВЕКА

В качественном и количественном отношении стабилен кишечный биоценоз, который начинает формироваться в первые часы жизни ребенка. Однако на первом году жизни его качественный состав зависит от способа вскармливания. В последующем видовой состав кишечной микрофлоры стабилизируется. В ее составе обнаружено более 260 видов микроорганизмов при концентрации их до 250 млрд. в 1 г испражнений. За сутки человек выделяет примерно 17×10^{12} микробов, что составляет около 1/3 сухой массы испражнений. В норме около 95—99 % поддающихся культивированию бактерий — анаэробы. Основными представителями анаэробной фекальной микрофлоры являются бактероиды (Bacteroides) и бифидобактерии (Bifidobacterium): соответственно 10^5—10^{12} и 10^8—10^{10} клеток/г испражнений. На долю факультативно анаэробной микрофлоры приходится около 1—4 %: кишечная палочка — 10^6—10^9, энтерококк (*Streptococcus faecalis*) — 10^3—10^9, лактобациллы (*Lactobacillus*) — до 10^{10} бактериальных клеток в 1 г испражнений. Менее 0,01—0,001 % составляет так называемая остаточная микрофлора. К ней относятся коагулазонегативные и коагулазопозитивные стафилококки, различные виды стрептококков (в том числе и *Streptococcus pyogenes*), бактерии рода *Clostridium*, *Proteus*, синегнойная палочка, дрожжеподобные грибки, вирусы, фаги, некоторые виды простейших и т. д.

Нормальная микрофлора играет важную роль в жизнедеятельности человеческого организма. Несомненно значение эубиотической микрофлоры как фактора защиты макроорганизма от бактериальных кишечных инфекций, стимулятора формирования различных клеточных и гуморальных факторов иммунитета. Микрофлора кишечника, участвуя в утилизации трудноперевариваемых компонентов пищи, синтезирует различные вещества, которые используются макроорганизмом: широкий набор экзоферментов бактерий, витамины К, B_2, B_6, B_{12}, пантотеновая и фолиевая кислоты, различные аминокислоты.

Микрофлора в кишечнике распределена неравномерно. Желудок и тонкий кишечник (преимущественно верхний его отдел)

практически стерильны. Это связано с высокой кислотностью желудочного сока, неблагоприятным воздействием ферментов на микроорганизм. Наиболее обильная микрофлора развивается в толстом кишечнике, где процессы пищеварения практически завершены и преобладают процессы обратного всасывания. Здесь всасывается до 95 % воды, глюкоза, а также витамины и аминокислоты, синтезируемые кишечной микрофлорой.

Характеризуя толстый кишечник человека как фундаментальную экологическую нишу, следует отметить, что по сравнению с другими отделами он имеет все необходимое для трофики микробов. Здесь поддерживаются постоянная температура, pH, оптимальные для развития микрофлоры (и в частности кишечной палочки). Однако кишечник человека не всегда является средой, благоприятной для размножения микроорганизмов. Беспрепятственному росту микробов мешают антагонистические взаимоотношения между их различными видами (выработка бактериоцинов и метаболитов, конкуренция из-за субстрата, изменения свойств среды в процессе метаболизма и т. д.). Неблагоприятное воздействие на микробы может оказывать сам человеческий организм. Бактерицидными свойствами, способностью задерживать рост многих видов бактерий обладает желчь. Слизистая кишечника постоянно секретирует различные вещества, являющиеся защитными факторами макроорганизма, например иммуноглобулины класса А. Большое влияние на качественный и количественный состав кишечной микрофлоры оказывают такие факторы, как режим питания и качественный состав пищи, производственные и бытовые интоксикации, прием различных лекарственных препаратов, транзиторная микрофлора кишечника.

Кроме того, некоторые пищевые продукты могут обладать самостоятельной мутагенной активностью, либо она свойственна их метаболитам [59, 60]. Большая часть ксентобиотиков, по крайней мере частично, инактивируется печенью с последующей экскрецией метаболитов с током желчи. Поэтому можно считать, что кишечная микрофлора подвергается прямому или опосредованному действию практически всех неблагоприятных факторов внешней среды макроорганизма.

Транзиторная микрофлора может угнетать рост постоянной микрофлоры кишечника за счет собственной антагонистической активности и приводить к генетическим перестройкам в результате рекомбинативного обмена клеточных ДНК.

Таким образом, человеческий организм является многофакторной открытой системой и практически каждый из факторов может влиять на состояние кишечной микрофлоры, поэтому дать унифицированное описание человеческого организма как среды обитания кишечной палочки — трудная задача.

Чтобы свести к минимуму влияние неблагоприятных факторов внешней среды на человеческий организм, а следовательно,

и их опосредованное действие на кишечную палочку, отбор клонов производили от здоровых людей, относящихся к так называемым «режимным» группам, т. е. практически здоровых работников торговли и предприятий общественного питания, проходивших обследование на отсутствие носительства патогенных бактерий кишечной группы. С целью получения репрезентативной выборки для снижения возможного влияния каких-либо индивидуальных особенностей была отобрана достаточно большая группа клонов (более 200, от каждого человека — не более 3—4). В последующем для детального изучения было отобрано 50 наиболее типичных клонов кишечной палочки.

ОРГАНИЗМ ЛЮДЕЙ, ПЕРЕНЕСШИХ ОСТРЫЕ КИШЕЧНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Кишечный биоценоз сформировался в процессе эволюции в результате отбора наиболее приспособленных к существованию в организме хозяина видов микроорганизмов. Качественные и количественные характеристики этого биоценоза при обычных условиях относительно постоянны.

Серьезные изменения в структуре кишечного биоценоза происходят при проникновении в него патогенной микрофлоры. Воздействие на виды, составляющие биоценоз, происходит за счет размножения, антагонистической активности возбудителей острых кишечных заболеваний (ОКЗ) и адекватного изменения среды обитания. Между патогенными микроорганизмами и представителями нормальной микрофлоры могут происходить генетические рекомбинации (преимущественно коньюгативным путем), что также оказывает влияние на структуру популяций отдельных видов. При развитии патогенной микрофлоры в кишечнике человека часто проводится химио- и антибиотикотерапия, которая является эффективным фактором искусственного отбора.

Таким образом, на субпопуляции кишечной палочки, обитающие в кишечнике реконвалесцентов, переболевших ОКЗ, оказывают влияние следующие факторы: угнетающее действие патогенной микрофлоры; селективное воздействие химиопрепаратов, используемых для лечения больных ОКЗ; изменение среды обитания как результат инфекции, нарушения режима питания и пищеварения при болезни.

С целью изучения субпопуляции кишечной палочки, обитающей в организме реконвалесцентов, мы произвели отбор больных из специализированных отделений 1-й Пермской городской инфекционной больницы и городской больницы № 12 г. Перми, составили краткий анамнез заболевания, проанализировали истории болезни (результаты бактериологического диагноза, примененные средства лечения).

В течение года отобрали около 50 лиц, основную часть ко-

торых составили больные бактериальной дизентерией (возбудитель — вид *Shigella flexneri*). Проводимая терапия чаще заключалась в использовании антибиотиков (мономицин), сульфаниламидов (сульгин) и эубиотиков (энтероседин). Клоны выделяли в период реконвалесценции по общей схеме.

СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ ЖИВОТНЫЕ

Кишечник сельскохозяйственных животных является естественной, стабильной и относительно благоприятной средой развития *E. coli*. Подробное качественное и количественное описание микробиоценозов разных видов сельскохозяйственных животных приведено в монографии С. С. Каратай [35]. Однако постоянное потребление растительной пищи накладывает отпечаток на состав кишечного содержимого и создает менее благоприятные, чем в организме человека, условия для размножения и накопления кишечной палочки, концентрация которой в экскрементах животных меньше, чем у людей. Вместе с тем вывоз органики на поля, как и летний выпас животных, обеспечивают массовую диссеминацию этого микроба в природе, что позволяет рассматривать сельскохозяйственных животных как важное и постоянное звено в естественной цепи циркуляции вида.

Клоны выделяли из экскрементов стада коров тагильской породы в Кунгурском районе Пермской области. Численность стада около 120 голов, содержание зимой — стойловое, летом — свободный выпас. Кормление обычное, в пищевом рационе не использовались продукты и отходы витаминной и антибиотической промышленности. В период изоляции клонов эпизоотий не зарегистрировано, антибиотики не давали. Из экскрементов животных в течение месяца было выделено около 250 клонов и после типирования отобрано для подробного изучения 50 характерных клонов.

БЫТОВЫЕ СТОЧНЫЕ ВОДЫ

Бытовые (хозяйственно-фекальные) сточные воды, образующиеся при использовании населением воды для различных бытовых и хозяйственных нужд, отличаются относительным однообразием состава и стабильностью свойств. Клоны выделяли из Гайвинского коллектора г. Перми. В период взятия проб вода обладала следующими свойствами: цвет — серый, pH 6,5, хлоридов — 79,8 мг/л, азота нитратов нет, нитритов — 0,04 мг/л, азота аммонийных солей — 40 мг/л, общая жесткость — 7,2 мг·экв/л, щелочность — 5,8 мг·экв/л, фенола — 0,15 мг/л, превышения α, γ-активности над фоном нет, общая β-активность $1{,}8 \cdot 10^{11}$ Ки/л, содержание индикаторного мутагена бенз(а)пирена 0,003 мкг/л. Вода не обладала бактерицидностью и мутагенным действием на индикаторные штаммы ТА 1535 и ТА 1539 $\pm$ *S*9. В момент

взятия проб коли-титр 0,00004, микробное число 70 000. В целом эту ФЭН можно характеризовать как стабильную по составу, солевую с примесью органики среду, не обладающую выраженным бактерицидным и мутагенным действием и вполне обеспечивающую переживание и эстафетную передачу вида в смежные ФЭН.

ОТКРЫТЫЙ ПРОТОЧНЫЙ ВОДОЕМ — р. СЫЛВА

Сылва — левый приток р. Чусовой на западном склоне Среднего Урала. Общая площадь бассейна 22 480 км², длина около 600 км. Русло очень извилистое, долина в верхнем течении узкая и глубокая, к низовью расширяется и имеет широкую пойму. Крупные ее притоки — Барда и Шаква (справа), Вогулка и Ирень (слева). Протекает в зоне преобладания дерново-подзолистых, суглинистых и серых лесостепных почв. Растительный покров составляет таежные леса с преобладанием хвойных пород, лиственные, преимущественно березовые леса, кунгурская лесостепь. Вскрывается Сылва во второй половине апреля, замерзает в ноябре. Питание реки смешанное, с преобладанием снегового. В летние и осенние месяцы питается преимущественно за счет дождевых, а также подземных вод, особенно в местах развития карста. Модуль стока составляет 3—5 л/с с 1 км². Солевой состав воды в верхнем и среднем течении гидрокарбонатно-кальциевый, в нижнем — сульфатно-гидрокарбонатно-кальциевый. Минерализация вод в среднем и нижнем течении достигает 500—1000 мг/л.

В ряде зон подземные воды испытывают антропогенное загрязнение. Ввиду отсутствия в бассейне реки крупных промышленных центров (кроме г. Кунгура) загрязнение вод сводится в основном к агрохимическому, связанному с внесением в почву минеральных, органических удобрений, что и приводит к периодическому появлению в воде ионов аммония, а также нитратов и нитритов. Могут присутствовать и хлориды. На берегу реки расположены десятки мелких деревень и поселков, сезонных пионерских лагерей, летних ферм, часть стоков которых без предварительной очистки с талыми и дождевыми водами поступает в реку. В среднем и нижнем течении река судоходна, в последние годы сплав леса не проводится.

Клоны *E. coli* выделяли в среднем течении реки, в створе биостанции Отдела экологии и генетики микроорганизмов (ОЭГМ), расположенной в Кылосовском сельсовете Кунгурского района в 30 км ниже по течению от г. Кунгура. В месте отбора ширина реки около 60 м, правый берег крутой глинистый, левый — пологий песчаный, переходящий в заливные луга, скорость течения 3—5 м/мин. Выше по течению на расстоянии 1,5—2,5 км расположены пионерские лагеря «Урал» и «Зеленый остров», летняя ферма колхоза «Кунгурский» на 100—200 голов крупного рогатого скота. Отбор проб, изоляция клонов и

их идентификация проведены в июле 1979 г. с использованием полевой санбаклаборатории. Описание состава и свойств воды выполнено по данным Камской бассейновой СЭС, а также 56 периодических анализов речной воды в створе с. Троица (нижнее течение реки), выполненных в 1979—1983 гг. Пермским центром по изучению и контролю загрязнения окружающей среды, и сезонных анализов воды в створе биостанции ОЭГМ — в зоне изоляции клонов, проведенных лабораториями Пермской областной СЭС.

Показатель	ГОСТ	Единица измерения	Колебания
Запах	3351-74	Баллы при 20 °С	0—1
Прозрачность	3351-74	См	19—30
Мутность	3351-74	По стандартной шкале, мг/л	2,5—3,0
Осадок	3351-74	Обычно единичные хлопья светло-коричневого цвета, осадок песчаный, весной — глинисто-песчаный	
Окраска	3351-74	Как правило, неокрашенная, в весенний период — светло-бежевая	
Плавающих примесей	3351-74	Как правило, нет	
pH	3351-74	Единицы pH	7,4—8,25
Аммиак	4192-48	мг/л	Не обн.
Азот нитритов	4192-48	мг/л	0—0,002
Азот нитратов	18826-73	мг/л	0—033—0,5
Аммонийные соли	18826-73	мг/л	Около 0,5
Общая жесткость	4151-72	мг/экв	8,2—9,8
Сухой остаток	18164-72	мг/л	580—920
Хлориды	4245-72	мг/л	23—30
Сульфаты	4389-72	мг/л	270—358
Железо	4011-72	мг/л	0—0,1
Медь	4388-72	мг/л	0,0025—0,036
Цинк	18293-72	мг/л	0—0,028
Олово	18293-72	мг/л	0—0,013
Свинец	18293-72	мг/л	Не обн.
Хром	18293-72	мг/л	То же
Уран	23950-80	мг/л	0,072—0,3
Фтор	4386-81	мг/л	0,3—0,66
Марганец	4974-72	мг/л	0,058—0,1
Молибден	18308-72	мг/л	Не обн.
Мышьяк	4152-81	мг/л	То же
Никель		мг/л	»
Щелочность		мг/экв	4—5
Бикарбонаты		мг/л	260—281
Кальций		мг/л	124—164
Магний		мг/л	19—24
Фосфор общий		мг/л	0,04—0,06
Натрий+калий		По разнице мг/экв	30—76
Фенол			Не обн.
Нефтепродукты		мг/л	0,043—0,16
Хлорорганические пестициды		В период определений отсутствовали	

Показатель	ГОСТ	Единица измерения	Колебания
Фосфорорганические пестициды		То же	
Окисляемость		мг/л	2,5—7,72
Растворенный кислород		мг/л	60,21—11,8
БПК5		мг/л	1,9—2,6
ХПК		мг/л	17—34
Коли-индекс	2478-73	*E. coli*/мл	28 100—130 000
Микробное число	2478-73	бакт/мл	До 2 500 000
Индикаторный непрямой химический мутаген-бенз(а) — пирен		мкг/л	0,025—0,035
Радиоактивность α, β, γ, теплые нейтроны	РУП	Превышение над фоном	Не обн.
Суммарная мутагенная активность на сальмонеллезной тест-системе		Кратность превышения над спонтанным мутагенезом	Не обн.

Таким образом, состав воды имеет характерные сезонные колебания. В ней преобладают сульфатные и кальциевые ионы. Содержание солей тяжелых металлов и микроэлементов незначительно. В воде достаточно кислорода, органических веществ мало, что обеспечивает полноту процессов самоочищения. В районе изоляции клонов проявляются процессы нитрификации, но они не завершаются и частично задерживаются на уровне образования нитритов. Содержание индикаторного мутагена бенз(а)-пирена относительно невелико и стабильно, суммарная мутагенная активность не превышает спонтанного фона; за годы наблюдений радиоактивность существенно не повышалась. Согласно ГОСТу 17.1.3.07-77 «Охрана природы. Гидросфера. Правила выбора и оценки качества источников централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения» и «Правилам охраны поверхностных вод от загрязнения сточными водами» (1974), р. Сылву в месте изоляции клонов можно отнести к числу относительно стабильных по составу, достаточно чистых — фоновых открытых водоемов, пригодных для водоснабжения.

ВОДОПРОВОДНАЯ ВОДА

Водопроводная вода может быть этапом в миграции кишечной палочки, непосредственно следующим за речной водой, поскольку в качестве источников водоснабжения в основном используются открытые водоемы, и в частности реки.

Речную воду, как правило, не используют для централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения без предварительного улучшения ее свойств и обеззараживания на очистных сооружениях водопроводных станций. Обычно очистка воды

преследует такие задачи: освобождение от взвешенных веществ и коллоидных примесей для улучшения ее органолептических свойств (в первую очередь, прозрачности и цветности) и обеспечение безопасности воды в эпидемиологическом отношении. Для этого используется ряд приемов: коагулирование, фильтрование воды и ее обеззараживание. В результате вода освобождается от органических и неорганических веществ — питательных субстратов для микроорганизмов, что делает ее средой, малопригодной для сохранения и размножения микробов, которые частично элиминируются из воды вместе со взвешенными и коллоидными частицами на различных этапах очистки (коагуляция, отстаивание, фильтрация).

Обработка воды препаратами хлора приводит к гибели подавляющего большинства микробов, а создаваемая концентрация непрореагированного, так называемого остаточного, хлора препятствует размножению сохранившихся и проникающих в воду во время транспортировки по системе водопроводных труб микроорганизмов.

Однако водопроводная вода практически не бывает стерильной, в ней постоянно присутствует определенное количество микроорганизмов, предельно допустимое содержание которых регламентирует ГОСТ 2874-82. Согласно этим требованиям, водопроводная вода считается удовлетворительной по качеству, если общее число микроорганизмов, способных расти на мясопептонном агаре в аэробных условиях при 37 °С, не превышает 100 клеток/мл, а количество кишечной палочки в 1 л воды (коли-индекс) не превышает трех. По различным данным, в процессе обработки водопроводной воды общее микробное число и коли-индекс никогда не снижаются на 100 % и колеблются в пределах 90—99 %. Причин, которые приводят к сохранению микроорганизмов в водопроводной воде, можно назвать несколько.

Прежде всего, при коагуляции воды вследствие осаждения большого количества органических примесей создаются благоприятные условия для размножения в осадках микроорганизмов. Предварительное хлорирование, проводимое до обработки воды коагулянтами с целью более глубокого осветления, способствует отбору наиболее устойчивых к хлору форм бактерий. В отстойниках водопроводных станций кишечная палочка интенсивно размножается и ее удельный вес в микрофлоре осадков составляет 1/15 часть, или 6,7 %. Периодически размножившиеся микроорганизмы захватываются проходящей через отстойники водой, что вызывает резкое повышение показателей бактериального обсеменения воды.

Кроме того, часть микроорганизмов проходит через все этапы очистки воды и сохраняет жизнедеятельность после обработки воды хлором. Это может быть связано либо с высокой резистентностью особи к хлору, либо с ее защищенностью от

действия бактерицидного агента (например, в случае нахождения микроба внутри коллоидной частицы). Кишечная палочка по сравнению с другими грамнегативными бактериями имеет высокие показатели устойчивости к активному хлору, что способствует ее длительному выживанию в водопроводной воде. По различным данным, выживаемость части энтеробактерий в водопроводной воде колеблется от 28 до 262 дней.

Наконец, микроорганизмы могут проникать в водопроводную воду в результате неправильного устройства и эксплуатации водопроводной сети, загрязнения в сборных резервуарах, при нарушениях процесса очистки и обеззараживания.

Своеобразие водопроводной воды как фундаментальной экологической ниши, помимо ее выраженной бактерицидности и отсутствия в ней достаточного количества питательных веществ, состоит в том, что присутствующие в ней вещества могут обладать мутагенной активностью, усиливающейся после хлорирования.

В нашей работе выделению клонов кишечной палочки из данной экологической ниши сопутствовало проведение химического анализа водопроводной воды: цветность — 20 град, запах хлора — 1 балл, прозрачность — 30 см, pH — 5,68, остаточный хлор — 0,12 мг/л, окисляемость — 4,29 мг/л, азот аммиака — 0,04 мг/л, азот нитритов и нитратов не обнаружен, общая жесткость — 2,5 мг·экв/л, сухой остаток — 313 мг/л, хлориды — 79,17 мг/л, сульфаты — 63,37 мг/л, железо — 0,55 мг/л, магний — 48,6 мг/л, медь — 0,017 мг/л, свинец — 0,040 мг/л, цинк и магранец не обнаружены, содержание 3,4 — бенз(а)пирена составляло 0,004 мг/л, коли-индекс 3, общее микробное число 93.

Таким образом, водопроводная вода соответствовала санитарно-гигиеническим требованиям практически по всем показателям; лишь содержание железа и свинца оказалось несколько повышенным (допустимая концентрация железа 0,3 мг/л, свинца 0,03 мг/л).

ПРОМСТОКИ НЕФТЕПЕРЕРАБАТЫВАЮЩЕГО КОМПЛЕКСА

Группу клонов *E. coli* выделяли из промстоков одного из крупных нефтеперерабатывающих комплексов, который объединяет расположенные на общей промплощадке нефтепереребатывающее предприятие, асфальто-битумный и газоперерабатывающий заводы, ТЭЦ. Из общей системы промстоков с очисткой на решетках, сетках, песколовках, вертикальных отстойниках, установках аэрации разбавленные стоки регулируемо спускаются в открытый проточный водоем. Учитывая, что бытовые стоки являются постоянным, хотя и не доминирующим компонентом общего стока, изучение его состава и выделение клонов проводили из частично очищенных вод.

Сточная вода не имела выраженной окраски и не содержала плавающих примесей, имела резкий запах нефтепродуктов,

Таблица 3.1

Уровень бенз(а)пирена и суммарной мутагенной активности промстоков нефтехимкомплекса

Источник стоков	Уровень бенз(а)пирена, мкг/л	Суммарная мутагенная активность *
Битумная установка	240	39,1
Установка 36/10	1,6	3,0
Установка термического крекинга	13	12,3
Установка АВТ-1	0,15	0
Вход в очистные сооружения	0,57	2
Сброс очистных сооружений	0,1	0

* Определяется по отношению показателей активности опытного образца к спонтанному фону.

исчезающий при разбавлении 1 : 300 (2 балла). Прозрачность натуральных вод не менялась после двухчасового отстаивания и равнялась 3 см. Концентрация взвешенных веществ в натуральных водах при 105—110 °С — 86 мг/л, при прокаливании — 40 мг/л, органики — 46 мг/л. Сухой остаток вод — 1036 мг/л при 105—110 °С, при прокаливании — 822 мг/л, органики — 214 мг/л. Титруемая щелочность — 4,2 мг/экв, pH — 7,45. Окисляемость — 127,5 мг O_2/л воды при кипячении; $ХПК_5$ — 695 мг/л. Суммарное содержание нефтепродуктов — 695 мг/л. В стоках присутствовали, мг/л: сульфаты — 254, HCO_3 — 256,2, кальций — 104,2, магний — 46,2, железо — 1,5, марганец — 0,27, уран —0,072.

Обращает на себя внимание высокое содержание в промстоках нефтепродуктов. Учитывая постоянное присутствие в них полициклических ароматических углеводородов (ПАУ), большая часть которых обладает выраженным мутагенным эффектом и может влиять на генофонд популяций, дополнительно определяли уровни индикаторного мутагена — бенз(а)пирена и суммарную активность химических мутагенов стоков, используя микробные тест-системы. Эти исследования были выполнены одновременно с изоляцией клонов, и результаты их приведены в табл. 3.1.

Относительно высокое содержание бенз(а)пирена в стоках большинства установок, мутагенная активность ряда локальных стоков и вод очистных сооружений в целом позволяют считать, что коли-бактерии в течение значительного времени были подвержены действию химических мутагенов. Отсутствие линейной зависимости между содержанием бенз(а)пирена и выявляемой на сальмонеллезной тест-системе суммарной мутагенной активностью стоков, возможно, объясняется присутствием в них разного типа химических мутагенов прямого и опосредованного действия. Контроль промстоков на радиоактивность не выявил

Таблица 3.2

Содержание и коэффициенты распределения (КР) ^{90}Sr и ^{137}Cs в донных отложениях

Место взятия пробы	Тип донных отложений	^{90}Sr		^{137}Cs	
		нКи/кг сухой массы	КР	нКи/кг сухой массы	КР
Сбросной канал	Песок	0,50±0,11	55	353±21	2521
	Ил	7,17±0,97	796	750±84	5357
Место перехода сбросного канала в Ольховское болото	Ил	12,92±5,03	1845	252±29	2100
Ольховское болото у левого берега	Ил	0,60±0,16	600	20±6	182
	Торф	0,59±0,10	590	27±10	245
Ольховское болото у правого берега	Ил	3,66±1,15	1830	194±47	3233
	Торф	2,16±0,40	1080	152±80	2533
Исток р. Ольховки	Песок	0,60±0,03	120	262±42	1389
	Ил	2,04±0,20	408	803±343	4226

Таблица 3.3

Распределение радионуклидов по глубине донных отложений, нКи/кг

Тип отложений	Глубина, см	^{90}Sr	^{137}Cs
Ил	0—10	8,00±1,15	1484±572
	10—40	4,23±1,01	494±133
	40—70	1,33±0,20	394±293
	0—5	2,06±0,25	166±26
Торф	5—10	2,83±0,97	133±10
	10—15	2,01±0,49	153±10
	15—20	1,74±0,40	158±9

Таблица 3.4

Содержание радионуклидов в воде и грунте, отн. ед.

Место взятия образца	^{90}Sr			^{137}Cs		
	Вода	Песок	Ил	Вода	Песок	Ил
Сбросной канал . . .	1	1	1	1	1	1
Место перехода сбросного канала в Ольховское болото . .	0,78	—	1,80	1,85	—	0,33
Исток р. Ольховки .	0,55	1,20	0,28	1,40	0,77	1,07

увеличения α-, γ-излучения, потока теплых нейтронов; β-активность осадка, полученного при выпаривании одного литра воды, превышала фон на 61 имп./мин. Следовательно, можно полагать, что доминирует влияние химических мутагенов на генофонд клеток.

Все это позволяет рассматривать промстоки данного типа как малоблагоприятную среду переживания.

ВОДОЕМ-ОТСТОЙНИК АЭС

Природные популяции кишечной палочки, из которых впоследствии были получены клоны для изучения, выделяли из отстойника (водоема-охладителя) Белоярской АЭС (Средний Урал), в качестве которого используется Ольховское болото, расположенное в 5 км от АЭС. В Ольховское болото в течение нескольких лет наряду с постоянным сбросом хозфекальных стоков пос. Заречный через искусственно прорытый канализационный канал проводится контролируемый сброс дебалансных промышленных вод Белоярской АЭС. Пробы этой воды отбирали в стерильные флаконы с глубины 10—15 см. Химический анализ пула проб воды из Ольховского болота проведен в Свердловской городской санитарно-эпидемиологической станции: цветность — 45 град; запах — болотный, 3 балла, осадок значительный, темно-бурый, хлопьевидный; прозрачность по шрифту Снеллена — 30; pH — 7,7; щелочность по метилоранжу — 2,7 мг/экв; жесткость общая — 2,8 мг/экв, карбонатная — 2,7 мг/экв; некарбонатная — 0,1 мг/экв;окисляемость по Кубелю — 14,46 мг/л; азот аммиака солевого — 12,0 мг/л; нитритов — 0,16, нитратов — 1,0 мг/л; железо общее — 0,25 мг/л; медь, цинк и марганец не обнаружены.

Для более полной характеристики отстойника АЭС как экологической ниши приводим данные, полученные И. В. Молчановой с соавторами [50] при изучении распределения ^{90}Sr и ^{137}Cs по компонентам болотно-речной экосистемы, включающей Ольховское болото (табл. 3.2, 3.3, 3.4).

В целом Ольховское болото можно рассматривать как антропогенно измененную фундаментальную экологическую нишу, среду со своеобразным физико-химическим составом и повышенным уровнем радиации, влияющими на физиологические свойства, генофонд локальных микробных субпопуляций, среду длительного переживания и миграции кишечной палочки в смежные экологические ниши.

ГЛАВА 4

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Накопленная и частично приведенная в картограммах информация (см. рис. 3—10)[1], отражающая первый (пространственный) этап мониторинга природных популяций *E. coli*, не только сравнительно велика по объему, но и уникальна, так как впервые с конкретной целью и по определенной программе был собран материал, характеризующий гетерогенность природных популяций этого вида на этапах естественной циркуляции и в экстремальных условиях существования. Из восьми фундаментальных экологических ниш были изъяты репрезентативные группы клонов, и каждая из них описана по большому числу экологически значимых, генетически детерминированных и фенетически количественно выраженных признаков. Общее число «бит» информации, даже без учета характеристик физико-химических параметров сред обитания, составляло около 28 000. Этого достаточно для формулировки предварительных заключений, большего числа предположений, построения ряда обоснованных рассуждений о формировании взаимосвязанных и взаимозависимых признаков (плеяд) в разных условиях обитания, для обоснования целесообразности использования данного микробного вида как индикаторного в общей системе биологического мониторинга окружающей среды и создания рациональной схемы слежения за его изменением в антропогенно меняющихся условиях обитания.

Хотя по литературным данным число генов в ДНК *E. coli* не превышает 3000, что на один — два порядка меньше, чем у более высокоорганизованных представителей биомы, описано значительное разнообразие особей в составе природных популяций этого вида. Анализ накопленного фактического материала позволяет утверждать, что в составе изученных субпопуляций практически не встречались группы клонов, идентичные по фенреалиям, а следовательно, и наследственной информации. Такая высокая гетерогенность природных субпопуляций свидетельствует о их пластичности, значительных приспособительных возможностях в меняющейся среде обитания и делает их удобным, методически выгодным объектом мониторинга.

---

[1] Методы построения картограмм и сравнительного их анализа описаны во второй главе.

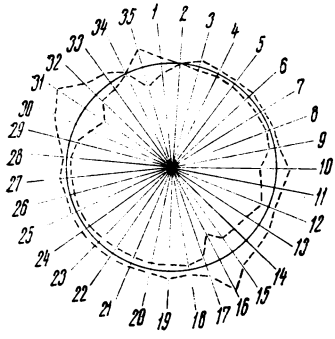


Рис. 3. Характеристика субпопуляции *E. coli*, обитающей в чистой речной воде. Пояснения см. на стр. 36.

Анализ имеющегося материала в сравнительном плане позволяет в целом высказать предположения.

1. **Субпопуляция, обитающая в организме здоровых людей**, содержала отдельные ауксотрофные варианты и процент особей с неполным набором сахаролитических свойств, чем в определенной мере отличалась от субпопуляций, изолированных из других экологических ниш. Это вряд ли можно объяснить только относительно высоким уровнем мутационных воздействий [46, 63, 64 и др.].

Логичнее считать, что спонтанно возникающие формы могут сохраняться и размножаться в полноценной среде. Сказанное подтверждается минимальным содержанием и даже отсутствием ауксотрофных и дефектных по сахаролитическим свойствам вариантов в средах с количественно и качественно обедненным органическим составом — в промстоках, в открытом водоеме и водопроводной воде. Это подтверждают также высокие скорости роста всех выделенных клонов в адекватной среде — МПБ и короткий срок достижения максимальной плотности. После достижения максимальной плотности относительно быстро проявляли себя специфические и неспецифические факторы саморегуляции численности [65], и концентрация биомассы стабилизировалась. В результате $\mu_{ср.}$ за длительный срок было относительно других групп клонов низким, а $\mu_{макс.}$ — высоким. Сходная картина характерна и для развития этой группы клонов на плотной органической среде — МПА. Характерная реакция клонов наблюдалась при переносе микроорганизмов в минимальную синтетическую среду М-9 жидкой и плотной консистенции, где быстрота репликации и достигаемая плотность были невысокими, а иногда и минимальными в сравнении с аналогичными показателями клонов из других ФЭН.

В целом можно утверждать, что в кишечнике здоровых людей содержится большое количество особей *E. coli*, устойчивых к пенициллину, новобиоцину, эритромицину, тетрациклину, левомицетину, неомицину, стрептомицину, мономицину, канамицину, и небольшой процент особей, устойчивых к полимиксину М. Однако уровень их устойчивости был невысоким. Такая картина может быть объяснена периодическим приемом указанных антибиотиков с лечебными или профилактическими целями в прошлом и отсутствием их влияния в момент изоляции клонов от людей.

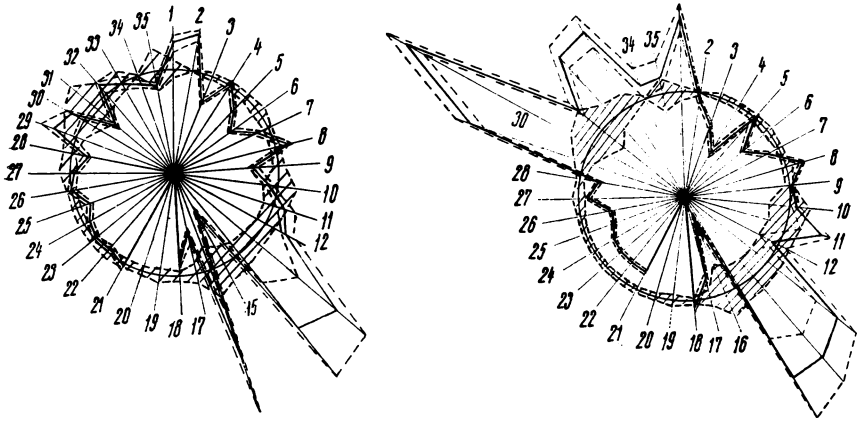


Рис. 4. Характеристика субпопуляции *E. coli*, обитающей в организме здоровых людей.

Рис. 5. Характеристика субпопуляции *E. coli*, обитающей в организме людей-реконвалесцентов.

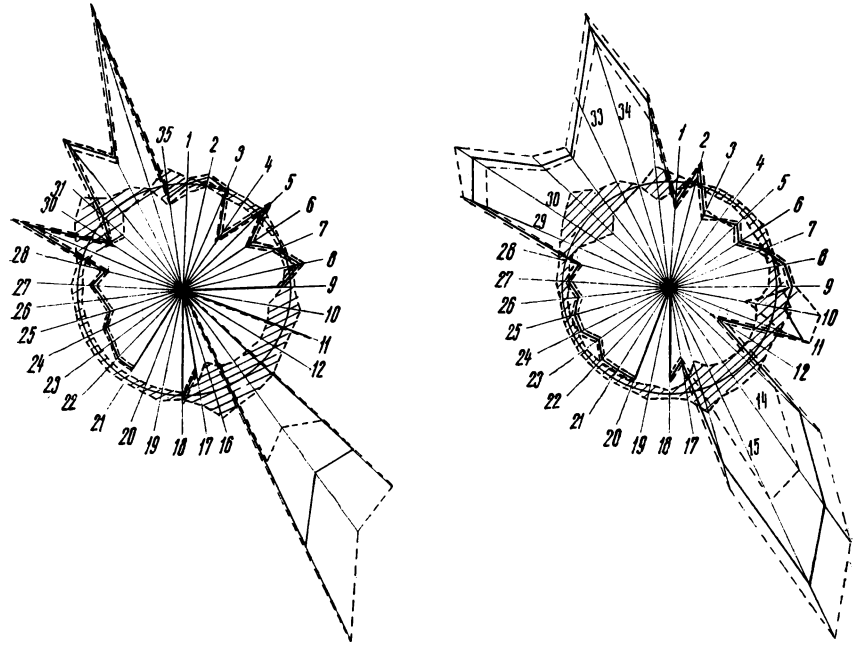
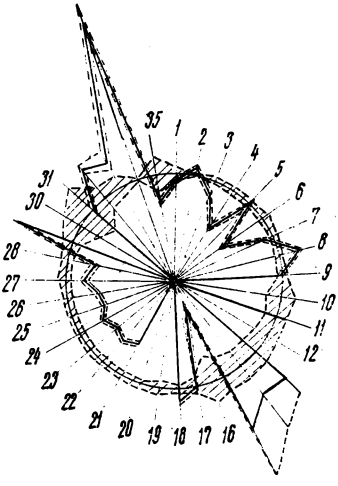


Рис. 6. Характеристика субпопуляции *E. coli*, обитающей в бытовых сточных водах.

Рис. 7. Характеристика субпопуляции *E. coli*, обитающей в водопроводной воде.



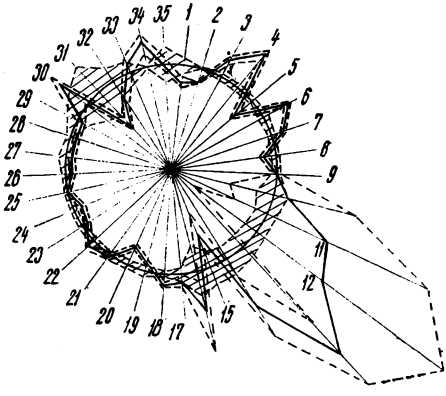


Рис. 8. Характеристика субпопуляции *E. coli*, обитающей в организме сельскохозяйственных животных.

Рис. 9. Характеристика субпопуляции *E. coli*, обитающей в сточных водах нефтехимического комбината.

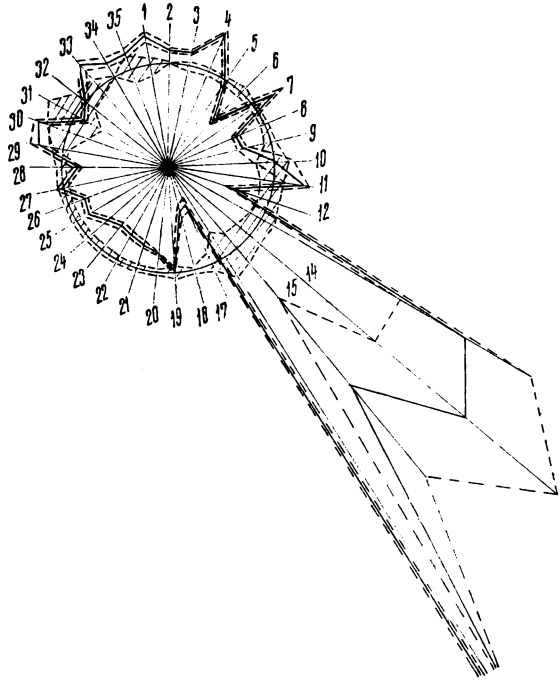
Для этой группы клонов характерно максимальное число особей с выраженным антагонизмом, и уровень их активности в отношении сопутствующей условно патогенной и болезнетворной микрофлоры был выше, чем среди клонов, изолированных из других ФЭН. Это еще раз свидетельствует о важном значении данного признака в формировании оптимального микробного пейзажа желудочно-кишечного тракта и поддержании естественной невосприимчивости к патогенной кишечной флоре.

Этой группе клонов свойственны и высокий процент колициноустойчивых вариантов, в том числе максимальное число клонов, устойчивых к колицинам B, $E + J$, средняя резистентность к действию испытанных доз УФ и активного хлора, что вполне соответствует условиям природного их обитания.

Очевидно, организм здоровых людей является природной полноценной экологической нишей для данного вида микроорганизмов, естественной средой их развития, обеспечивающей формирование и поддержание гетерогенной и фенетически высоко активной, конкурентоспособной субпопуляции.

2. **Субпопуляция, обитающая в организме лиц, перенесших острые кишечные заболевания**, включала меньшее число мутантов, не утилизирующих некоторые углеводы и многоатомные спирты. Отсутствовали в ней ауксотрофные формы. Клоны этой группы занимали первое место среди клонов исследованных групп по максимальной скорости роста, быстроте достижения максимальной плотности и концентрации биомассы в полной

Рис. 10. Характеристика субпопуляции *E. coli*, обитающей в водоеме-отстойнике АЭС.



органической среде—МПБ и второе — по величине формируемых колоний на МПА. В жидкой минимальной среде М-9 клоны обладали высокой $\mu_{макс.}$ в логарифмической фазе роста и быстро достигали максимальной плотности. Все клоны этой группы значительно уступали клонам из других ФЭН по концентрации биомассы в стационарной фазе развития в среде М-9. Субпопуляция содержала максимальный процент форм, обладающих множественной антибиотикоустойчивостью, индивидуальной резистентностью клонов к большому числу испытанных антибиотиков и, в целом, максимальным уровнем резистентности. Указанное вряд ли можно объяснить частым назначением разнообразных антибиотиков при острых кишечных заболеваниях. Ряд препаратов при заболеваниях этой этиологии не применяется. Однако исходя из возрастающего уровня плазмидной полиантибиотикорезистентности можно высказать предположение, что отбор форм, устойчивых к одному из антибиотиков, автоматически ведет и к селекции полирезистентных форм. Как правило, особи рассматриваемой субпопуляции обладали выраженной, но более низкой в сравнении с вариантами, выделенными от здоровых лиц, антагонистической активностью, определяемой как по числу клонов, обладающих этим свойством, так и по выраженности признака. Снижением общей концентрации и меньшей их антагонистической активностью после ОКЗ можно в известной степени объяснить развитие дисбактериозов и понижение барьерных функций желудочно-кишечного тракта. С этим согласуется несколько сниженная колициноустойчивость, хотя устойчивость к некоторым колицинам $J+I$, как и процент особей, резистентных к колицинам V, J, D, была максимальной среди изученных групп. Устойчивость клонов, выделенных от реконвалесцентов после ОКЗ, к УФ и активному хлору, как и следовало ожидать, была ниже средней.

Несомненно, что нарушение пищеварения, частый контакт с биологически активными ингибиторами, селективными факторами, а также нарушение микробного пейзажа в целом влияют на численность, структуру и физиологическую активность популяций *E. coli*, формируя каждый раз своеобразный микробиоценоз с характерной структурой и численностью субпопуляций.

3. **Среди клонов, выделенных из бытовых сточных вод**, не выявлено ауксотрофов; концентрация «дефектных» форм по способности утилизировать те или иные углеводы, спирты была невысокой (5 клонов из 50). По основным репродуктивным признакам — времени генерации, $\mu_{макс.}$, времени достижения максимальной плотности, концентрации биомассы, экономическому коэффициенту развития на жидких и плотных органических и минимальных средах варианты уступали формам, выделенным от здоровых лиц, реконвалесцентов, и занимали, как правило, среднее положение среди восьми исследованных групп клонов. Форм с множественной антибиотикоустойчивостью было меньше, чем среди клонов, выделенных от здоровых лиц и реконвалесцентов. Указанная закономерность особенно проявлялась в снижении процента клонов, устойчивых к эритромицину, мономицину, канамицину, стрептомицину, неомицину, тетрациклину, и в меньшей мере — в отношении полимиксина М, эритромицина, левомицетина. Можно предположить, что отсутствие антибиотиков в среде обитания ведет к прекращению отбора устойчивых вариантов, а ее своеобразный физико-химический состав способствует элиминации плазмид и вариантов, в которых накопленный генный груз не реализуется, а лишь отрицательно влияет на репликативные свойства клеток. По сравнению с первыми двумя группами клонов особи, выделяемые из бытовых сточных вод, часто обладали пониженной антагонистической активностью. Это проявлялось в резком снижении числа вариантов, активных в отношении Shigella Sonnei № 1775, Shigella Flexneri № 337 и в уменьшении уровня их антагонизма, что, возможно, объясняется теми же причинами, что и падение антибиотикорезистентности.

По сравнению с предыдущими в этой ФЭН выявлено максимальное число вариантов *E. coli*, резистентных к колицинам *F*, *J*+*I*, S_5, чуть меньше к *V*, S_3+*I*, *B* и минимальное — к колицинам *D* и *K*. По уровню резистентности, от высокой к малой, клоны формировали следующий нисходящий ряд: $S_3 + I > S_3 > J > K > V > B > E > F$.

В бытовых сточных водах преобладали клоны с выраженной устойчивостью к УФ облучению и действию активного хлора. Скорее всего, своеобразие генофонда субпопуляции *E. coli* в бытовых сточных водах определяется постоянным притоком колиформ, характерных для организма людей, и селективным влиянием состава стоков.

4. **Субпопуляция, обитающая в чистой речной воде.** Речная

вода неблагоприятна для размножения кишечной палочки, особенно ее мутантных вариантов, нуждающихся для своего роста в различных органических соединениях. Поэтому можно было ожидать, что в речной воде, которая содержит небольшое количество примесей (911 мг/л), будут находиться лишь биохимически полноценные варианты кишечной палочки. Однако полученные экспериментальные данные не подтвердили этих предположений. Хотя большинство клонов, действительно, обладало характерными для вида *E. coli* сахаролитическими свойствами, среди изученных 50 клонов восемь были дефектные, утратившие типичные для кишечной палочки сахаролитические свойства; семь клонов не утилизировали ксилозу, а один клон утратил способность расщеплять арабинозу.

Среди выделенных из речной воды клонов доля чувствительных к колицинам составляла (для различных колицинов) от 50 до 10 %. Для клонов была характерна невысокая степень чувствительности: средний радиус зоны угнетения роста колебался от 2,50 до 2,60 мм. Причем большинство из них было чувствительно к действию одного — двух колицинов, и лишь шесть клонов были чувствительны к действию 3—5 колицинов. Абсолютно резистентны ко всем колицинам 13 клонов.

Полученные данные свидетельствуют о том, что для популяции, обитающей в речной воде, характерна очень четко выраженная гетерогенность по антибиотикоустойчивости. Из 50 изученных клонов не было двух одинаковых по чувствительности к антибиотикам, два клона оказались чувствительными ко всем 10 препаратам, но большинство клонов обладало резистентностью к одному-двум либо к трем антибиотикам. Это вполне объяснимо, так как популяция находится в среде, в которой практически не сказывается селективное влияние антибиотиков.

Антагонистической активностью обладали 34 клона, причем 1/3 (11) — по отношению к двум и более штаммам индикаторных бактерий. Наиболее часто клоны кишечной палочки обнаруживали антагонистическую активность по отношению к шигеллам: *Shigella Sonnei* № 1775 (9 клонов), *Shigella Flexneri* № 170 (17), *Shigella Flexneri* № 337 (25).

По отношению к индикаторному штамму стафилококка и энтеропатогенной кишечной палочки антагонистами оказались пять клонов, а к штаммам протея угнетающего действия не проявил ни один штамм. Антагонистическая активность по отношению ко всем индикаторным штаммам была умеренной: средняя зона угнетения роста колебалась от 8,20 до 12,64 мм.

Изучение динамики роста клонов на полноценной жидкой среде также выявило широкую неоднородность клонов по времени генерации, максимальной плотности культуры и времени ее достижения. При этом характер неоднородности клонов по первому и третьему признакам отклонялся от гармонического — преобладали клоны, имевшие более продолжительное время

генерации и позже достигавшие максимальной плотности культуры. Возможно, это связано с особенностью речной воды как среды обитания: кишечная палочка в воде является переживающим микробом, и в таких условиях, естественно, должны дольше сохраняться клоны с меньшими темпами роста. Средние показатели составляли: время генерации 31,70 ± 0,20 мин, максимальная плотность культуры 0,65 ± 0,01 ед. опт. пл., время достижения максимальной плотности 13,33 ± 0,26 ч.

При изучении показателей роста клонов, выделенных из речной воды, на минимальной жидкой среде М-9 оказалось, что неоднородность клонов по времени генерации и срокам достижения максимальной плотности вполне укладывается в рамки гармонического распределения. Наибольшая гетерогенность отмечена по признаку максимальной плотности культуры — колебания плотности составляли от 0,97 до 2,25, т. е. почти в 2,5 раза. Средние показатели составили: время генерации 57,8 ± 0,70 мин, максимальная плотность культуры 1,48 ± ± 0,06 ед. опт. пл., время достижения максимальной плотности 8,19 ± 0,16 ч.

По устойчивости клонов *E. coli* к воздействию УФО популяция чрезвычайно неоднородна. В зависимости от дозы УФО колебания цифровых значений сохранивших жизнеспособность форм были следующие: для дозы 75 эрг/см^2 — от 0,03 до 25,3 %; 100 эрг/см^2 — от 0 до 10,4 %; 125 эрг/см^2 — от 0 до 4,9 %. Средние показатели по группе составили соответственно 4,71 ± 0,68, 1,95 ± 0,34 и 0,95 ± 0,19 %.

Полученные результаты, на наш взгляд, являются закономерными. Действительно, в популяции, не подвергающейся воздействию УФО, не происходит селекции резистентных особей, и структура популяции по данному признаку должна соответствовать наблюдаемой. Такого рода гетерогенность с точки зрения экологии выгодна, так как расширяет приспособительные возможности популяции.

Для субпопуляции кишечной палочки, обитающей в чистой речной воде, характерна широкая гетерогенность устойчивости к активному хлору (% выживших клеток): для дозы 43,3 мкг — от 0 до 4,36; 8,66 мкг — от 0,68 до 100; 1,75 мкг — от 24,1 до 100. Средние показатели составили соответственно 0,50 ± 0,15, 71,57 ± 4,94 и 85,54 ± 2,87 %.

5. **Характеристика субпопуляции кишечной палочки, обитающей в водопроводной воде.** Среди клонов, выделенных из этой ФЭН, не выявлены ауксотрофные варианты, которые должны подвергаться эффективной элиминации в данной среде с непостоянным и низким содержанием органических веществ. Биохимическая активность клонов в целом типична для вида: все они разлагали глюкозу, лактозу, мальтозу, арабинозу, ксилозу, маннит с образованием кислоты и газа. Из 50 исследованных клонов 42 сохранили способность утилизировать сорбит, 40 —

рамнозу и 35 — сахарозу. Лишь наличием в среде иных энергоподающих веществ можно объяснить присутствие дефектных форм в популяциях.

В жидкой органической питательной среде МПБ выделенные клоны обладали следующими показателями: время одной генерации ($M \pm m$) — 33,82 ± 1,26 мин, максимальная плотность культур — 0,52 ± 0,2 ед. опт. пл., время ее достижения — 6,70 ± 0,12 ч. Данная группа клонов по выраженности перечисленных признаков занимает среди восьми исследованных групп соответственно, 6, 3 и 3-е места. Как правило, большей потенцией к размножению в этих условиях обладали клоны, выделенные от здоровых лиц, реконвалесцентов и из бытовых сточных вод. Подобная картина характерна и для развития клонов на плотном варианте среды — МПА, где диаметр формируемых к 72-му часу колоний составлял 7,35 ± 0,15 мм, что меньше, чем у вариантов, выделенных от здоровых лиц, реконвалесцентов, сельскохозяйственных животных, из бытовых сточных вод, и больше, чем у клонов, изолированных из промстоков.

Определенное сходство состава водопроводной воды и солевых синтетических сред нашло свое отражение в высокой потенции к развитию выделенных клонов в среде М-9, где время одной генерации составило для этой группы клонов 48,07 ± ± 0,07 мин, максимальная плотность культур — 1,16 ± 0,02 ед. опт. пл. и срок ее достижения 7,12 ± 0,17 ч. По выраженности указанных признаков клоны, изолированные из водопроводной воды, занимали среди восьми исследованных групп соответственно 2, 3 и 1-е места. На плотном варианте среды М-9 выделенные из водопроводной воды клоны формировали к 72-му часу развития наиболее крупные (из всех исследованных групп) колонии диаметром 4,97 ± 0,13 мм. Таким образом, есть основания считать характерным свойством этой группы клонов интенсивное развитие в жидких и плотных солевых средах.

Другой отличительный признак — малая резистентность к антибиотикам. Так, из 50 исследованных клонов лишь три были устойчивы к четырем антибиотикам, 16 — к трем, 25 — к двум и шесть — к одному, т. е. полирезистентность для них менее характерна, чем для клонов, выделенных от реконвалесцентов, здоровых лиц, сельскохозяйственных животных и из бытовых сточных вод. По уровню чувствительности ко всем испытанным антибиотикам эти клоны также занимали одно из первых мест среди восьми исследованных групп. Диаметр зоны угнетения стандартными дисками, пропитанными новобиоцином, эритромицином, полимиксином М, тетрациклином, левомицетином, стрептомицином, мономицином, канамицином, составил соответственно 13,3 ± 0,56; 12,74 ± 0,45; 13,35 ± 0,40; 18,46 ± 0,54; 19,26 ± 0,54; 16,78 ± 0,38; 19,36 ± 0,45; 17,80 ± 0,33 и 18,76 ± ± 0,47 мм. Это можно объяснить отсутствием специфического селективного влияния, возможной элиминацией плазмидных фак-

торов под действием условий среды и преимущественным размножением или сохранением особей, имеющих минимальный генный груз, не реализуемый в данных условиях обитания.

Видимо, подобными причинами можно объяснить и довольно высокую по сравнению с клонами, выделенными от реконвалесцентов, здоровых лиц и из бытовых сточных вод, чувствительность к большинству испытанных колицинов. Так, из 50 испытанных клонов 28, 41, 27, 28, 21, 37, 27, 25, 32-й были чувствительны к колицинам *B*, *K*, *E* + *J*, *V*, *D*, *F*, *J* + *I*, $S_3 + I$, S_5, и уровень чувствительности, определенный стандартным методом отсроченного антагонизма по диаметру зон угнетения роста, составил соответственно 5,59 ± 0,28; 5,44 ± 0,24; 6,13 ± 0,33; 7,45 ± ± 0,31; 5,34 ± 0,24; 6,38 ± 0,49; 5,35 ± 0,29; 5,80 ± 0,20; 5,00 ± ± 0,49 и 5,11 ± 0,25 мм.

Высокую чувствительность к колицинам иногда связывают с утратой состояния «иммунитета», обусловленного соответствующими плазмидами. Если это так, то мы вправе ожидать и снижения антагонистической активности клонов в отношении близкородственных сопутствующих бактерий. Действительно, при проверке антагонистической активности клонов, выделенных из водопроводной воды, в отношении шести индикаторных видов патогенных и условно патогенных кишечных бактерий лишь 38 клонов угнетали рост Shigella Flexneri № 170, пять — Shigella Flexneri № 337, два — Shigella Sonnei № 1775, формируя зоны угнетения, соответственно равные 11,32 ± 1,28; 4,20 ± 0,97 и 11,00 ± 4,00 мм, и ни один из 50 клонов не влиял на развитие Proteus mirabilis, Proteus vulgaris, Staphylococcus aureus, Escheria coli 026.

В заключение отметим, что устойчивость исследуемых клонов к действию средних и больших доз УФО была выше средней среди восьми испытанных групп, а чувствительность к активному хлору в концентрации, применяемой для хлорирования, такой же, как у клонов, выделенных из открытых водоемов. Последнее можно объяснить лишь общетоксическим действием хлора и отсутствием соответствующих хромосомных генов, плазмидных факторов, обусловливающих в популяциях отбор по этому признаку.

6. **Общая характеристика субпопуляций кишечной палочки, обитающей в кишечнике сельскохозяйственных животных.** Среди 50 выделенных и идентифицированных по системе ТИМАЦ клонов выявлено два ауксотрофных варианта, что свидетельствует о наличии в среде их обитания соответствующих аминокислот и отсутствии жесткого отбора по этому признаку. Большинство клонов имело типичные для вида сахаролитические свойства, и только шесть клонов не разлагали до кислоты и газа рамнозу или сахарозу.

В жидкой органической питательной среде — МПБ выделенные клоны находили достаточно оптимальные условия для раз-

вития, и рост их характеризовался следующими показателями: время одной генерации — 33,18 ± 0,3 мин, максимальная плотность культур — 0,53±0,008 ед. опт. пл., среднее время ее достижения — 7,26 ± 0,15 ч. По этим показателям клоны занимали 5-е место среди восьми исследованных групп, уступая вариантам, выделенным от здоровых и переболевших лиц, из бытовых сточных вод и воды открытого водоема, но опережая их по темпам репликации на агаризованном варианте среды — МПА, где к 72-му часу развития исследуемая группа клонов формировала колонии диаметром 8,26 ± 1,8 мм.

Как и следовало ожидать, перенос клеток из богатой органической среды (содержимое кишечника) в минимальную синтетическую жидкую глюкозо-солевую среду М-9 вел к снижению репликативных свойств бактерий. Здесь развитие клонов характеризовалось следующими показателями: время одной генерации 59,25 ± 0,83 мин, максимальная плотность культур — 0,73 ± 0,006 ед. опт. пл., время ее достижения — 7,88 ± 0,11 ч. По этим показателям они занимали 5—8-е места из восьми групп клонов, выделенных от разных ФЭН. Сходные результаты получены и при посеве на агаризованный вариант среды М-9, где средний диаметр колоний, формируемых к 72-му часу развития, составлял 7,88 ± 0,11 мм.

Для клонов, выделенных от сельскохозяйственных животных, характерна умеренная полиантибиотикорезистентность: лишь один из 50 клонов был устойчив к четырем, 29 — к трем, 20 — к двум из десяти испытанных антибиотиков. Вместе с тем резистентные варианты были высокоустойчивы к пенициллину, новобиоцину, в меньшей мере — к эритромицину, полимиксину М, тетрациклину, левомицетину, неомицину, стрептомицину, мономицину, канамицину. Пропитанные указанными антибиотиками диски формировали зоны угнетения, равные соответственно 11,65 ± 0,19; 12,2 ± 0,14; 15,72 ± 0,21; 14,32 ± 0,3; 13,88 ± 0,15; 16,42 ± 0,12; 15,90 ± 0,14 и 16,00 ± 0,12 мм, что меньше, чем у большинства других испытанных групп. Наличие относительно небольшого числа высокорезистентных клонов в данной субпопуляции — одно из характерных явлений, обусловленных, скорее всего, крайне редким действием этих биопрепаратов на субпопуляцию.

Зарегистрирован высокий уровень гетерогенности в чувствительности этой группы клонов к колицинам. При подавляющем числе вариантов, резистентных к колицинам *K*, *D*, S_5, до 90—98 % клонов были в той или иной мере чувствительны к действию колицинов *E*, *F*, *V*. Уровень чувствительности исследуемых клонов, определяемых по величине зоны угнетения роста индикаторными культурами, продуцирующими колицины *S*, *BB*, *K*, *J* + *I*, *V*, *J*, *D*, *F*, $S_3 + 1$, S_5, составил соответственно 5,6 ± ± 0,2; 4,64 ± 0,25; 2,25 ± 0,24; 3,5 ± 0,18; 8,04 ± 0,16; 3,9 ± 0,21; 7,0 ± 0; 5,04 ± 0,26; 4,23 ± 0,18; 3,88 ± 0,17 и 3,38 ± 0,37 мм.

Ни один из выделенных от сельскохозяйственных животных клонов не обладал выраженной антагонистической активностью в отношении индикаторных штаммов Shigella Sonnei № 1775, Shigella Flexneri № 337, Proteus mirabilis, Proieus vulgaris, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, 0—26, и лишь девять из 50 испытанных клонов подавляли рост штамма Shigella Flexneri № 170, формируя зоны угнетения 10,22 ± 0,9 мм. Однако клоны были высокочувствительны к УФО, и при облучении дозами 75, 100 и 125 эрг/см^2 количество выживших клеток соответственно 6,47 ± 1,02; 2,66 ± 0,63 и 1,5 ± 0,43 %, что меньше, чем в большинстве групп из других ФЭН.

Вместе с тем исследуемые клоны были относительно резистентны к малым концентрациям активного хлора, и после контакта с активным хлором в концентрации 8 и 40 мкг/л жизнеспособных клеток было соответственно 92,09 ± 2,7 и 72,41 ± ± 2,63 %, но лишь 0,06 ± 0,02 % при 200 мкг/л.

В целом создается представление о субпопуляции *E. coli*, характерной для организма сельскохозяйственных животных, как о сообществе клеток, высоко адаптированных к развитию в богатых органических, но не минимальных, глюкозо-солевых средах жидкой и плотной консистенции, о сообществе, неоднородном в отношении сахаролитической активности ее сочленов. В этой субпопуляции допустимо ограниченное присутствие ауксотрофных форм, уровень полиантибиотикорезистентности невысок, но резистентные формы обладают сравнительно высокой устойчивостью. Весьма выражена неоднородность по устойчивости к колицинам, антагонистическая активность к сопутствующей условно патогенной микрофлоре мала, резистентность к действию малых и средних концентраций активного хлора и чувствительность к ультрафиолетовому облучению относительно велики. Однако наше сравнительное описание колиформ в организме сельскохозяйственных животных является одним из первых [12, 135], и для формирования окончательных суждений необходимо увеличение объема информации, а также проведение периодических наблюдений (временной мониторинг).

7. **Характеристика субпопуляций, обитающих в промстоках нефтехимического комплекса.** Из ранее приведенной краткой характеристики этой ФЭН следует, что анализировалась субпопуляция *E. coli*, существующая в течение определенного, достаточно длительного срока в среде переживания, для которой характерны относительно малое содержание усвояемой органики, повышенный уровень некоторых солей, нефтепродуктов и присутствие химических потенциальных и прямых мутагенов.

Об экстремальности этой среды обитания свидетельствуют и такие факты.

1. Суммарная концентрация микроорганизмов, выявляемых при посеве в полужидкий МПА, при возрастании срока контакта с промстоками снижалась.

2. В опытах с инокуляцией эталонных — музейных и местных (выделенных из очистных сооружений) клонов *E. coli* в фильтраты промышленных стоков динамика отмирания бактерий существенно различалась, и срок гибели 50 % клеток составлял соответственно 1,5—2 ч для музейных культур и 6—7 ч для местных.

Для данной группы клонов, как и вариантов, изолированных в биоотстойниках АЭС, быстрота репликации в полной жидкой органической среде МПБ была малой. По воспроизводимой максимальной плотности (0,78 ± 0,01 и 0,76 ± 0,13 ед. опт. пл.) и времени ее достижения (19,9 ± 0,39 и 20,50 ± ± 0,40 ч) они занимали последние места среди восьми исследованных групп. Подобная картина была характерна и для развития в агаризированном варианте среды — МПА, где диаметры формируемых к 72-му часу развития колоний составляли соответственно 6,59 ± 0,11 и 5,07 ± 0,25 мм. В то же время изолированные из промстоков нефтехимического комплекса клоны энергично размножались в жидкой глюкозо-солевой среде М-9, где время одной генерации было минимальным (35,19 ± ± 0,79 мин), а достигаемая плотность — максимальной из всех описываемых групп и равнялась 1,88 ± 0,03 ед. опт. пл. Естественно, время ее достижения сдвинулось на несколько поздний срок, и период накопления составлял 9,02±0,37 ч. Соответственно размножение клонов на агаризированном варианте среды М-9 также было достаточно интенсивным, и к 72-му часу развития (срок учета) они формировали колонии диаметром 4,61 ± 0,14 мм. Можно полагать, что сказанное отражает высокий уровень адаптации клонов этой группы к описываемой конкретной среде обитания.

Есть основания утверждать, что эта среда характеризуется мутагенностью: из 50 исследованных клонов девять утратили способность утилизации одного из сахаров. Но в то же время не исключено, что некоторые из мутированных клеток, например ауксотрофы, подвергались быстрой элиминации из-за отсутствия в среде необходимых для развития свободных аминокислот и витаминов, поэтому в анализируемой субпопуляции они не были выявлены.

Нами уже высказывалось мнение, что присутствие в среде обитания ряда антропогенных загрязнений способствует элиминации из бактериальных популяций плазмидных факторов. Действительно, в изучаемой субпопуляции уровень полиантибиотикорезистентности был невысок: лишь по одному клону из 50 обладали устойчивостью к 6, 5 и 4 антибиотикам, 12 — к трем, 28 — к двум. Уровень чувствительности к пенициллину, новобиоцину, эритромицину, полимиксину М, тетрациклину, левомицетину, неомицину, стрептомицину, мономицину и канамицину, определенный стандартным методом дисков, равнялся соответственно 12,45 ± 0,58; 11,5 ± 0,5; 13,1 ± 0,25; 14,6 ± 0,36;

20,74 ± 0,37; 20,96 ± 0,24; 21,08 ± 0,34; 17,27 ± 0,26; 20,1 ± 0,26 и 22,16 ± 0,24 мм.

Естественно допустить, что влияние конкретных загрязнений на элиминацию разного типа плазмид неодинаково, и действительно, клонов, сохраняющих способность продуцировать колицины *B*, *K*, *E* + *J*, *V*, *D*, *F*, было соответственно 35, 47, 39, 40, 39, 46 и 26 из 50, а уровень устойчивости к действию эталонных штаммов, продуцирующих указанные колицины, определенный методом отсроченного антагонизма, составлял 2,67 ± ± 0,23; 3,0 ± 0,41; 2,09 ± 0,9; 3,7 ± 0,4; 2,9 ± 0,25; 3,25 ± 0,75 и 2,96 ± 0,24 мм. Исследованные клоны обладали антагонистической активностью в отношении трех из семи индикаторных видов патогенных кишечных бактерий: пять — к Shigella Sonnei № 1775, четыре — к Shigella Flexneri № 170, два — к Shigella, Flexneri № 337, но их ингибирующее влияние было максимальным среди восьми изученных групп клонов, и размер зоны угнетения роста составлял соответственно 11,2 ± 6,09; 13,25 ± 8,32 и 21,0 ± 19,0 мм.

Клоны, выделенные из промстоков нефтекомплекса, отличались сравнительно высокой устойчивостью к действию малых и средних доз активного хлора и средней резистентностью ко всем испытанным дозам ультрафиолета (75, 100 и 125 эрг/см^2).

Насколько нам известно, это первое описание структуры субпопуляций *E. coli*, обитающих в промстоках такого типа предприятий, поэтому полученные результаты не могут быть сопоставлены с литературными данными. Необходимы дополнительные и повторные исследования, чтобы дать заключение о степени специфичности наблюдаемых изменений и прогностической ценности таких описаний.

8. **Общая характеристика субпопуляций E. coli в биоотстойниках АЭС.** Согласно приведенному ранее описанию этой ФЭН, соответствующая субпопуляция *E. coli* подвержена действию относительно повышенной радиации и существует в среде переживания со своеобразным физико-химическим составом. Отразилось ли это на формировании субпопуляции со структурой, отличной от ранее описанных?

Исследование сахаролитических свойств выделенных клонов выявило среди них значительное число вариантов, дефектных по способности утилизировать тот или иной углевод. Общее число мутантных форм составило 18 из 50, большинство из них утратило способность усваивать рамнозу, сахарозу, дульцит. Сравнительно высокая численность таких форм в субпопуляции одновременно свидетельствует об отсутствии естественного отбора и элиминации мутантных форм в конкретной среде обитания.

Можно полагать, что относительно высокий радиационный фон формировал и другие дефекты полигенных признаков. В частности, снизилась быстрота репликации клеток в полной

органической среде — МПБ, где время одной генерации клонов этой группы равнялось 37,0 ± 0,12 мин, максимальная плотность культур 0,76 ± 0,13 ед. опт. пл. и время ее достижения 20,5 ± 0,4 ч. По этим показателям изучаемая субпопуляция отошла на 7—8-е место среди восьми исследованных групп. Подобная ситуация сохранялась и при развитии клонов в жидкой минимальной среде М-9: среднее время одной генерации клонов было значительным — 53,99 ± 1,46 мин, плотность культур минимальной — 0,81 ± 0,02 ед. опт. пл., а время ее достижения максимальным — 10,06 ± 0,3 ч. Замедленное размножение характерно и для развития клонов на плотных средах — МПА и агаризированной среде М-9: средние диаметры колоний, формируемых к 72-му часу наблюдений, были соответственно равны 5,08 ± 0,25 и 3,33 ± 0,19 мм, т. е. были наименьшими для всех исследованных групп. Однонаправленное выраженное изменение всех перечисленных выше признаков вряд ли случайно и скорее свидетельствует о мутационных поражениях группы генов, определяющих репродукционные свойства бактериальных клеток как в богатых органических, так и минимальных глюкозо-солевых средах жидкой и плотной консистенции.

В то же время эти своеобразные условия обитания, очевидно, не вели к элиминации и снижению функциональной активности плазмидного компонента генотипа, ответственного за полиантибиотикорезистентность и уровень устойчивости к испытанным антибиотикам. Так, из 50 клонов два были резистентны к восьми, 8 — к пяти, 15 — к четырем, 17 — к трем, 6 — к двум и два клона к одному антибиотику. Уровень чувствительности клонов к новобиоцину, эритромицину, полимиксину М, тетрациклину, левомицетину, неомицину, стрептомицину, мономицину, канамицину был средним среди восьми исследованных групп и составлял соответственно 12,75±0,58; 11,0±0,01; 13,11± ± 0,48; 18,19 ± 0,28; 18,15 ± 0,44; 13,75 ± 0,29; 16,35 ± 0,28; 16,88 ± 0,28 и 16,04 ± 0,3 мм.

Высказанное предположение правомерно и в отношении плазмид колициногенности, так как количество колицинорезистентных клонов в субпопуляции было сравнительно высоким и составляло 28, 44, 42, 27, 33, 44 и 19 клонов из 50 в отношении колицинов *B*, *K*, *E*, *V*, *I*, *D*, *F*, а уровень чувствительности остальных равнялся соответственно 3,56 ± 0,23; 3,53 ± 0,17; 3,29 ± 0,11; 3,50 ± 0,15; 3,50 ± 0,15; 3,35 ± 0,12 и 3,35 ± 0,15 мм.

Сказанное подтверждает и сравнительно высокая антагонистическая активность этой группы клонов. Она установлена у части клонов в отношении сопутствующих бактерий дизентерийной группы: 17 клонов из 50 угнетали рост штамма Shigella Flexneri № 170, 9 — Shigella Flexneri № 337, 6 — Shigella Sonnei № 1775; степень ингибирования, определенная методом поперечных штрихов, соответственно равнялась 10,94 ± 1,34; 7,67 ± 1,8 и 9,83 ± 2,21 мм.

Не исключено, что возросшее мутационное давление и селективное влияние среды стали причиной максимальной среди всех изученных групп устойчивости к действию малых и средних доз ультрафиолетового облучения: количество клеток, сохранивших жизнеспособность при дозах облучения 75 и 100 эрг/см^2, составляло 15,14 ± 3,16 и 7,31 ± 2,18 %. В то же время резистентность клонов к действию малых и средних доз активного хлора была минимальной среди всех исследованных групп — соответственно 27,25±4,47 и 17,34±3,71 %.

В заключение следует отметить несомненное своеобразие описываемой группы. Изолированная из антропогенно измененной среды обитания, в значительной мере подверженная действию радиации и отбору под влиянием физико-химических факторов среды субпопуляция характеризовалась замедленными темпами репликации в органических и минимальных жидких и плотных средах. Сохраняя и успешно реализуя генетические детерминанты антибиотикоустойчивости, колициноустойчивости, антагонизма и резистентности к УФО, клоны существенно (в сравнении с остальными группами) утратили резистентность к малым и средним дозам активного хлора, содержали высокий процент атипичных по сахаролитическим свойствам форм. И хотя в целом их свойства не выходят за границы видовой характеристики, адаптивные изменения генофонда субпопуляции достаточно выражены.

ГЛАВА 5

БИОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВЗАИМОСВЯЗИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ

Пространственный этап построения системы биологического мониторинга предполагает изучение исходной гетерогенности природных популяций. Однако исследования в этом направлении имеют своей целью не только изучение генетических признаков, но и анализ структуры взаимосвязей внутри комплекса признаков, отделение существенных связей от несущественных. Использование различных методов анализа многофакторных связей позволяет провести такую работу при условии выбора метода, наиболее соответствующего специфике исследования.

Цель нашего исследования — испытание избранного метода анализа (метод корреляционных плеяд), определение различий в структуре взаимосвязей генетических признаков природных популяций кишечной палочки и использование полученных данных для выявления наиболее лабильных («индикаторных») признаков и связей, а в дальнейшем и для построения системы генетического мониторинга бактериальной популяции.

ГРУППЫ КЛОНОВ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ЧИСТОЙ ПРОТОЧНОЙ ВОДЫ И ПРОМЫШЛЕННЫХ СТОКОВ (I И II)

Для анализа были взяты следующие признаки:[2] **1** — количество антибиотиков, к которым выявлена резистентность; **2**, **3**, **4** — время одной генерации, максимальная плотность культуры, время достижения максимальной при культивировании на полноценных питательных средах (МПА, МПБ); **5**, **6**, **7** — то же, что и **2**, **3**, **4**, но при культивировании на минимальной среде (М-9); **8**, **9** — диаметр колоний через 72 ч после посева на МПА и среду М-9; **10**, **11**, **12** — антагонистическая активность по отношению к шигеллам Зонне и шигеллам Флекснера (тестерные штаммы № 170 и 337); **13**, **14**, **15** — чувствительность к ультрафиолетовому облучению (75, 100 и 125 эрг/см^2); **16**, **17**, **18** — чувствительность к активному хлору (три дозы); **19**, **20** **21**, **22**, **23**, **24**, **25**, **26**, **27**, **28** — резистентность к пенициллину, новобиоцину, стрептомицину, канамицину, неомицину, левомицетину,

[2] В связи с тем, что качественный и количественный набор маркеров у разных групп клонов отличался (хотя и незначительно), мы будем приводить полный перечень маркеров в каждом конкретном случае.

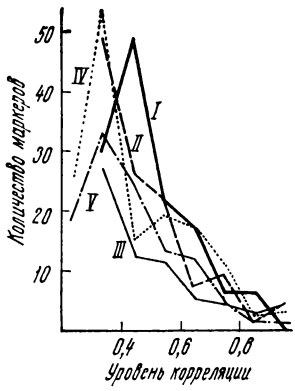


Рис. 11. Распределение модулей коэффициентов корреляции по группам клонов (I—V).

тетрациклину, эритромицину, полимиксину *M*; **29, 30, 31, 32, 33, 34, 35** — величина колоний колициногенных штаммов; **36, 37, 38, 39, 40, 41, 42** — чувствительность к колицинам *B, D, E+I, F, J, K, V*.

Сравнение полученных кривых распределения частот модулей коэффициентов корреляции (рис. 11) позволяет сделать заключение о существовании определенных различий в корреляционных взаимоотношениях между признаками внутри каждой из исследуемых групп бактериальных клонов (о чем свидетельствует изломанность одной из кривых по отношению к другой) и, следовательно, о существовании различий в генетической структуре популяций *E. coli*, выделенных из чистой проточной воды и из промышленных стоков.

Построение корреляционных колец было начато с уровня $|r| \geqslant 0{,}4$ (рис. 12), так как на более низких (и на более высоких — для обратных связей) уровнях располагалось огромное количество связей (больше 1000), которые в большинстве были статистически недостоверными. Уже на этом уровне наметились явные различия в генетической структуре I и II групп клонов, однако взаимосвязей было слишком много для того, чтобы легко ориентироваться в них (рис. 12, *а*, *б*). Поэтому выделение корреляционных плеяд начали с уровня $|r| \geqslant 0{,}5$, ориентируясь на соответствующее сечение корреляционного цилиндра (рис. 12, *в*, *г*). Каждая из выделенных плеяд была «развернута» на отдельном чертеже таким образом, чтобы избежать по возможности перекреста линий (рис. 13).

Сравнение общей структуры взаимосвязей между генетическими признаками природных популяций кишечной палочки и структуры корреляционных плеяд внутри каждой изучаемой группы клонов показало, что наряду с общими чертами, присущими этим клонам в силу принадлежности к одному биологическому виду, имеются и значительные различия, являющиеся показателем экобиотической дивергенции.

Например, на корреляционном уровне $|r| \geqslant 0{,}5$, наряду с существованием плеяд сходного состава (антагонистическая активность по отношению к некоторым шигеллам, резистентность к отдельным антибиотикам, чувствительность к колицинам и др.), сходных межплеядных связей (плеяда устойчивости к УФО — плеяда чувствительности к колицинам), между клонами I и II групп выделяется четкое основное различие: у клонов II груп-

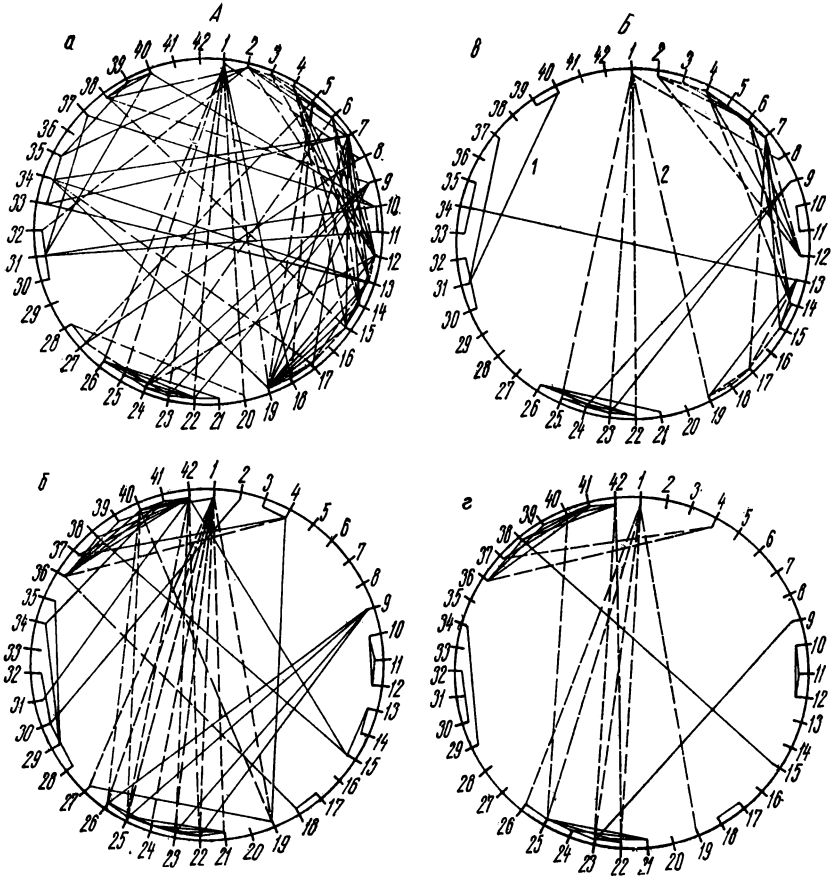


Рис. 12. Корреляционное кольцо на уровне $r \geqslant 0{,}4$ (*А*) и $r \geqslant 0{,}5$ (*Б*) для I (*а, в*) и II (*б, г*) групп клонов.

Здесь и далее: *1* — прямая связь; *2* — обратная связь.

пы отсутствуют связи между признаками, которые характеризуют репродукционные свойства (время одной генерации, максимальная плотность культуры, время достижения максимальной плотности). В I группе клонов эти признаки связаны как между собой, так и с рядом других плеяд. Следует также отметить наличие у II группы клонов связей между плеядами резистентности к антибиотикам и чувствительности к колицинам (на уровнях $|r| \geqslant 0{,}4$ и 0,5) при их отсутствии у клонов I группы. Возможно, этот факт указывает на своеобразную «мобилизацию» факторов резистентности у клонов II группы, выделенных из промышленных стоков и вынужденных приспособиться к существованию в среде с высоким содержанием биологически актив-

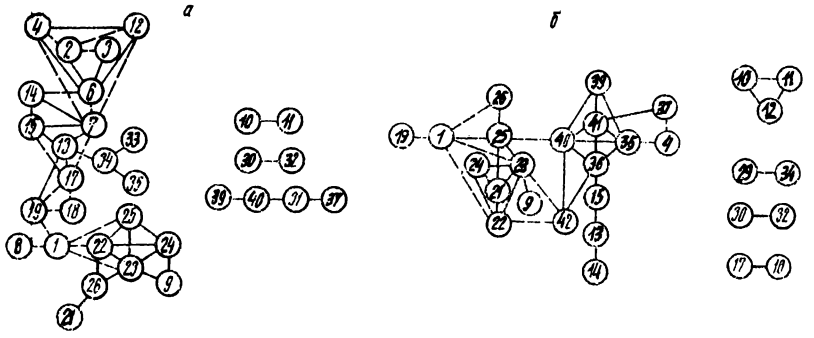


Рис. 13. Структура корреляционных плеяд на уровне $r \geqslant 0{,}5$ для I (*а*) и II (*б*) групп клонов.

ных веществ. Внутренняя структура плеяд, система взаимосвязей между признаками, составляющими плеяды, также существенно различаются у клонов I и II групп.

На следующем уровне $|r| \geqslant 0{,}6$ (рис. 14, 15) из-за выпадения части связей картина становится более простой, но в то же время сохраняются закономерности, выявленные на предыдущем уровне: у клонов I группы четко выделяется плеяда признаков, характеризующих репродукционные свойства (2—6—4—7), связанная с антагонистическими свойствами (12), с плеядой устойчивости к УФО (13—15—14), а через нее — с плеядой, характеризующей устойчивость к активному хлору (17—18). Во II группе клонов на данном уровне обнаружены не связанные между собой плеяды, характеризующие устойчивость к УФО (14—13—15), антагонистическую активность (10—11—12), устойчивость к активному хлору (17—18), антибиотикорезистентность (21—22—23—24) и чувствительность к колицинам (36—41—39—40—42—38).

Интересно, что у обеих групп клонов плеяды антибиотикорезистентности имеют одинаковое «ядро» из связанных между собой признаков, отражающих устойчивость к группе антибиотиков-аминогликозидов: мономицину (22), канамицину (23) и неомицину (24). Возможно, это свидетельствует о том, что за продукцию фермента, обеспечивающего устойчивость бактерий к названной группе антибиотиков, отвечает одна и та же генетическая структура (плазмида). Обращает на себя внимание также и то, что признак устойчивости к пенициллину (19) у I группы клонов обнаруживает связь с устойчивостью к хлору, а на предыдущих уровнях — и с устойчивостью к УФО, и с признаками, характеризующими репродукционные свойства (5, 7, 8, 9). Объяснить эту связь однозначно не представляется возможным (физическая интеграция плазмиды, отвечающей за синтез пенициллазы, в геном клетки? функциональная интегра-

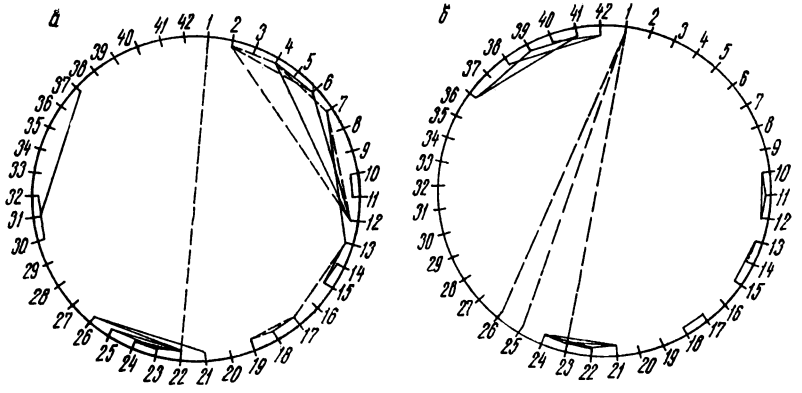
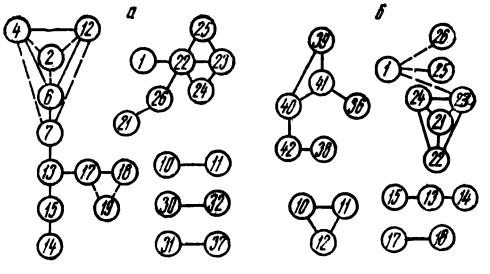


Рис. 14. Корреляционное кольцо на уровне $r \geqslant 0{,}6$ для I (*а*) и II (*б*) групп клонов.

Рис. 15. Структура корреляционных плеяд на уровне $r \geqslant 0{,}6$ для I (*а*) и II (*б*) групп клонов.



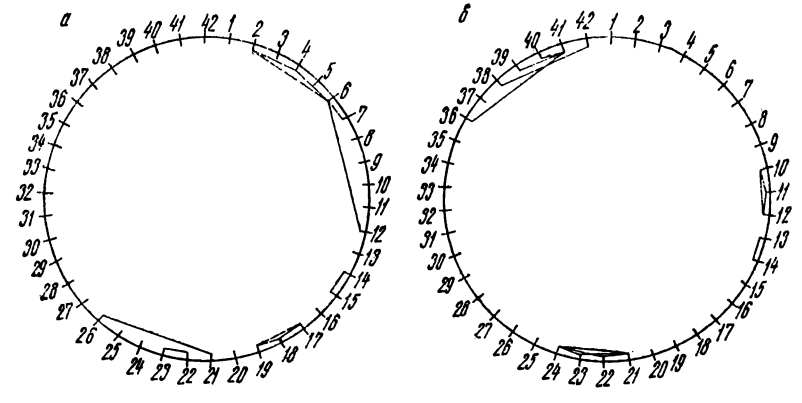


Рис. 16. Корреляционное кольцо на уровне $r \geqslant 0{,}7$ для I (*а*) и II (*б*) групп клонов.

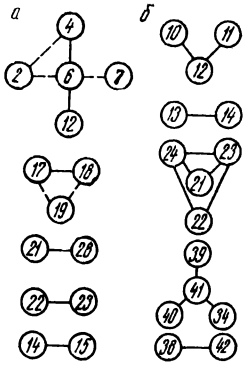


Рис. 17. Структура корреляционных плеяд на уровне $r \geqslant 0{,}7$ для I (*а*) и II (*б*) групп клонов.

ция с участками генома, контролирующими различные биохимические функции?).

На следующем уровне — $|r| \geqslant 0{,}7$ — опять у клонов II группы выявляются плеяды, характеризующие антагонистическую активность, устойчивость к УФО, антибиотикам, колицинам, при отсутствии взаимосвязей между признаками, характеризующими репродукционные свойства, которые обнаружены у I группы. Структура плеяд резистентности к различным физическим и химическим факторам у клонов I и II группы также различается (рис. 16, 17).

В целом результаты биометрического анализа свидетельствуют о большей независимости отдельных комплексов генетических признаков (корреляционных плеяд) в популяции кишечной палочки, выделенной из промышленных стоков, по сравнению с популяцией, выделенной из чистой проточной воды. Этот факт указывает на выраженную функциональную интеграцию участков генома у клонов, выделенных из чистой проточной воды, и на повышение относительной роли внутренних факторов развития у группы клонов, выделенных из промышленных стоков, в результате чего эти клоны становятся менее зависимыми по отношению к действию факторов внешней среды.

ГРУППА КЛОНОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ (III)

Принята следующая нумерация признаков: **1** — количество антибиотиков, к которым обнаружена резистентность; **2, 3, 4** — время одной генерации, максимальная плотность культуры, время достижения максимальной плотности на полноценной питательной среде; **5, 6, 7** — те же признаки, определенные при культивировании на минимальной среде М-9; **8, 9** — диаметр колоний через 72 ч после посева на МПА и на агаризированную среду М-9; **10, 11, 12** — антагонистическая активность по отношению к шигеллам Зонне (тестерный штамм № 1775) и Флекснера (тестерные штаммы № 170 и 337); **13, 14, 15** — чувствительность к УФО (75, 100 и 125 эрг/см^2); **16, 17, 18** — чувствительность к активному хлору (три дозы); **19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28** — чувствительность к пенициллину, новобиоцину, стрептомицину, мономицину, канамицину, неомицину, левомицетину, тетрациклину, эритромицину, полимиксину М; **29, 30, 31, 32, 33, 34, 35** — чувствительность к колицинам *B*, *D*, *E*+*I*, *F*, *J*, *V*, *K*; **36** — экономический коэффициент.

Таблица 5.1

Изменения коэффициента гомогенности (E)

Группа клонов	Значения коэффициента корреляции (уровень)								
	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0
I	—	1,0	0,763	0,389	0,221	0,092	0,046	0	0
II	—	1,0	0,585	0,364	0,178	0,119	0,042	0,034	0
III	—	1,0	0,585	0,4	0,231	0,154	0,092	0,062	0
IV	1,0	0,826	0,458	0,364	0,222	0,104	0,035	0,021	0
V	1,0	0,822	0,514	0,289	0,168	0,056	0,019	0,0095	0
VI	1,0	0,977	0,419	0,198	0,116	0,058	0,047	0,012	0
VII	1,0	0,864	0,596	0,296	0,089	0,028	0,09	0,005	0
VIII	1,0	0,883	0,405	0,262	0,119	0,060	0,036	0	

Прежде всего следует отметить «бедность» взаимосвязей между генетическими маркерами исследуемой группы клонов. Если число достоверных связей на уровне $|r| \geqslant 0{,}3$ между маркерами I группы клонов составляло 131, у II группы — 118, то у исследуемой III группы оно примерно вдвое меньше (65).

Сравнение полученных кривых распределения модулей коэффициентов корреляции для I, II и III групп клонов позволяет отметить выраженное отличие в корреляционных взаимоотношениях между маркерами сравниваемых групп клонов, что свидетельствует о существовании различий в генетической структуре изучаемых популяций *E. coli*. Изменения коэффициента гомогенности[3] (E) по мере повышения корреляционного уровня в принципе сходны у всех трех групп клонов, однако имеются и определенные различия (табл. 5.1). Так, у клонов II и III групп значения E наиболее резко падают на корреляционном уровне $0{,}3 \leqslant |r| \leqslant 0{,}4$, что отражает большую обособленность корреляционных плеяд у этих групп клонов. Вместе с тем наиболее высокий уровень, на котором выявляются связи между генетическими маркерами клонов I группы, составляет $|r| < 0{,}9$, тогда как у клонов II и III групп имеются связи, лежащие выше этого уровня.

С учетом малого числа достоверных связей, выявленных у III группы клонов, построение корреляционных колец начали с уровня $|r| \geqslant 0{,}3$, что позволило оценить общую структуру взаимосвязей (рис. 18). Сравнение данного корреляционного кольца с аналогичными для клонов I и II групп на уровне $|r| \geqslant 0{,}4$ (такое сравнение имело смысл, так как позволило оценить структуру примерно одинакового количества связей) показало, что плеяды III группы занимают как бы промежуточное положе-

[3] Коэффициент гомогенности — отношение числа оставшихся (по мере повышения уровня корреляции) связей к общему числу связей между признаками.

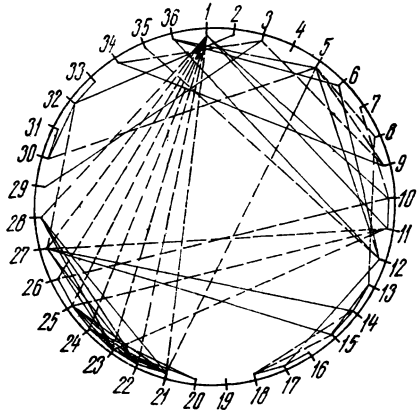


Рис. 18. Корреляционное кольцо для III группы клонов на уровне $r \geqslant 0{,}3$.

ние между плеядами I и II групп. Наличие связей между маркерами, характеризующими репродукционные свойства изучаемых клонов, сближает III группу клонов с I. Однако таких связей у III группы значительно меньше, и плеяды, объединяющие указанные признаки, менее мощные, чем аналогичные плеяды I группы клонов. Прослеживаются и сходные межплеядные связи, например между плеядами признаков, характеризующих репродукционные свойства, антагонистическую активность по отношению к некоторым шигеллам и устойчивость к УФО. В то же время указанные связи резко отличают III группу клонов от II.

Так же резко отличаются группы по мощности (т. е. по количеству членов) плеяды устойчивости к колицинам: у III группы эта плеяда имеет всего четыре члена. У III группы клонов имеются характерные отличия. Например, плеяда устойчивости к антибиотикам обладает значительно большей мощностью, чем у I и II групп клонов; кроме того, у этой плеяды выявлены обратные связи с плеядой признаков, характеризующих антаго-

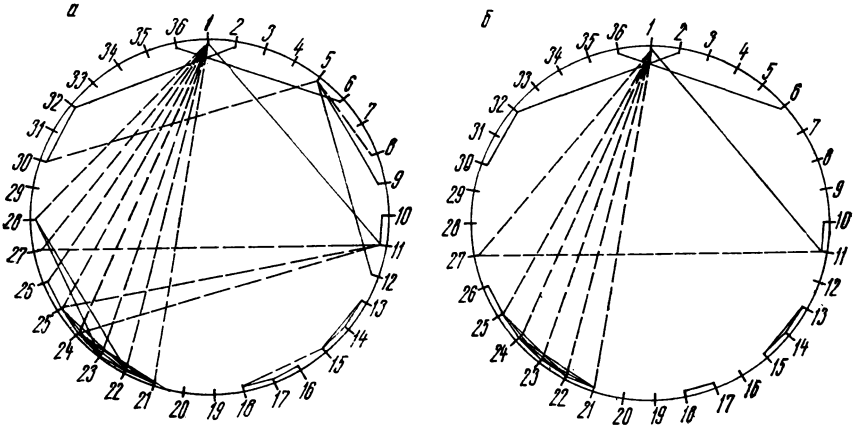


Рис. 19. Корреляционное кольцо для III группы клонов на уровне $r \geqslant 0{,}4$ (*а*) и $r \geqslant 0{,}5$ (*б*).

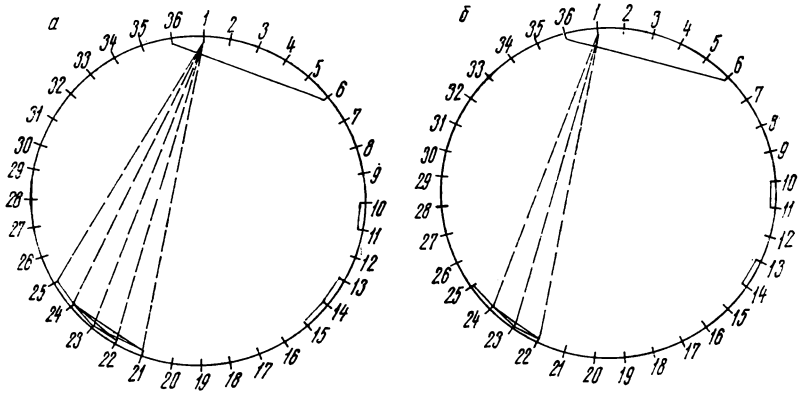


Рис. 20. Корреляционное кольцо для III группы клонов на уровне $r \geqslant 0{,}6$ (*а*) и $r \geqslant 0{,}7$ (*б*).

нистическую активность по отношению к шигеллам Флекснера и Зонне. У клонов I группы таких связей только две, а у клонов II группы они отсутствуют.

Найденные при сравнительном анализе закономерности сохраняются и при переходе на следующие уровни ($|r| \geqslant 0{,}4$ и $|r| \geqslant 0{,}5$, рис. 19). Еще одна особенность клонов III группы — абсолютная резистентность к пенициллину и новобиоцину. Внутренняя структура сходных плеяд, система взаимосвязей между признаками у клонов сравниваемых групп отличаются существенно.

При переходе на корреляционный уровень $|r| \geqslant 0{,}6$ (рис. 20, *а*) картина меняется. На данном уровне структура связей между признаками обнаруживает явное сходство у клонов III и II групп: выявляются не связанные между собой плеяды признаков, характеризующие устойчивость к УФО, антагонистическую активность, антибиотикорезистентность. При этом у клонов III группы плеяда признаков антибиотикорезистентности более мощная, больше обратных связей с признаком, характеризующим «общую» антибиотикорезистентность (количество антибиотиков, к которым обнаружена чувствительность). Сравнивая структуру плеяд у клонов I, II и III групп, можно отметить, что в I и II группах плеяды представляют собой более прочные образования (за исключением плеяды признаков антибиотикорезистентности): как правило, они имеют структуру «звезды» или элементов типа «сеть», в то время как плеяды III группы чаще всего представляют собой структуры типа «цепь». Кроме того, у клонов III группы отсутствует плеяда признаков, характеризующих устойчивость к колицинам (в отличие от клонов II группы), и плеяды признаков, характеризующие репродукционные свойства (в отличие от клонов I груп-

пы). Указанные закономерности сохраняются и на следующем корреляционном уровне ($|r| \geqslant 0{,}7$, рис. 20, *б*).

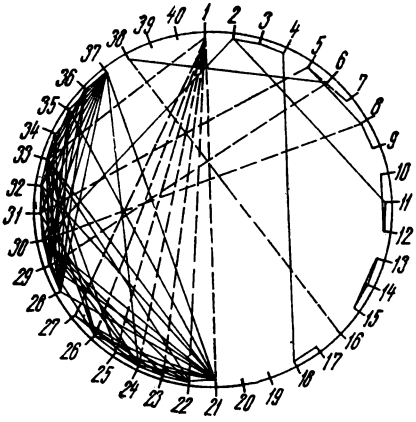
Результаты биометрического анализа III группы клонов показывают, что последние занимают промежуточное положение между I и II группами клонов, обладая вместе с тем рядом отличительных свойств. Более выраженная по сравнению с I группой клонов обособленность отдельных плеяд указывает на относительно меньшую зависимость клонов III группы от факторов внешней среды, отражает влияние условий существования на фоне массового применения лекарственных средств (в том числе и антибиотиков) и относительно высокого уровня поступления в макроорганизм токсических веществ. Вместе с тем генетическая структура клонов I и III групп обнаруживает и определенное сходство, демонстрируя, хотя и меньшую, но все-таки существенную функциональную интегрированность, что находит отражение в более развитой, чем у клонов II группы, системе связей между признаками, характеризующими репродукционные свойства, а также в системе межплеядных связей.

ГРУППА КЛОНОВ, ВЫДЕЛЕННАЯ ОТ ПЕРЕБОЛЕВШИХ ОКЗ В ПЕРИОД РЕКОНВАЛЕСЦЕНЦИИ (IV)

Принята следующая нумерация признаков: **1** — количество антибиотиков, к которым обнаружена резистентность; **2, 3, 4** — время одной генерации, максимальная плотность культуры, время достижения максимальной плотности на полноценной питательной среде; **5, 6, 7** — те же признаки при культивировании на минимальной среде М-9; **8, 9** — диаметр колоний через 72 ч роста после посева на МПА и на агаризированную среду М-9; **10, 11, 12** — антагонистическая активность по отношению к шигеллам Зонне (тестерный штамм № 1775) и Флекснера (тестерные штаммы № 170 и 337); **13, 14, 15** — чувствительность к ультрафиолетовому облучению (75, 100 и 125 эрг/см^2); **16, 17, 18** — чувствительность к активному хлору (три дозы); **19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28** — чувствительность к пенициллину, новобиоцину, стрептомицину, мономицину, канамицину, неомицину, левомицетину, тетрациклину, эритромицину, полимиксину М; **29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39** — чувствительность к колицинам, продуцируемым штаммами СА-7, СА-18, СА-23, СА-38, СА-42, СА-52, СА-53, СА-62, К-235, р-9, р-14; **40** — экономический коэффициент.

Сразу отметим, что в отличие от I, II и III групп клонов IV группа обнаруживает достоверные корреляционные связи на более низком уровне — $|r| \geqslant 0{,}2$.

При сравнении кривых распределения модулей коэффициентов корреляции четко выявляется отличие рассматриваемой группы от остальных (включая и V группу клонов) — кривая имеет два пика: первый расположен в зоне $0{,}3 < |r| < 0{,}4$, вто-



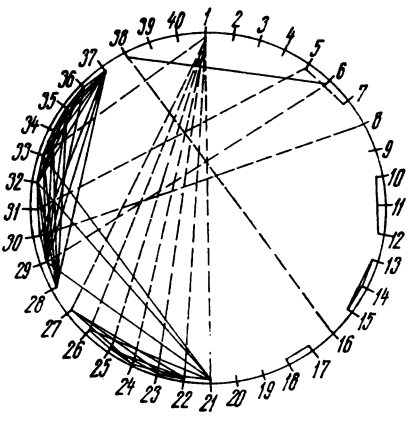
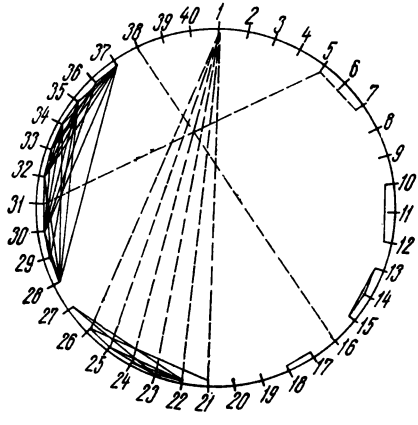


Рис. 21. Корреляционное кольцо на уровне $r \geqslant 0{,}3$ для IV группы клонов.

Рис. 22. Корреляционное кольцо на уровне $r \geqslant 0{,}4$ для IV группы клонов.

рой, менее выраженный — в зоне $0{,}5 < |r| < 0{,}6$ (см. табл. 5.1). В соответствии с этим наблюдаются и отличия в изменении коэффициентов гомогенности (табл. 5.1) на уровнях $|r| = 0{,}3 \ldots 0{,}4$. Такое необычное распределение модулей коэффициентов предполагает существование значительных отличий в корреляционных взаимоотношениях между признаками по сравнению с другими группами клонов. И действительно, начиная с уровня $|r| \geqslant 0{,}3$ структура корреляционных взаимоотношений между признаками резко отличается от структуры всех изучае-



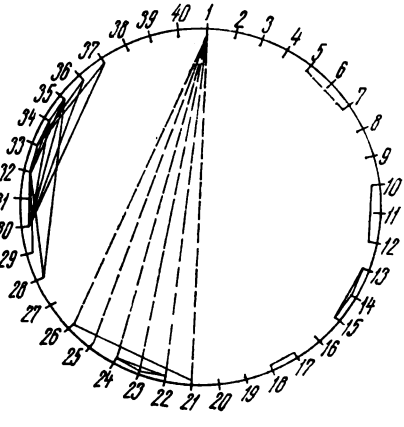


Рис. 23. Корреляционное кольцо на уровне $r \geqslant 0{,}5$ для IV группы клонов.

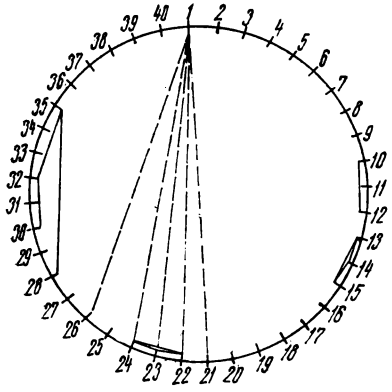
Рис. 24. Корреляционное кольцо на уровне $r \geqslant 0{,}6$ для IV группы клонов.

мых групп клонов (рис. 21). Установлено наличие двух мощных плеяд типа «сеть» (плеяды антибиотикорезистентности (21—27) и плеяда чувствительности к колицинам (28—37) с развитой системой межплеядных связей. Наибольшее количество межплеядных связей имеет признак устойчивости к стрептомицину (5 связей). Среди признаков, характеризующих чувствительность к колицинам, наибольшее количество связей с признаками антибиотикорезистентности имеют признаки СА-18 (30) — 5 связей и СА-42 (33) — 4 связи. Отсутствуют межплеядные связи у признаков СА-53 (34) и СА-62 (36). Не связаны между собой и с остальными признаки чувствительности к колицинам Р-9 (38) и Р-14 (39). Не обнаружено связей у признака 40 — экономический коэффициент.

Кроме указанных плеяд, на данном уровне определяются плеяды, в состав которых входят признаки, характеризующие репродукционные свойства (плеяда 2—3—4, плеяда 5—7—8—9), и плеяды признаков, характеризующих антагонистическую активность (10—12—11), устойчивость к УФО (13—14—15—13), чувствительность к активному хлору (17—18). Последние пять плеяд маломощные (от 2 до 4 признаков в составе каждой плеяды). Отдельные прямые (2—11; 4—18; 2—30) и обратные (5—31; 6—29; 8—30) межплеядные связи отражают, вероятно, некоторую общность биохимических процессов, оказывающих влияние на выражение указанных признаков (т. е. на их полигенное обеспечение).

Клоны IV группы абсолютно резистентны к пенициллину и новобиоцину. Интересно, что признак устойчивости к полимиксину М (28) имеет только одну корреляционную связь с признаками, характеризующими антибиотикорезистентность; в то же время он связан со всеми признаками, отражающими чувствительность рассматриваемой группы клонов к различным колицинам, за исключением колицина *В* (признак 29). Признак устойчивости к полимиксину М не связан также с признаком 1 (количество антибиотиков, к которым выявлена резистентность). По-видимому, в данном случае особенности корреляционных отношений признака устойчивости к полимиксину М (28) определяются особенностями его происхождения, химической структуры и, следовательно, механизма действия.

Указанные закономерности сохраняются по мере повышения корреляционного уровня (рис. 22—25). Разумеется, количество связей при этом уменьшается в первую очередь за счет элиминации межплеядных связей; последние две межплеядные связи наблюдаются на корреляционном уровне $0{,}5 < |r| < 0{,}6$ (см. рис. 23). На уровнях $|r| \geqslant 0{,}4$ и $|r| \geqslant 0{,}5$ по-прежнему сохраняются мощные плеяды признаков чувствительности к колицинам и антибиотикорезистентности с хорошо развитой системой внутренних связей. На уровне $|r| \geqslant 0{,}6$ количество внутриплеядных связей в указанных плеядах значительно уменьшается, но



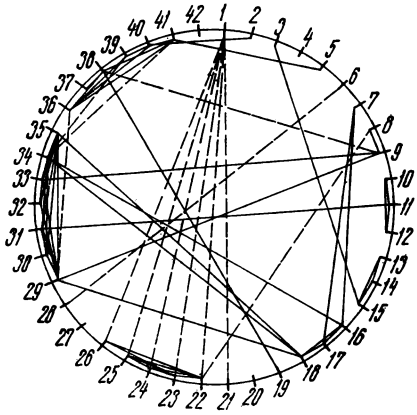
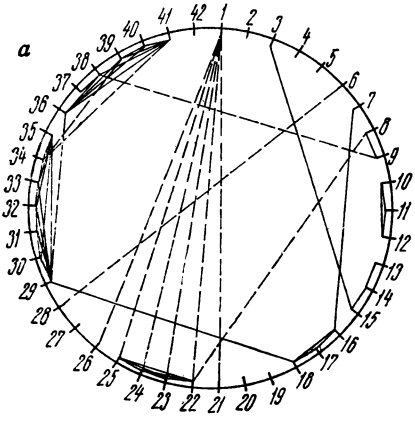


Рис. 25. Корреляционное кольцо на уровне $r \geqslant 0{,}7$ для IV группы клонов.

Рис. 26. Корреляционное кольцо на уровне $r \geqslant 0{,}3$ для V группы клонов.

вместе с тем сохраняются маломощные плеяды признаков, характеризующих антагонистическую активность (10—12), чувствительность к УФО (13—14—15—13) и к активному хлору (17—18). Сохраняется связь между признаками (5) — время одной генерации и (7) — время достижения максимальной плотности при культивировании на среде М-9.

В целом система взаимоотношений между признаками IV группы клонов обнаруживает соответствие с условиями обитания во взаимодействии с различными микроорганизмами, вызвавшими ОКЗ, и предшествовавшей выделению антибиотикотерапией.



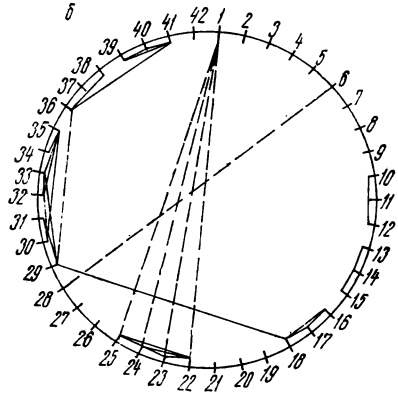


Рис. 27. Корреляционное кольцо на уровне $r \geqslant 0{,}4$ (*а*) и $r \geqslant 0{,}5$ (*б*) для V группы клонов.

ГРУППА КЛОНОВ, ВЫДЕЛЕННАЯ ИЗ ОТСТОЙНИКА АЭС (V)

Принята следующая нумерация признаков: **1** — количество антибиотиков, к которым обнаружена резистентность; **2, 3, 4** — время одной генерации, максимальная плотность культуры, время достижения максимальной плотности на полноценной питательной среде; **5, 6, 7** — те же признаки, определенные при культивировании на минимальной среде М-9; **8, 9** — диаметр колоний через 72 ч роста после посева на МПА и на агаризированную среду М-9; **10, 11, 12** — антагонистическая активность по отношению к шигеллам Зонне (тестерный штамм № 1775) и Флекснера (тестерные штаммы № 170 и 337); **13, 14, 15** — чувствительность к ультрафиолетовому облучению (75, 100 и 125 эрг/см^2); **16, 17, 18** — чувствительность к активному хлору (три дозы); **19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28** — чувствительность к пенициллину, новобиоцину, стрептомицину, мономицину, канамицину, неомицину, левомицетину, тетрациклину, эритромицину, полимиксину М; **29, 30, 31, 32, 33, 34, 35** — чувствительность к колицинам *B*, *D*, *E*+*I*, *F*, *J*, *V*, *K*; **36, 37, 38, 39, 40, 41, 42** — величина колоний колициногенных штаммов.

Сравнивая распределение модулей коэффициентов корреляции рассматриваемой группы клонов с остальными, можно отметить следующие особенности. Как и у IV группы, уровень достоверных связей сдвинут до $|r| \geqslant 0{,}2$ и пик (по количеству связей) расположен в зоне $0{,}3 < |r| < 0{,}4$ (см. рис. 11). Затем следует относительно пологое снижение количества связей по мере повышения уровня корреляции. Значения коэффициента гомогенности *E* в отличие от других групп клонов более низкие начиная с уровня $|r| \geqslant 0{,}5$ (см. табл. 5.1). Таким образом, по этим двум показателям (распределение модулей коэффициентов корреляции и изменение коэффициента гомогенности) V группа клонов обнаруживает как сходство, так и отличие от других групп.

Отличие выявляется при построении корреляционных колец. На уровне $|r| \geqslant 0{,}3$ (рис. 26) располагаются три крупные плеяды типа «сеть»: плеяда антибиотикорезистентности (признаки с 22-го по 26-й), плеяда чувствительности к колицинам (с 29-го по 35-й) и плеяда признаков, характеризующих величину колициногенных штаммов (с 36-го по 41-й). В отличие от IV группы клонов плеяды антибиотикорезистентности и чувствительности к колицинам менее мощные и не имеют связей друг с другом. Плеяда чувствительности к колицинам и плеяда признаков, характеризующих величину колоний колициногенных штаммов, связаны между собой обратными связями признаков 29—36 и 39—34—41, что отличает V группу клонов от I и II, где связи между названными плеядами прямые. Как и у всех групп клонов, имеются плеяды признаков, характеризующих антагони-

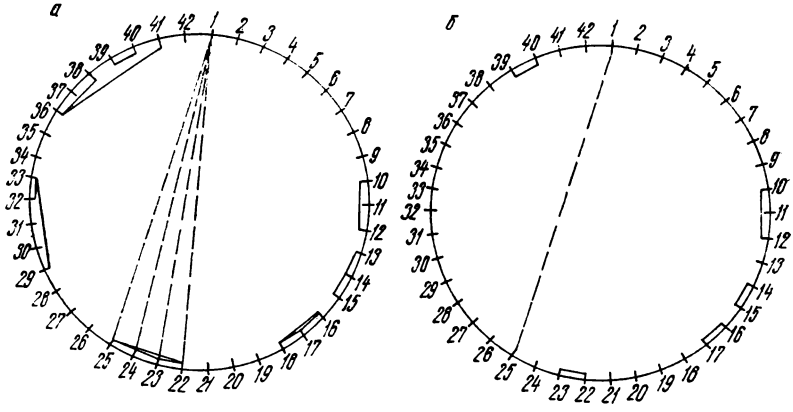


Рис. 28. Корреляционное кольцо на уровне $r \geqslant 0{,}6$ (*а*) и $r \geqslant 0{,}7$ (*б*) для V группы клонов.

стическую активность клонов (10—11—12—10), чувствительность к УФО (13—14—15—13) и чувствительность к активному хлору (16—17—18—16). Остальные признаки, отражающие репродукционные свойства, не объединены в плеяды, хотя почти все имеют по одной-две индивидуальной связи с выявленными плеядами (такая же особенность наблюдается у II группы клонов). Исключение представляют признаки 8 и 9 (диаметр колоний через 72 ч после посева на МПА и агаризированную среду М-9 соответственно), которые обнаруживают прямые связи с чувствительностью к некоторым колицинам (связь 29—9—33) и обратную связь с признаком «величина колоний» одного из колициногенных штаммов.

Из межплеядных связей на данном уровне интересны также связи между плеядой чувствительности к колицинам и плеядой чувствительности к активному хлору. Возможно, эти связи обусловлены характером изменения структуры рецепторов на поверхности бактериальных клеток. Правда, при переходе на более высокий корреляционный уровень $|r| \geqslant 0{,}4 \ldots 0{,}5$ (рис. 27) из четырех указанных связей остается только одна (18—29), но это общая закономерность для всех групп клонов — по мере повышения корреляционного уровня в первую очередь элиминируются межплеядные связи. Однако в рассматриваемой системе взаимосвязей между признаками по мере повышения уровня корреляции сохраняются выявленные особенности (рис. 28): наличие обособленных плеяд признаков, характеризующих чувствительность к колицинам, антибиотикам, активному хлору, УФО и антагонистическую активность изучаемых клонов при отсутствии связей между признаками, отражающими репродукционные свойства.

Оценивая результаты биометрического анализа, следует от-

Таблица 5.2

Количество межплеядных связей у разных групп клонов на разных уровнях корреляции

Группа клонов	Корреляционный уровень					
	0,4		0,5		0,6	
	абс.	отн.*	абс.	отн.	абс.	отн.
I	50	0,5	18	0,283	6	0,207
II	20	0,289	7	0,163	0	0
III	8	0,211	4	0,154	0	0
IV	9	0,136	2	0,039	0	0
V	9	0,163	2	0,065	0	0
VI	7	0,194	1	0,059	0	0
VII	76	0,598	3	0,492	3	0,159
VIII	30	0,428	3	0,088	0	0

* Относительные величины рассчитаны по отношению к общему количеству связей на данном уровне.

метить, что системы генетических взаимосвязей, их внутренняя структура у разных групп клонов отражают условия существования. При воздействии неблагоприятных факторов (промышленные стоки с большим содержанием мутагенов, антибиотики, повышенный уровень радиации) система генетических взаимосвязей изменяется, причем прослеживается связь между интенсивностью воздействия и степенью изменений. Сравнение I группы клонов кишечной палочки, выделенных из чистой проточной воды (контроль), с остальными показало следующие наиболее общие изменения.

Во-первых, в отличие от I группы у клонов II и III, IV и V групп практически отсутствуют связи между признаками, характеризующими репродукционные свойства. При этом у клонов III группы, выделенных от клинически здоровых людей, корреляционные связи обнаружены, но мощность «репродукционной» плеяды в значительной мере ниже, чем мощность такой же плеяды у I группы клонов.

Во-вторых, у клонов, подвергшихся воздействию неблагоприятных факторов, меньше количество межплеядных связей (табл. 5.2). Абсолютной зависимости между интенсивностью воздействия и уменьшением количества межплеядных связей нет. Например, интенсивность воздействия неблагоприятных факторов на популяцию кишечной палочки, выделенную от здоровых людей (III группа клонов), явно меньше, чем на популяцию, выделенную из промышленных стоков с высоким содержанием химических мутагенов (II группа). Тем не менее в общем виде указанная закономерность наблюдается у всех групп клонов, подвергшихся воздействию неблагоприятных факторов (химические мутагены или антибиотики). По мере повышения

корреляционного уровня эта закономерность сохраняется, причем на уровне $|r| \geqslant 0{,}6$ у клонов, подвергшихся воздействию, межплеядные связи отсутствуют. На отсутствие межплеядных связей указывает, по-видимому, и распределение модулей коэффициентов корреляции. У I группы клонов модули располагаются в более узкой зоне (нижний уровень $|r| \geqslant 0{,}3$, верхний $|r| < 0{,}9$); у остальных групп зона расположения модулей коэффициентов корреляции расширена за счет повышения корреляционного уровня, на котором обнаруживаются связи, до $|r| \geqslant 0{,}9$ (см. рис. 11).

У IV и V групп клонов зона расположения модулей расширена также за счет снижения корреляционного уровня до $|r| \geqslant 0{,}2$, причем в основном вследствие формирования внутриплеядных связей, что также свидетельствует о большей обособленности корреляционных плеяд у клонов, подвергшихся воздействию неблагоприятных факторов, и соответственно об ослаблении полиногенности в обеспечении отдельных признаков. В связи с этим необходимо отметить, что многие из тех признаков, которые мы отнесли к «признакам, характеризующим репродукционные свойства», обеспечиваются группами генов, т. е. сами по себе являются плеядами. В этом случае отсутствие связей между этими признаками у клонов, подвергшихся воздействию неблагоприятных факторов, представляет собой элиминацию межплеядных связей.

Вместе с общими закономерностями, выявленными у изучаемых групп клонов, наблюдаются и индивидуальные отличия. Наряду с расширением зоны расположения модулей у групп клонов, подвергшихся воздействию неблагоприятных факторов, можно отметить наличие двухвершинных (II и IV группы) и пологих (III и V) кривых распределения модулей, свидетельствующее о различиях во внутренней структуре взаимосвязей между признаками. На высоких уровнях корреляции обособленные плеяды признаков, характеризующие чувствительность к колицинам, антибиотикам, активному хлору, УФО и антагонистическую активность, отличаются у отдельных групп клонов как по мощности, так и по внутренней структуре, причем в одном случае (IV группа) мощность плеяд, их внутренняя структура и система межплеядных взаимосвязей (имеются в виду плеяды чувствительности к антибиотикам и колицинам) прямо указывают на факторы воздействия и его степень. Последняя выявляется при сравнении IV группы клонов с III, на которую воздействовали те же факторы (антибиотики и колицины), но с меньшей интенсивностью. Интересно, что экономический коэффициент у III группы связан с «репродукционными» признаками, а у IV группы — нет, что, по-видимому, также отражает большую интенсивность воздействия указанных неблагоприятных факторов на популяцию, выделенную от людей, перенесших ОКЗ (IV группа).

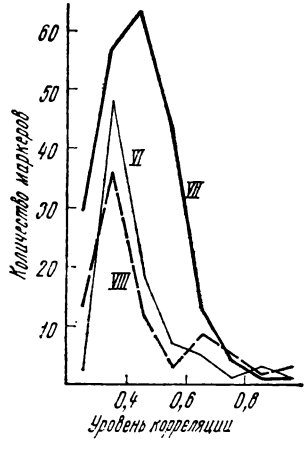
ГРУППЫ КЛОНОВ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ БЫТОВЫХ СТОЧНЫХ ВОД, ВОДОПРОВОДНОЙ ВОДЫ И ОТ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ (VI, VII И VIII)

При проведении биометрического анализа принята следующая нумерация генетических маркеров: **1** — количество антибиотиков, к которым обнаружена резистентность; **2, 3, 4** — время одной генерации, максимальная плотность культуры, время достижения максимальной плотности на полноценной питательной среде; **5, 6, 7** — те же признаки, определяемые при культивировании на минимальной среде М-9; **8, 9** — диаметр колоний через 72 ч роста после посева на МПА и на агаризированную среду М-9; **10, 11, 12** — антагонистическая активность по отношению к шигеллам Зонне (тестерный штамм № 1775) и Флекснера (тестерные штаммы № 170 и 337); **13, 14, 15** — чувствительность к ультрафиолетовому облучению (75, 100 и 125 эрг/см^2); **16, 17, 18** — чувствительность к активному хлору (три дозы); **19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28** — чувствительность к пенициллину, новобиоцину, стрептомицину, мономицину, канамицину, неомицину, левомицетину, тетрациклину, эритромицину, полимиксину М; **29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38** — чувствительность к колицинам, продуцируемым колициногенными штаммами СА-7, СА-18, СА-23, СА-38, СА-42, К-235, СА-53, СА-62, р-9 и р-14.

Биометрический анализ позволил выявить существенные количественные и качественные различия в генетической структуре популяций *E. coli*, выделенных из бытовых сточных вод (VI группа клонов) и водопроводной воды (VII группа). Число достоверных корреляционных связей между маркерами на уровне $|r| \geqslant 0{,}2$ у VI группы составило 86, а у VII — 213. Это отразилось на распределении модулей коэффициентов корреляции (рис. 29). Большая часть связей у клонов VI группы располагалась в зоне $0{,}2 < |r| < 0{,}6$ (пик в зоне $0{,}3 < |r| < 0{,}4$), у VII — в зоне $0{,}2 < |r| < 0{,}7$ (пик в зоне $0{,}4 < |r| < 0{,}5$). Изменение коэффициента гомогенности E по мере повышения корреляционного уровня более выраженно происходит у клонов VI группы, что отражает большую «изолированность» ее генетических маркеров (табл. 5.1).

При построении корреляционных колец на разных уровнях выявились качественные различия в структуре взаимосвязей. У клонов VI группы на корреляционном уровне $|r| \geqslant 0{,}3$ (рис. 30) выделяются две крупные плеяды признаков типа «сеть», характеризующие антибиотикорезистентность и чувствительность к колицинам. Обе плеяды объединены отдельными межплеядными связями (21—37, 21—34, 22—30 и 26—38). Небольшие плеяды признаков характеризуют устойчивость к УФО (13—14—15—13) и активному хлору (17—18). Связаны между собой признаки, отражающие репродукционные свойства

Рис. 29. Распределение модулей коэффициентов корреляции по группам клонов VI—VIII.



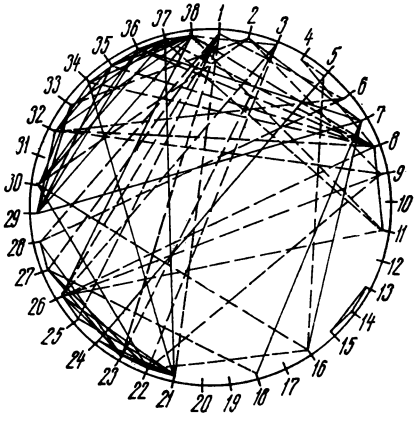
изученных клонов (5—4—8; 2—7 и 2—9).

На данном корреляционном уровне относительно развита межплеядность (общее количество межплеядных связей 29), что свидетельствует об определенной функциональной интегрированности генетических структур этой группы клонов. Причем большая часть межплеядных связей — 19 из 29 — объединяет плеяды признаков антибиотикорезистентности и чувствительности к колицинам с отдельными признаками или маломощными плеядами признаков, характеризующих репродукционные свойства. В связи с абсолютной устойчивостью клонов VI группы к пенициллину и новобиоцину эти признаки не связаны с каким-либо другим признаком. В целом тип взаимосвязей имеет определенное сходство с таковым у III группы клонов (также на уровне $|r| \geqslant 0{,}3$). Однако наряду со сходством отмечаются и различия: плеяда признаков чувствительности клонов VI группы к колицинам более мощная, чем у клонов III группы.

При переходе на уровень $|r| \geqslant 0{,}4$ (рис. 31) сходство и различие системы взаимосвязи у III и VI групп клонов становятся более явными. Сходство выражается в общей картине распределения связей в корреляционном кольце (наличие связей отдельных признаков и плеяд антибиотикорезистентности с признаком, характеризующим количество антибиотиков, к которым определена резистентность; сходное строение плеяд чувствительности к УФО и свободному хлору, небольшое количество межплеядных связей), а различие заключается в мощности плеяд антибиотикорезистентности и чувствительности к колицинам в распределении и количестве межплеядных связей при полном отсутствии у клонов VI группы связей между признаками, характеризующими репродукционные свойства.

При повышении корреляционного уровня до $|r| \geqslant 0{,}5$ (рис. 32) у клонов VI группы элиминируется плеяда устойчивости к активному хлору, остается лишь одна межплеядная связь (7—16) и резко падает мощность плеяд признаков, характеризующих чувствительность к колицинам и антибиотикорезистентность.

На следующих уровнях $|r| \geqslant 0{,}6$ и $|r| \geqslant 0{,}7$ (рис. 33) уменьшается количество связей и соответственно количество плеяд, изменяются их структура и мощность. Исключение составляет плеяда признаков, характеризующих чувствительность к УФО



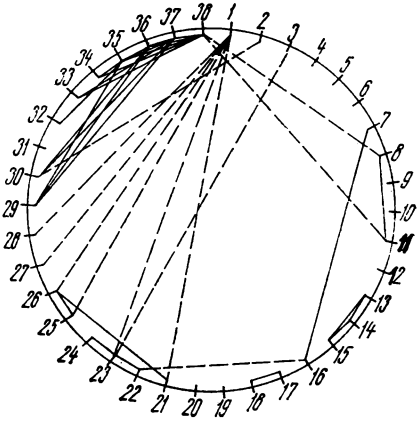


Рис. 30. Корреляционное кольцо на уровне $r \geqslant 0{,}3$ для VI группы клонов.

Рис. 31. Корреляционное кольцо на уровне $r \geqslant 0{,}4$ для VI группы клонов.

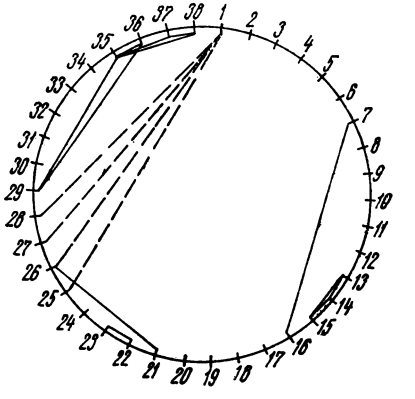


Рис. 32. Корреляционное кольцо на уровне $r \geqslant 0{,}5$ для VI группы клонов.

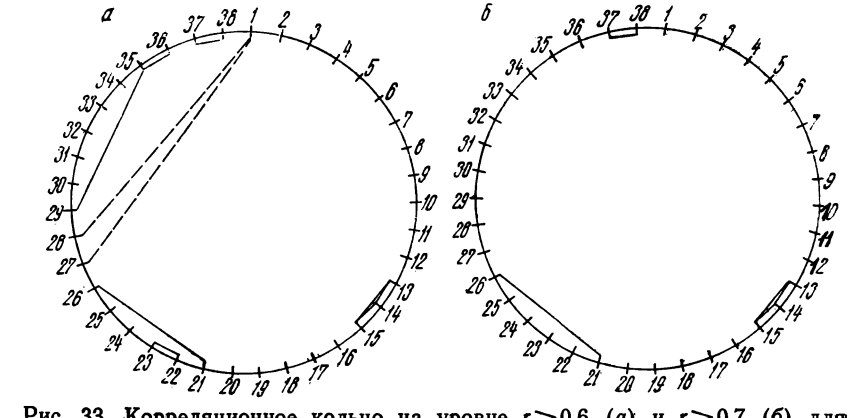


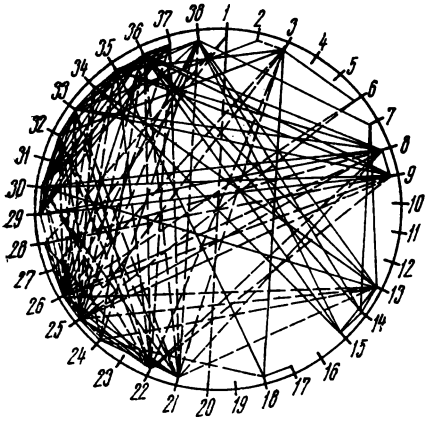
Рис. 33. Корреляционное кольцо на уровне $r \geqslant 0{,}6$ (*а*) и $r \geqslant 0{,}7$ (*б*) для VI группы клонов.

(13—14—15—13), которая имеет относительно жесткую замкнутую структуру; все остальные плеяды имеют малую мощность (2—3 признака) и структуру типа «цепь». В общем система взаимосвязи между маркерами VI группы клонов на этих уровнях типична для популяций, испытавших воздействие неблагоприятных факторов внешней среды.

VII группа клонов характеризуется чрезвычайно развитой системой взаимосвязей, объединяющих практически все признаки в корреляционную плеяду типа «сеть» уже на уровне $|r| \geqslant 0{,}4$ (рис. 34). Всего насчитывается 184 внутри- и межплеядных связей. Не имеют связей признаки 16 (чувствительность к высшей дозе активного хлора), 19 (чувствительность к пенициллину), 10, 11, 12 (антагонистическая активность к шигеллам Флекснера и Зонне) из-за абсолютной резистентности клонов этой группы к пенициллину, полной чувствительности к указанной дозе хлора и очень низкой антагонистической активности. Отсутствуют также связи с другими признаками и между собой у признаков 4 и 5 (время достижения максимальной плотности на МПБ и время одной генерации на среде М-9). В целом система взаимосвязи состоит из двух мощных плеяд (антибиотикорезистентности и чувствительности к колицинам) и нескольких плеяд значительно меньшей мощности: 2—3—6, 8—9, 13—14—15—13 и 17—18, но все плеяды связаны между собой в одну большую типа «сеть». Практически все признаки, объединенные в плеяды на уровне $|r| \geqslant 0{,}4$ (за исключением признаков 1, 2, 6, 17, 20), имеют от трех до семи межплеядных связей.

Наибольшее количество межплеядных связей у следующих признаков: 26 (чувствительность к тетрациклину) — 11; 8 и 25 (диаметр колоний на МПА через 72 ч роста и чувствительность к левомицетину) — 10; 9 (диаметр колоний на М-9 через 72 ч роста) — 9. Вообще VII группа клонов имеет наибольшее количество связей из всех изученных групп *E. coli*, что свидетельствует о выраженной функциональной интегрированности генетических структур у данной группы клонов. В этом она сходна с I группой клонов, также характеризующейся большим количеством достоверных связей (в том числе межплеядных) на относительно высоком уровне корреляции. Расчет количества межплеядных связей (табл. 5.2) подтверждает это заключение.

Сходство I и VII групп клонов обнаруживается также в количестве (10 и 9 соответственно) и структуре связей между репродукционными признаками, правда, в том случае, если эти связи сравниваются на уровне $|r| \geqslant 0{,}3$ для VII группы (рис. 35) и $|r| \geqslant 0{,}4$ для I группы (см. рис. 12, *а*). Интересна еще одна закономерность: у I и VII групп клонов признак 7 (время достижения максимальной плотности культуры на среде М-9) связан с признаками 13—14—15 (устойчивость к УФО различной интенсивности). Ни в одной из рассмотренных ранее групп клонов такая закономерность не наблюдалась. Из характерных особен-



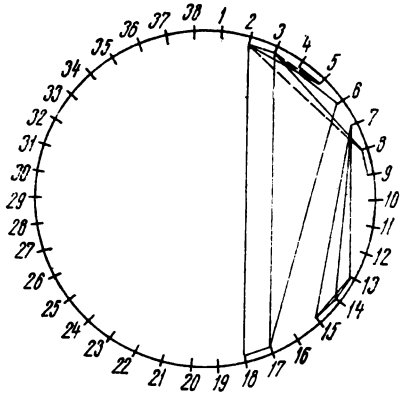


Рис. 34. Корреляционное кольцо на уровне $r \geqslant 0{,}4$ для VI группы клонов.
Рис. 35. Структура взаимосвязей между маркерами, характеризующими репродукционные свойства, у клонов VII группы на уровне $r \geqslant 0{,}3$ (связи отделены от остальных), а также связи указанных маркеров с маркерами, характеризующими чувствительность к УФО (13, 14, 15) и свободному хлору (7, 8).

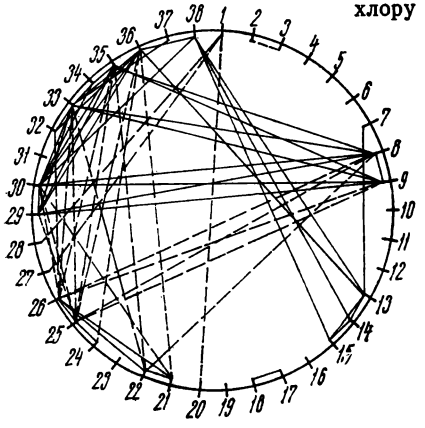
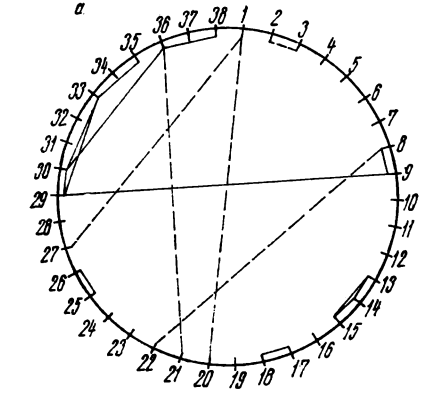


Рис. 36. Корреляционное кольцо на уровне $r \geqslant 0{,}5$ для VII группы клонов.



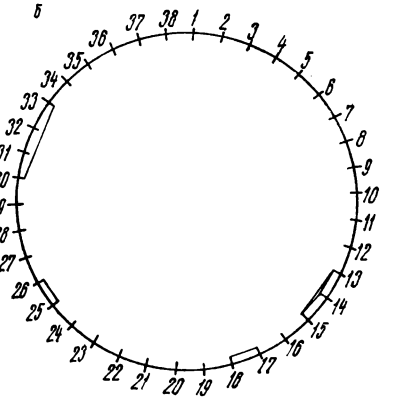


Рис. 37. Корреляционное кольцо на уровне $r \geqslant 0{,}6$ (*а*) и $r \geqslant 0{,}7$ (*б*) для VII группы клонов.

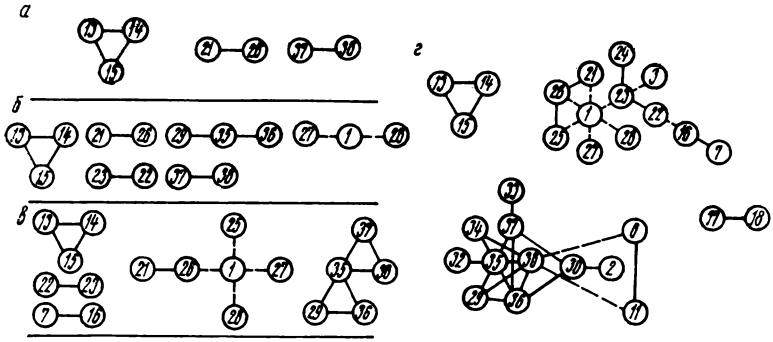


Рис. 38. Структура корреляционных плеяд VII группы клонов на уровне $r \geqslant 0{,}7$ (*а*); 0,6 (*б*); 0,5 (*в*) и 0,4 (*г*).

ностей VII группы клонов следует отметить наличие своеобразных «центров» формирования межплеядных связей — признаков 8 и 9, 21 и 22, 25 и 26, имеющих, как уже указывалось, наибольшее количество межплеядных связей.

При повышении корреляционного уровня до $|r| \geqslant 0{,}5$ (рис. 36) резко падает мощность плеяды признаков, характеризующих антибиотикорезистентность, уменьшается количество межплеядных связей. При этом сохраняются «центры» формирования межплеядных связей по признакам 8 и 9. На уровне $|r| \geqslant 0{,}6$ (рис. 37, *а*) количество связей сокращается до 19, три из них относятся к межплеядным (8—22, 9—29, 21—36); остальные принимают участие в формировании маломощных плеяд, объединяющих признаки 2—3, 8—9, 13—14—15—13, 19—17, 25—26, 29—30—33—35—36—38. На уровне $|r| \geqslant 0{,}7$ имеют место три двухчленные (17—18, 25—26, 30—33) и одна трехчленная (13—14—15) плеяды, межплеядные связи отсутствуют (рис. 37, *б*).

Плеяды VI и VII групп были «развернуты» на отдельных чертежах (рис. 38, 39). Выявлены четкие различия во внутренней структуре плеяд сравниваемых групп клонов. Если у VI группы на уровне $|r| \geqslant 0{,}7$ было всего три плеяды, то у VII группы на этом же уровне — четыре. По мере понижения корреляционного уровня и в той и в другой группах количество плеяд возрастало, их структура усложнялась. Уже на уровне $|r| \geqslant 0{,}5$ практически все признаки (25 из 29) клонов VII группы были связаны в плеяду типа «сеть» с элементами типа «звезда» и «цепь» (см. рис. 39, *в*); формирование этой плеяды происходило в основном при участии признаков, характеризующих антибиотикорезистентность и чувствительность к колицинам. В то же время у клонов VI группы только на уровне $|r| \geqslant 0{,}4$ эти же признаки формируют две не связанные между собой плеяды, в основном со структурой типа «звезда» и с элементами «сети» (см. рис. 38, *г*).

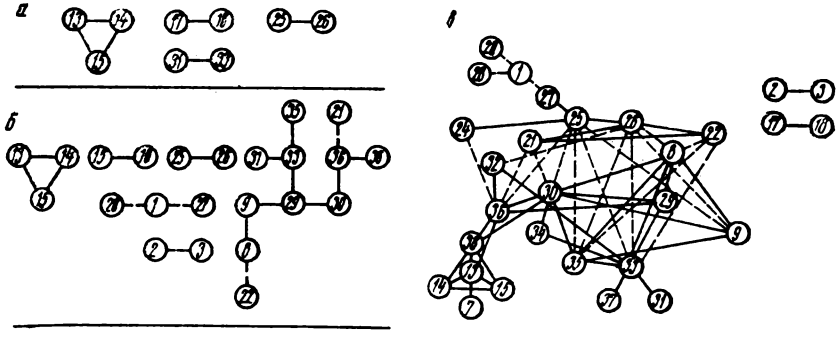


Рис. 39. Структура корреляционных плеяд VII группы клонов на уровне $r \geqslant 0{,}7$ (*а*), 0,6 (*б*) и 0,5 (*в*).

Введение порядка в систему взаимосвязи между маркерами VI и VII групп клонов с помощью метода МКП [17] позволило установить центры формирования плеяд и основные пути межплеядных связей. И в том, и в другом случаях главную роль в возникновении плеяд играли признаки антибиотикорезистентности и чувствительности к колицинам, однако структура графов взаимосвязи признаков была различной.

У клонов VI группы (рис. 40, *а*) объединение признаков, характеризующих антибиотикорезистентность и чувствительность к колицинам, более упорядочено: в основном признаки связаны друг с другом внутри указанных плеяд, межплеядная связь идет через признаки 7 и 16. У клонов VII группы (рис. 40, б) отдельные признаки антибиотикорезистентности (21, 22, 24) связаны либо с признаками чувствительности к колицинам (21—32—24), либо с некоторыми другими (8—22), т. е. в данном случае признаки 21, 22, 24 выпадают из плеяды антибиотикорезистентности. По-иному объединяются и две основные плеяды: связь идет через признаки 8 и 9.

Биометрический анализ взаимосвязи генетических признаков группы клонов *E. coli*, выделенных от сельскохозяйственных животных (VIII группа), позволил получить следующие данные. Число достоверных корреляционных связей между признаками на уровне $|r| \geqslant 0{,}2$ составляло 84, т. е. данная группа характеризуется сравнительной «бедностью» связей.

Сравнение кривых распределения модулей коэффициентов корреляции четко выявило отличие исследуемой группы клонов от I, II, III, V, VI и VII групп и определенное сходство с IV группой клонов; в обоих случаях кривые распределения модулей двухвершинные. Как у IV группы, первый пик расположен в зоне $0{,}3 < |r| < 0{,}4$, а второй (более узкий, чем у IV группы, и менее выраженный, чем первый пик) — в зоне $0{,}6 < |r| < 0{,}7$. Это сходство находит отражение и в изменении

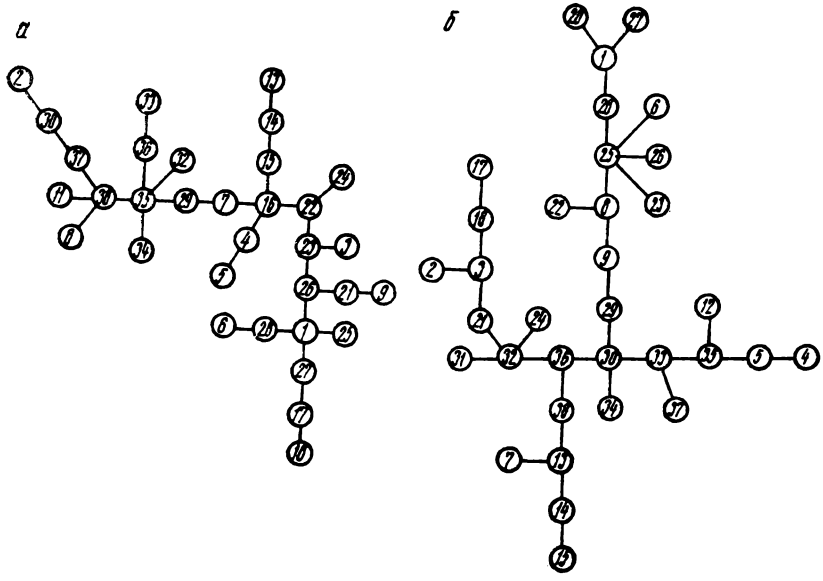


Рис. 40. Графы взаимосвязи признаков VI (*а*) и VII (*б*) групп клонов, построенные по принципу МКП. Отсутствующие признаки не имеют достоверных связей. Направленность связей не обозначена.

коэффициентов гомогенности *E* сравниваемых групп клонов на уровне 0,5—0,6. Перепад значений коэффициентов гомогенности при переходе с уровня 0,5 на уровень 0,6 у клонов IV и VIII групп менее выражен, чем у всех остальных групп (см. табл. 5.1).

Структура корреляционных взаимосвязей между признаками VIII группы клонов значительно отличалась от всех изученных групп *E. coli* (в том числе и от IV группы, хотя в последнем случае наблюдается определенное сходство). На уровне $|r| \geqslant 0{,}3$ (рис. 41) видна одна мощная плеяда типа «сеть» с элементами «звезды», образованная связями между признаками, характеризующими чувствительность к колицинам (признаки 29—38). Большая часть межплеядных связей (21 из 30) соединяет признаки чувствительности к колицинам с другими плеядами и отдельными признаками. Наибольшее число внутриплеядных связей имеют признаки 32 (7 связей), 33, 36 и 38 (по 6), наибольшее количество межплеядных связей — признак 36 (6 связей). Наличие такой мощной плеяды с развитой системой межплеядных связей в определенной степени напоминает структуру взаимосвязей между признаками IV группы клонов, но в отличие от последней и всех остальных групп у VIII группы практически нет плеяды признаков, характеризующих устойчивость к антибиотикам. Вместо этого наблюдаются две маломощные, не

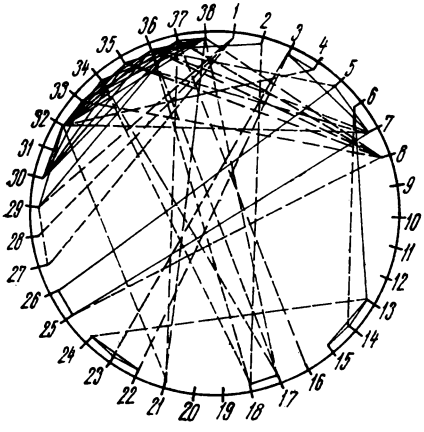


Рис. 41. Корреляционное кольцо на уровне $r \geqslant 0{,}3$ для VIII группы клонов.

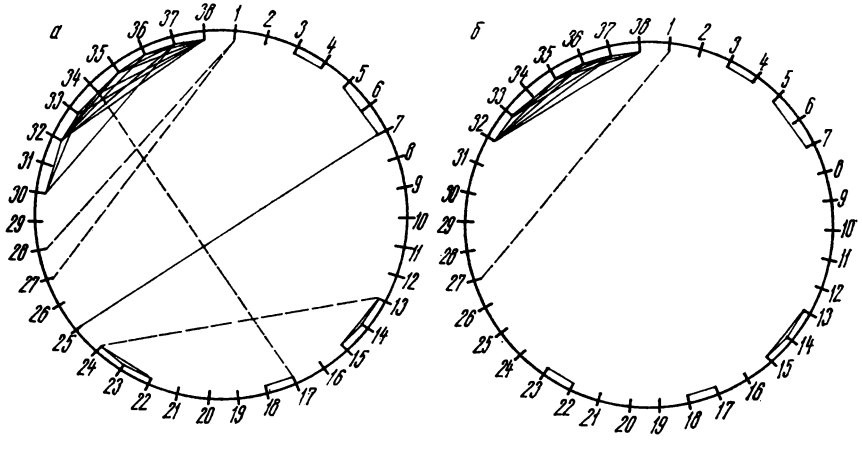


Рис. 42. Корреляционное кольцо на уровне $r \geqslant 0{,}4$ (*а*) и $r \geqslant 0{,}5$ (*б*) для VIII группы клонов.

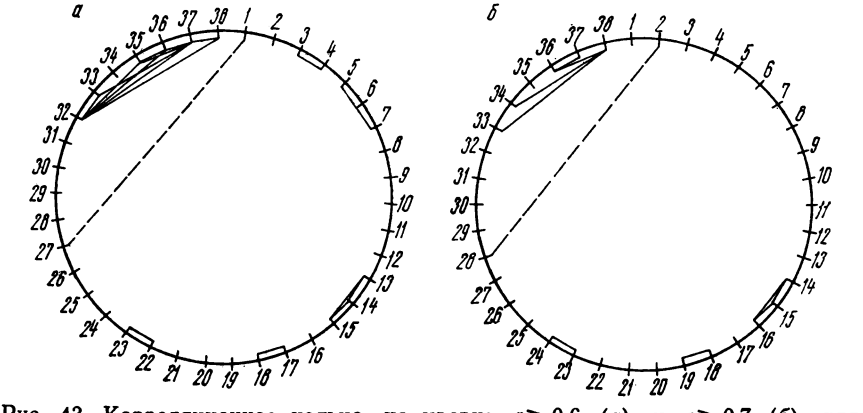


Рис. 43. Корреляционное кольцо на уровне $r \geqslant 0{,}6$ (*а*) и $r \geqslant 0{,}7$ (*б*) для VIII группы клонов.

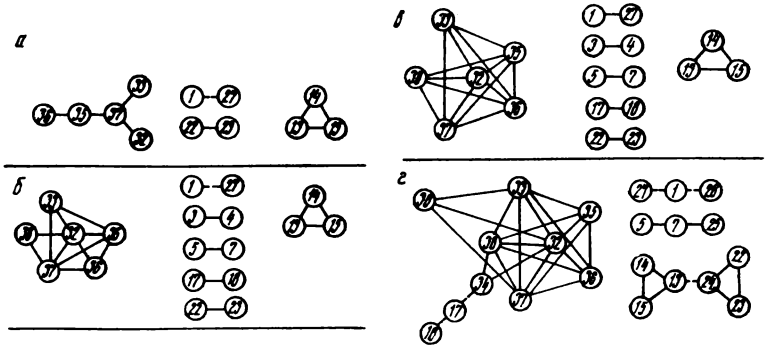


Рис. 44. Структура корреляционных плеяд VIII группы клонов на уровне $r \geqslant 0{,}7$ (*а*); 0,6 (*б*); 0,5 (*в*) и 0,4 (*г*).

связанные между собой плеяды: 22—23—24 (резистентность к антибиотикам-аминогликозидам), 25—26 (резистентность к левомицетину и тетрациклину). Кроме того, имеются маломощные плеяды из двух-четырех членов: 17—18 (устойчивость к действию активного хлора); 13—14—15—13 (устойчивость к УФО) и небольшая плеяда признаков, характеризующих репродуктивные свойства изучаемых клонов *E. coli*. Практически все перечисленные плеяды связаны между собой и с плеядой признаков, отражающих чувствительность к колицинам. Общая структура взаимосвязей между генетическими признаками типична для группы клонов, испытавших относительно умеренное воздействие факторов внешней среды.

При переходе на уровень $|r| \geqslant 0{,}4$ (рис. 42, *а*) картина значительно упрощается за счет элиминации 36 взаимосвязей, из которых 27 — межплеядные. В результате как бы обнажаются центры формирования плеяд группы клонов. К ним относятся маломощные плеяды признаков, характеризующих репродукционные свойства (3—4, 5—7), устойчивость к УФО (13—14—15—13), устойчивость к активному хлору (17—18) и резистентность к группе антибиотиков-аминогликозидов (22—23—24). По-прежнему сохраняется сравнительно мощная плеяда чувствительности к колицинам.

На уровне $|r| \geqslant 0{,}5$ (рис. 42, *б*) перечисленные плеяды сохраняются, но окончательно элиминируются межплеядные связи и в значительной мере ослабевает мощность плеяды признаков чувствительности к колицинам. На уровне $|r| \geqslant 0{,}6$ (рис. 43, *а*) указанные закономерности сохраняются: мощность плеяды признаков чувствительности к колицинам медленно падает, элиминируется часть связей между признаками резистентности к антибиотикам, но остальные плеяды сохраняются, в том числе плеяды признаков, характеризующих репродукци-

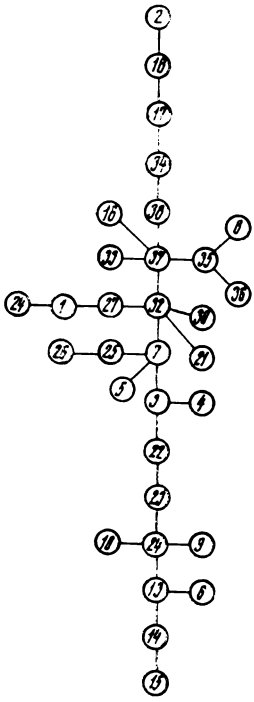


Рис. 45. Граф взаимосвязи признаков VIII группы клонов, построенный по принципу МКП. Отсутствующие признаки не имеют достоверных связей. Направленность связей не обозначена.

онные свойства (3—4, 5—7), которые окончательно элиминируются на уровне $|r| \geqslant 0{,}7$ (рис. 43, *б*).

Плеяды признаков VIII группы клонов были «развернуты» на отдельном чертеже (рис. 44). Этот прием позволил наглядно представить структуру взаимосвязей внутри плеяд и в определенной степени подтвердить уже полученные данные. Видно, что с уровня $|r| \geqslant 0{,}7$ до уровня $|r| \geqslant 0{,}5$ качественно и количественно изменялась только плеяда чувствительности к колицинам, остальные лишь формировались в виде «центров» будущих более мощных плеяд. И только на уровне $|r| \geqslant 0{,}4$ наряду с дальнейшим усложнением плеяды чувствительности к колицинам произошло объединение отдельных плеяд с помощью межплеядных связей 17—34; 13—24; 7—25. Как и во всех случаях, генезис данных межплеядных связей не ясен. По-видимому, они отражают общность биохимических процессов, оказывающих влияние на выражение связанных генетических маркеров.

Использование принципа МКП (рис. 45) позволило установить, что центром формирования общей «максимальной» плеяды являются признаки колициноустойчивости, обнаруживающие непосредственную связь с плеядой устойчивости к активному хлору (17—18) и отдельными признаками устойчивости к антибиотикам (21, 27). Второй центр — плеяда устойчивости к антибиотикам-аминогликозидам (22—23—24), соединенная с плеядой чувствительности к колицинам через репродукционные признаки 3 и 7. Таким образом, в данном случае, как и для VI и VII групп клонов, главную роль в возникновении плеяд играют признаки чувствительности к колицинам и резистентности к антибиотикам. Скорее всего, это связано с тем, что указанные признаки являются моногенными и к тому же отражающими сходные функции, в связи с чем корреляция между ними выявляется четко и прослеживается на самых высоких уровнях.

В целом результаты биометрического анализа отражают условия существования изученных популяций кишечной палочки, позволяют оценить меру взаимозависимости отдельных маркеров и выявить направленность стабилизирующего отбора.

Последний в более выраженной форме проявляется в генетической системе VI и VIII групп клонов: меньшее по сравнению с VII группой количество межплеядных связей свидетельствует об ослаблении взаимного влияния признаков, а следовательно, и о наличии соответствующих изменений в генетической структуре. Следует подчеркнуть впервые выявленную особенность: наряду с элиминацией межплеядных связей у клонов, подвергшихся сравнительно интенсивному воздействию внешней среды, у клонов, на которые воздействовали менее интенсивно (клоны, выделенные из чистой проточной воды и водопроводной воды), можно уловить появление характерных связей. В качестве примера можно привести связи признака 7 с плеядой устойчивости к УФО. Возможно, что эти связи являются индикаторными.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Литературные данные и собственные наблюдения позволяют сделать ряд общих и частных, относящихся к рассматриваемой модели, выводов.

Сейчас рациональное природопользование мыслится как научно обоснованный, контролируемый и прогнозируемый процесс, и его обязательный компонент — комплексный мониторинг окружающей среды. Практическая основа мониторинга пока закладывается, теоретические представления в определенной мере сформулированы. По общему мнению, это должна быть пространственно-временная форма физико-химического и биологического контроля, осуществляемого одновременно, по единой системе на примере характерных антропогенно измененных зон и лишенных такой нагрузки фоновых территорий.

Биологический мониторинг является обязательной частью общего. Только на основе анализа прямых и обратных связей системы человек — природа можно проследить динамичное взаимовлияние антропогенно изменяемой среды на биому, адекватно измененной биомы на окружающую природу — среду обитания человека — и оптимизировать этот процесс. Проводимый по пространственно-временной схеме одновременно, в тех же локалитетах, что и физико-химический, он должен выполняться на уровнях молекулярном, субклеточном, клеточном, тканевом, популяционном и биогеоценотическом.

С учетом разнообразия существующих форм организации живой материи особое значение приобретает выбор так называемых индикаторных видов. Очевидно, что их число должно быть ограниченным и в то же время позволяющим судить о реакции основных групп биом на меняющуюся среду обитания. Это должны быть представители всех основных уровней трофической пирамиды, разной сложности организации — доклеточной макромолекулярной (вирусы, фаги), одноклеточный (про- и эукариоты) и организмы с высоким уровнем развития (растения, животные, человек). При выборе моделей приоритет должен быть на стороне доминирующих видов, численность и вклад которых в обмен веществ, энергии в природе особенно значимы. Малочисленные виды представляют интерес с точки зрения участия их в трофических цепях и для сохранения общего генофонда земли.

Отсюда следует, что слежение за численностью и генофондом природных микробных популяций — необходимая составная

часть биологического и общего мониторинга окружающей среды. Несмотря на то, что микроорганизмы являются обязательным компонентом любой экосистемы всех географо-экономических зон и численность их огромна, их вклад в обмен веществ, энергии, в биотрансформацию антропогенных загрязнений, в техногенную эволюцию биосферы пока даже не оценен полностью.

Реализуя *r*-стратегию, микроорганизмы сочетают относительную простоту организации с разнообразной биохимической активностью, общей колоссальной продуктивностью. Для них характерны существование про- и эукариотических видов, наличие ядерной и плазмидной ДНК, высокая доля регуляторных генов с эффективным переключением путей метаболизма в меняющейся среде обитания, способность утилизировать самые разнообразные субстраты (в том числе антропогенные поллютанты), возможность существовать при широких диапазонах температур, pH, давления, концентрации солей, уровней радиации, а также десятилетиями выживать в экстремальных условиях среды в форме спор. Все это в сочетании с широкой мутационной изменчивостью, различными формами генетического обмена в популяциях (конъюгацией, трансдукцией, трансформацией), с максимальным темпом репродукции и быстрой сменой поколений при эффективном отборе позволяет отнести их к «процветающим» видам эпохи технической революции.

Выбор индикаторных видов в разнообразном микробном мире — дело сложное и пока далеко от своего решения. Очевидно, полный набор индикаторных микробных видов должен включать виды с макромолекулярной и клеточной организацией (ДНК- и РНК-содержащие вирусы, фаги и про-, эукариотические клеточные формы), сапрофитические и патогенные, деструкторов и синтезирующие варианты микроорганизмов, санитарно-показательные характерных представителей больших семейств, родов и классов.

Пока можно утверждать, что перечисленным требованиям в полной мере отвечает кишечная палочка — постоянный спутник и симбионт людей и животных, для которой толстый кишечник является оптимальной средой развития, высокого накопления и постоянной эмиграции. Присутствие *E. coli* в этой среде необходимо для подавления там патогенных организмов, формирования характерного микробного пейзажа и нормальной жизнедеятельности хозяина. И вместе с тем этот вид подвержен многим характерным влияниям меняющейся среды обитания — действию прямых и потенциальных мутагенов, радиации, действию большинства ксенобиотиков, кишечных инфекций, изменению состава пищи, режима питания и др. Регулярно и в больших количествах поступая в окружающую среду, кишечная палочка выступает общепризнанным санитарно-индикаторным видом, «полномочным представителем» семейства Enterobacteriaceae,

включающего 140 сходных по биологии видов, постоянным компонентом большинства экологических ниш, в которых находит все условия для длительного переживания, а иногда — и развития.

В бытовых сточных водах, смешанных промстоках всех производств, в открытых водоемах и водопроводной воде кишечная палочка подвергается действию основных физических, химических и биологических факторов меняющейся среды обитания и наряду с другими компонентами биоты должна адекватно реагировать на эти изменения. В основе адаптивной эволюции лежит «закон»: чтобы выжить, надо быстро измениться. Лишь виды, сохраняющие репродуктивные потенции и способные эффективно и адекватно генетически перестраиваться, могут сохраняться в антропогенно меняющейся среде обитания. Поэтому выявление и регистрация экологически значимых, фенетически количественно выраженных и генетически детерминированных признаков природных субпопуляций таких видов поможет расшифровать механизмы прогрессивной эволюции, а сопоставление характера изменений среды в экологических нишах с типом изменений генофонда «местных» субпопуляций — описать причинно-следственные связи, лежащие в основе такой адаптации. В дальнейшем такая информация в известной мере позволит объективно оценивать и прогнозировать эффекты разного типа антропогенных воздействий на генофонд субпопуляций и может быть использована при оценке эффективности природоохранных мероприятий.

В нашей работе впервые сделана попытка представить хотя и ориентировочную, но практически реальную схему мониторинга природных популяций *E. coli*, пригодную для этих целей, сопоставить в первом приближении физико-химические особенности сред обитания со структурой формируемых популяций, использовать вариационно-статистический и одну из форм многофакторного анализа — метод корреляционных плеяд — для дифференциации несущественных и достоверных различий, уровня взаимосвязей между отдельными признаками и степени их интеграции в геноме.

Исходя из поставленных задач, исследованию были подвергнуты два типа мест природного обитания *E. coli*. Первый охватывал основные звенья естественной цепи циркуляции вида: организм здоровых людей — бытовые сточные воды — воду открытого проточного водоема — водопроводную воду. Другой предусматривал анализ среды обитания и структуры субпопуляций в экстремальных условиях, как правило, обеспечивающих лишь переживание или крайне ограниченное развитие: смешанные промстоки типичных для района производств — нефтеперерабатывающего комплекса, крупного калийного комбината, биоотстойника АЭС. Из своеобразных экологических ниш обследовались люди с острыми кишечными заболевания-

ми, подвергнутые интенсивной химио- и антибиотикотерапии, а также сельскохозяйственные животные.

Физико-химический анализ основных параметров среды обитания, включая количественное определение и ориентировочную расшифровку природы некоторых мутагенов, селективных факторов среды и описание структуры локальных субпопуляций по 42 основным экологически значимым, фенетически количественно выраженным и генетически детерминированным признакам (доступным для оценки любой квалифицированной лаборатории), позволил накопить объем информации, достаточной для следующих предварительных выводов.

1. Разработана и впервые апробирована на примере популяций *E. coli* принципиальная схема пространственного мониторинга природных бактериальных популяций, охватывающая основные звенья естественной циркуляции этого вида и ряд типичных антропогенно измененных его экологических ниш. Дано их общее описание, а выделенные группы клонов охарактеризованы по значительному числу основных экологически значимых и генетически детерминированных признаков. Накопленная информация систематизирована и подвергнута одной из форм многофакторного анализа.

2. По нашим наблюдениям, общепринятая и рекомендуемая ГОСТ ориентировочная схема определения численности и видовой принадлежности *E. coli* не может быть положена в основу мониторинга природных субпопуляций этого вида. Лишь дополненная системой ТИМАЦ она позволяет отобрать из общей массы выделенных клонов до 80—95 % коли-форм и получить реальное представление о численности вида, описать свойства субпопуляции, таксономическая принадлежность которой не вызывает сомнений.

3. Получены сведения о высокой гетерогенности природных популяций *E. coli* во всех исследованных экологических нишах. Как невозможно найти двух людей (кроме однояйцевых близнецов), одинаковых по гено- и фенотипу, так и среди 400 исследованных не зарегистрировано пары клонов, абсолютно идентичных по всем изученным признакам. Установленная высокая разнородность субпопуляций повышает «запас прочности», возможной полиадаптивности, расширяет границы существования вида в природе и делает его удобным и перспективным для использования как одного из индикаторных в общебиологическом мониторинге.

4. Для субпопуляции, развивающейся в организме здоровых лиц, характерны: значительный процент особей с неполным набором сахаролитических свойств и единичных ауксотрофов; исключительно высокие темпы репродукции в жидких, на плотных органических и меньшие — в минимальных глюкозо-солевых средах; значительная, но не максимальная полиантибиотикорезистентность; присутствие в субпопуляции особей, устой-

чивых к пенициллину, новомицину, эритромицину, канамицину, тетрациклину, левомицетину, неомицину, стрептомицину, мономицину, при среднем уровне их резистентности к этим биопрепаратам. Среди исследованных клонов эта группа содержала максимальное число особей — антагонистов к сопутствующей патогенной и условно патогенной кишечной флоре — и колициноустойчивых вариантов. Эти факты вполне объясняют важную роль *E. coli* в формировании устойчивого кишечного микробиоценоза и характеризуют данную ФЭН как оптимальную для размножения и миграции *E. coli* в смежные зоны.

5. Среди клонов, выделенных от лиц, перенесших острые кишечные заболевания, содержание мутантных форм, не утилизировавших некоторые углеводы, многоатомные спирты, было невысоким, а ауксотрофные варианты отсутствовали. Наряду с высокими репродуктивными свойствами в полных органических средах они отличались от клонов, выделенных от здоровых лиц, выраженной потенцией к развитию в минимальных глюкозосолевых средах. Клоны обладали максимальной полиантибиотикорезистентностью, уровень их устойчивости был наивысшим среди исследованных групп. Интересно, что устойчивость распространялась и на ряд антибиотиков, которые для лечения этих больных не использовались. Такое своеобразное явление можно объяснить плазмидной природой резистентности, когда широкая передача фактора Hfr одновременно формирует устойчивость в отношении нескольких антибиотиков.

При довольно высоком уровне антагонизма в отношении сопутствующей кишечной флоры среди клонов этой группы отмечено максимальное количество вариантов, устойчивых к колицинам *J*, *V*, *D*, а также с пониженной резистентностью к действию УФО и активного хлора. Несомненно, что инфекционный процесс, нарушение пищеварения, частый контакт с биологически активными ингибиторами, селективными факторами и нарушение микробного пейзажа влияют на численность, структуру и общебиологическую активность субпопуляций *E. coli*, формируя своеобразный микробиоценоз с адекватной структурой популяции.

6. Судя по составу, бытовые сточные воды следует рассматривать как среду переживания и отбора. Возможно, поэтому в них не выявлены ауксотрофы и мала концентрация форм, дефектных по утилизации сахаров и многоатомных спиртов. «Местные» клоны значительно уступали вариантам из предыдущих ФЭН по репликативным свойствам в полных и минимальных средах, концентрации полиантибиотикорезистентных форм, уровню устойчивости к отдельным антибиотикам и содержанию вариантов, резистентных к колицинам *D* и *K*, выраженности антагонизма в отношении сопутствующей микрофлоры. Вполне правомерно предположение, что своеобразный состав среды обитания в бóльшей мере влиял на плазмидный компонент гено-

ма, ведя к его элиминации и формируя субпопуляцию с характерной структурой, в высокой степени соответствующей среде обитания.

7. Особый интерес как среда обитания *E. coli* представляет проточная вода открытых водоемов. Тем не менее в литературе мы не нашли описания сравнимых наблюдений. Результаты многократных анализов состава и свойств воды, а также низкий радиационный фон, отсутствие достоверного повышения мутагенных свойств позволяют отнести воду в месте взятия проб к сравнительно чистой фоновой среде, пригодной для водоснабжения населения. Выделенные из воды клоны *E. coli* отличались высоким уровнем гетерогенности почти по всем исследованным признакам: биохимической активности, репродуктивным свойствам в органических и глюкозо-солевых средах, антибиотикорезистентности, колициногенности, устойчивости к ультрафиолетовому облучению, активному хлору. Это может быть следствием массовой иммиграции вида из разных экологических ниш при отсутствии векторного отбора в исследуемой среде обитания. По большинству количественно оцененных признаков данная группа клонов занимала промежуточное положение среди восьми исследованных.

8. Для клонов, выделенных из водопроводной воды, характерна полноценная сахаролитическая активность, в субпопуляции не выявлены ауксотрофные варианты. Репликация в жидких и на плотных органических средах меньше, а в минимальных глюкозо-солевых средах больше, чем у клонов, изолированных от здоровых лиц, реконвалесцентов, сельскохозяйственных животных и из бытовых сточных вод. Субпопуляция содержала относительно малое число полиантибиотикорезистентных форм, уровень их устойчивости невелик, как и содержание вариантов, антагонистически активных в отношении сопутствующей кишечной микрофлоры и колициноустойчивых особей. Очевидно, существование в солевой среде, обедненной органикой, при меньшем уровне контактов с одновидовыми и близкородственными формами наложило характерный отпечаток на геноструктуру и физиологическую активность этой субпопуляции *E. coli*.

9. В промстоках нефтехимического комплекса с высоким содержанием химических мутагенов и относительно низким уровнем усвояемой органики примерно одна пятая часть выделенных клонов имела дефекты в системах утилизации одного-двух углеводов. В субпопуляции отсутствуют ауксотрофы, очевидно, исчезнувшие в процессе отбора в среде, не содержащей необходимых органических компонентов. При переносе в органическую среду клоны как по воспроизводимой максимальной плотности культур, так и срокам ее достижения занимали последнее место среди восьми исследованных групп. Обратная картина зарегистрирована при их инокуляции в минимальные

глюкозо-солевые среды. Уровень антибиотикорезистентности этой группы клонов был относительно невысоким, а колицинoустойчивость выраженной, что не противоречит литературным данным о неодинаковой степени элиминации разного типа плазмид в своеобразных условиях обитания. Спектр антагонистической активности сужен, но в отношении ряда сопутствующих видов реализовывался максимально, что можно объяснить изменением соответствующего микробиоценоза как среды обитания субпопуляций. В целом наблюдаемые изменения были адекватны среде обитания, однако отсутствие сопоставимых литературных данных, как и повторных наблюдений, вынуждает ограничиться лишь этим предварительным заключением.

10. Можно полагать, что относительно повышенный радиационный фон в сочетании со своеобразным составом среды обитания во многом определил структуру субпопуляций *E. coli* в биоотстойнике АЭС. Здесь число мутантных форм, дефектных по сахаролитическим свойствам, составило почти $^2/_5$, среди атипичных форм преобладали варианты, не способные утилизировать рамнозу, сахарозу, дульцит. Радиационный фон формировал и дефекты полигенных признаков, например, одновременное снижение быстроты репликации в полных органических и минимальных солевых средах для большого числа клонов в субпопуляции. В то же время выявлены относительно высокое содержание полиантибиотикорезистентных форм, их значительная устойчивость к антибиотикам, а также к действию большинства типов колицинов, что, видимо, свидетельствует о малых изменениях в плазмидных компонентах генома. Для выделенных клонов была характерна высокая антагонистическая активность и максимальная резистентность к действию малых и средних доз УФО. В целом клоны этой субпопуляции существенно отличались от других по ряду качественных и количественных характеристик.

11. Среди исследованных групп клоны, выделенные от сельскохозяйственных животных, имели наибольшее сходство с клонами, изолированными от здоровых людей. Как и последние, они энергично размножались в органических полных и замедленно — в глюкозо-солевых средах жидкой и плотной консистенции, неоднородны по сахаролитическим свойствам. Количество полиантибиотикорезистентных форм в субпопуляции незначительно, но резистентные формы обладают высоким уровнем устойчивости. Различаются они и по чувствительности к колицинам. Имеют узкий спектр антагонизма и относительную резистентность к малым и средним дозам активного хлора. В целом накопленная информация характеризует эту субпопуляцию как достаточно своеобразную, высокоадаптированную к развитию в богатой органической среде, мало подверженную селективному действию антибиотиков.

12. Для суждения об уровне адаптации субпопуляций в той

или иной среде обитания представляют интерес первые наблюдения о динамике отмирания музейных и «местных» клонов, вносимых в фильтраты соответствующих сред (воду открытых водоемов, промстоки ряда производств). Анализ результатов по срокам отмирания 50 % клеток показал, что для «местных» вариантов этот период равен 4—8, для музейных культур — 1,5—2 ч. Эта разница быстро уменьшалась при пассажах «местных» клонов в лабораторных условиях.

13. Как показали наблюдения, для расшифровки и понимания возможных причинно-следственных связей между составом среды и адекватным изменением численности, структуры локальных субпопуляций большое значение имеет достаточно разностороннее описание экологической ниши. Развернутый анализ физико-химического состава среды, описание радиационного фона, определение суммарного мутационного давления с дифференциацией вклада прямых, потенциальных мутагенов с учетом степени активации последних микросомальными системами разных групп организмов, расшифровка механизма их мутаций (замена пар оснований, сдвиг рамки считывания ДНК), как и оценка бактерицидности среды, общей направленности протекающих в ней селективных процессов, позволяют не только зарегистрировать факты, но и в какой-то мере представить механизмы, лежащие в основе описываемых изменений в структуре субпопуляций.

14. Описание структуры популяции должно базироваться главным образом на использовании уже сложившихся, общедоступных и подтвержденных многолетней практикой стандартных тестов. К последним можно отнести определение видовой принадлежности по системе ТИМАЦ с частичным использованием комплекта СИБ, применение эталонной коллекции штаммов Фредерика для колицинотипирования, использование выпускаемого большого комплекта дисков для количественного учета антибиотикочувствительности, учет уровня антагонизма в отношении сопутствующей микрофлоры при взаимодействии с общепринятыми в медицине коллекциями патогенных и условно патогенных культур. Для оценки суммарного действия химических мутагенов среды весьма удобен стандартный комплектный препарат, созданный Отделом экологии и генетики микроорганизмов ИЭРЖ УНЦ АН СССР, который содержит набор общепринятых лиофилизированных сальмонеллезных индикаторных штаммов, сухие разновидовые микросомальные фракции и другие компоненты, необходимые для стандартных количественных оценок уровня суммарных химических мутагенов, дифференцированного определения прямых и потенциальных мутагенов, степени активации последних организмами разной сложности организации и общей бактерицидности жидких сред.

15. При проведении пространственно-временного мониторинга бактериальных популяций для регистрации получаемых ре-

зультатов оправдал себя примененный нами метод графических полигонов, обеспечивающий сравнение различных субпопуляций в достаточно наглядной форме.

16. Использование метода корреляционных плеяд и принципа «максимального корреляционного пути» показало, что избранный метод биометрического анализа является, несомненно, полезным при изучении различий в генетической структуре субпопуляций кишечной палочки. Помимо получения конкретных данных, изложенных выше, по отдельным группам клонов он позволил сделать ряд заключений общего плана, суть которых сводится к следующему.

Наиболее характерный биометрический показатель воздействия неблагоприятных факторов на субпопуляции кишечной палочки — отсутствие или очень небольшое количество (1—2) связей между признаками, отражающими репродукционные свойства, небольшое количество и ранняя (по мере повышения корреляционного уровня) элиминация межплеядных связей. Это подтверждают анализ «развернутых» плеяд, их структура, а также расчет относительных показателей (табл. 5.2—5.4), что приводит, как уже отмечалось, к большей независимости отдельных комплексов генетических признаков (корреляционных плеяд), указывающей на повышение относительной роли внутренних факторов развития. В результате субпопуляции, испытывающие неблагоприятное воздействие, становятся менее зависимыми от него. Причем в первую очередь речь идет о неблагоприятных воздействиях, имеющих антропогенный характер (радиация, антибиотики). Действительно, наиболее бедны межплеядными связями IV и V группы клонов. Наименьшему воздействию подвергались I и VII группы клонов, выделенные из чистой проточной и водопроводной воды: именно у них выявлено наибольшее количество сохраняющихся по мере повышения корреляционного уровня межплеядных связей.

Необходимо иметь в виду одно обстоятельство: когда мы говорим «неблагоприятное воздействие», следует четко различать степень воздействия и его характер. Например, и чистая проточная речная вода, и водопроводная не благоприятны для существования кишечной палочки и также оказывают на переживающие субпопуляции этого микроорганизма неблагоприятное воздействие. Но результат воздействия иной: наблюдается выраженная функциональная интеграция участков генома, о которой свидетельствует развитая система межплеядных связей[4]. По-видимому, следующие закономерности можно принять как своеобразные пределы: большое количество межплеядных связей и их относительно высокий удельный вес, сохраняющийся по мере повышения корреляционного уровня,— свидетельство

[4] При этом сохраняются индивидуальные различия в структуре взаимосвязей по отдельным группам клонов.

«чистоты» той среды, из которой выделены клоны, демонстрирующие указанные свойства. Наоборот, малое количество связей, их быстрая элиминация у клонов — показатели интенсивного загрязнения.

Еще один момент может оказаться полезным при оценке степени и характера воздействия окружающей среды на индикаторный микроорганизм. Если мы последовательно расположим изученные группы клонов кишечной палочки и рядом укажем количество достоверных и межплеядных (в скобках) корреляционных связей, то получим [5]:

I	(вода открытого водоема)	— 131 (50)
II	(промстоки нефтекомплекса)	— 118 (20)
III	(организм здоровых людей)	— 65 (8)
IV	(организм реконвалесцентов ОКЗ)	— 144 (9)
V	(промстоки АЭС)	— 107 (9)
VI	(бытовые сточные воды)	— 86 (7)
VII	(водопроводная вода)	— 213 (76)
VIII	(организм сельскохозяйственных животных)	— 84 (30)

Видно, что для I и VII групп клонов, выделенных соответственно из чистой проточной речной и водопроводной воды, характерно сочетание «большое количество межплеядных связей — большое количество достоверных связей», а для групп клонов, подвергавшихся воздействию антибиотиков (IV) и радиации (V) — сочетание «малое количество межплеядных связей — большое количество достоверных связей». Отдельно стоят три группы клонов (III, VI, VIII) с относительно малым количеством достоверных и межплеядных связей. Вероятно, такая особенность характерна для клонов кишечной палочки, выделенных из наиболее благоприятной для них среды — кишечника людей и животных (III и VIII группы). На характеристику VI группы клонов накладывает отпечаток источник, из которого микроорганизмы поступают в бытовые сточные воды, а также относительно благоприятные условия для сохранения этой исходной характеристики. К сожалению, объем выборки (8 групп клонов) пока не позволяет указать точные количественные «границы», характеризующие степень чистоты или загрязненности источника выделения.

Метод корреляционных плеяд дает возможность в некоторых случаях конкретно указать характер воздействия (по крайней мере — его главные факторы). Например, у группы клонов, выделенных от людей, перенесших ОКЗ, четко определяются крупные плеяды антибиотикорезистентности и чувствительности к колицинам. В других случаях (группа клонов, выделенная из отстойника АЭС, где один из ведущих факторов воздействия —

[5] См. также табл. 5.2.

радиация) более точную информацию дает метод графических полигонов.

Недостаток метода корреляционных плеяд — трудность интерпретации внутренней структуры плеяд и генезиса связей. Однако и любой другой биометрический метод вряд ли может быть более информативным. Поэтому для решения вопросов о степени и характере влияния отдельных факторов на определенные свойства микроорганизмов и коррелятивную изменчивость генетических маркеров наряду с изучением природных популяций кишечной палочки необходимо проводить экспериментальные модельные исследования.

17. Разрабатываемая нами система мониторинга природных популяций *E. coli* еще несовершенна, и желательны проведение повторных наблюдений (временной мониторинг), расширение списка характерных антропогенно измененных экологических ниш, использование методов дифференциации хромосомной и плазмидной наследственности, оценка возможного влияния разных загрязнений на основные формы межклеточного генетического обмена, применение фаго- и серотипажа, учета не только поли-, но и моногенных признаков (ферментного и изоферментного анализа), модельные опыты с основными поллютантами.

Рассматривая свои исследования как первый опыт построения системы мониторинга природных популяций микроорганизмов, мы будем благодарны читателям за возможные замечания и пожелания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Материалы декабрьского (1983 г.) Пленума ЦК КПСС.— Правда, 1983, 27 дек.

2. Алпатьев А. М. Развитие, преобразование и охрана природной среды. Л.: Наука, 1983. 239 с.

3. Алтухов Ю. П. Генетический мониторинг популяций в связи с состоянием окружающей среды.— В кн.: Генетика и благосостояние человечества. М., 1981, с. 205—220.

4. Бальчюнене Л. С., Айдетите Г. И., Ранчялис В. П. Изучение чувствительности к мутагенам и мутабильности мутантных линий ячменя с различной историей их получения.— В кн.: Чувствительность организмов к мутагенным факторам и возникновение мутаций: [Тез. докл. 3-й конф. по теории мутагенеза]. Вильнюс, 1980, т. 4, с. 99—100.

5. Бальчюнене Л. С., Ранчялис В. П. Исследование изменчивости и продуктивности низкомутабельных и высокомутабельных линий ячменя.— В кн.: Повышение эффективности методов генетики и селекции в животноводстве: [Тез. докл. науч. конф.]. Байсогала, 1978, ч. 1, с. 149—150.

6. Бертокс Р., Радд Д. Стратегия защиты окружающей среды от загрязнений. М.: Мир, 1980. 606 с.

7. Бовтрамович И. Б. Изменчивость белого люпина в M_2 при действии мутагенными факторами.— В кн.: Земледелие и растениеводство в БССР. Минск, 1980, с. 48—54.

8. Большаков В. Н. Экологическое прогнозирование. М.: Знание, 1983. 64 с. (Новое в жизни, науке, технике. Сер. Биология; № 5).

9. Бочков Н. П. Химический мутагенез у человека и прогнозирование его эффектов.— В кн.: Генетика и благосостояние человечества. М., 1981, с. 185—193.

10. Бочков Н. П. Внешняя среда и наследственность человека.— Наука и жизнь, 1982, № 12, с. 90—97.

11. Бочков Н. П., Шрам Р., Кулешов Н. П. и др. Система оценки химических веществ на мутагенность: общие принципы, практические рекомендации и дальнейшие разработки.— Генетика, 1975, т. 11, № 10, с. 156—169.

12. Брода П. Плазмиды. М.: Мир, 1982. 220 с.

13. Бурдин К. С., Крупина М. В., Савельев И. В. Макроводоросли Черного моря как объекты для биогеохимического мониторинга тяжелых металлов.— В кн.: Человек и биосфера. М., 1982, вып. 7, с. 139—149.

14. Бурдин К. С., Савельев И. В. Международные и национальные проекты мониторинга загрязнения морской среды.— В кн.: Проблемы изучения действия загрязнения на экосистемы северных морей. Апатиты, 1977, с. 307.

15. Всесторонний анализ окружающей природной среды: Труды Второго советско-американского симпозиума. Л.: Гидрометеоиздат, 1975. 308 с.

16. Вултерин З. Исследования, проводимые в трех биосферных заповедниках Чехословакии.— В кн.: Экологический мониторинг в биосферных заповедниках социалистических стран. Пущино, 1982, с. 279—282.

17. Выханду Л. К. Об исследовании многопризнаковых биологических систем.— В кн.: Применение математических методов в биологии. Л., 1964, с. 19—22.

18. Гиляров М. С., Криволуцкий Д. А., Покаржевский А. Д. Исследования почвенной фауны в биосферных заповедниках.— В кн.: Экологический мониторинг в биосферных заповедниках социалистических стран. Пущино, 1982, с. 161—164.

19. Гиляров М. С., Криволуцкий Д. А., Чернов Ю. И. Почвенно-зоологические исследования на биосферных стационарах.— В кн.: Биосферные заповедники: Труды I советско-американского симпозиума, 5—17 мая 1976 г. Л., 1977, с. 80—87.

20. Дербинова М. П., Сороковникова Н. В. Экономико-географическая характеристика экологического региона.— В кн.: Региональный экологический мониторинг. М., 1983, с. 264.

21. Дроздов А. В., Исаков Ю. А. Районирование территории СССР по условиям формирования фоновых уровней загрязнения биосферы и размещение биосферных заповедников.— В кн.: Экологический мониторинг в биосферных заповедниках социалистических стран. Пущино, 1982, с. 72—85.

22. Дубинин Н. П. Общая генетика. Изд. 2-е. М.: Наука, 1976. 590 с.

23. Дубинин Н. П. Генетические последствия загрязнения окружающей среды в популяциях человека.— В кн.: Информационное обеспечение генетического мониторинга. Влияние загрязнения окружающей среды на здоровье населения в сельской местности. Ереван, 1979, с. 3—6.

24. Дубинин Н. П., Алтухов Ю. П. Мониторинг генетических последствий загрязнения окружающей среды: общий подход.— В кн.: Генетические последствия окружающей среды. М.: Мысль, 1977, вып. 2, с. 14—46.

25. Дубинин Н. П., Алтухов Ю. П., Салменкова Е. А. и др. Анализ мономорфных маркеров генов в популяциях как метод оценки мутагенности среды.— Докл. АН СССР, 1975, т. 225, с. 693—696.

26. Заблоцкая Л. В. Организация экологического мониторинга в Приокско-Террасном биосферном заповеднике.— В кн.: Экологический мониторинг в биосферных заповедниках социалистических стран. Пущино, 1982, с. 291—305.

27. Засухина Г. Д., Синельщикова Т. А. Метод обределения разрывов ДНК как тест-система для выявления мутагенного потенциала химических веществ: Методическое указание. М., 1980. 11 с.

28. Израэль Ю. А. Экология и контроль состояния природной среды. Л.: Гидрометеоиздат, 1979. 376 с.

29. Израэль Ю. А. Глобальная система наблюдений. Прогноз и оценка изменений состояния окружающей природной среды. Основы мониторинга.— Метеорология и гидрология, 1974, № 7, с. 3—8.

30. Израэль Ю. А., Соколов В. Е. Проблемы глобального мониторинга и экологических исследований на базе биосферных заповедников.— В кн.: Интеграция наук в программе «Человек и биосфера». М., 1981, с. 46—55.

31. Интеграция наук в программе «Человек и биосфера», Варшава, 1979. М., 1981. 184 с.

32. Кайрюкштис Л. А., Валюс М. И., Бумблаускис Т. Т. Типовая программа комплексных исследований заповедников (на примере заповедника Жувинтас).— В кн.: Экологический мониторинг в биосферных заповедниках социалистических стран. Пущино, 1982, с. 282—291.

33. Каллак Х. И. О дифференциальной мутагенности химикатов на примере некоторых модельных тест-систем у растений.— В кн.: Чувствительность организмов к мутагенным факторам и возникновение мутаций: [Тез. докл. 3-й конф. по теор. вопр. мутагенеза]. Вильнюс, 1980, т. 4, с. 61—62.

34. Каллак Х. И., Ярвекюльг Л., Пальм М. и др. О возможности применения культур растительных тканей в качестве тест-системы для изучения мутагенности химикатов.— В кн.: Генетические последствия окружающей среды. М., 1980, вып. 3, с. 97—101.

35. Каратай С. С. Экологическая топография и народнохозяйственное значение общей микрофлоры основных ценотических сред животноводческих ферм. Харьков, 1979. 111 с.

36. Каталог мутагенов/Под ред. акад. Н. П. Дубинина. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1982. Т. 1. 101 с.

37. Каталог мутагенов/Под ред. акад. Н. П. Дубинина. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1983. Т. 2. 120 с.

38. Каталог мутагенов/Под ред. акад. Н. П. Дубинина. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1983. Т. 3. 120 с.
39. Каталог мутагенов/Под ред. проф. Р. А. Пшеничнова. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1983. Т. 4. 140 с.
40. Керкис Ю. Я. О генетических последствиях загрязнения среды.— В кн.: Проблемы сохранения окружающей среды. Новосибирск, 1977, с. 60—67.
41. Ковда В. А., Керженцев А. С. Экологический мониторинг: концепция, принципы организации.— В кн.: Региональный экологический мониторинг. М., 1983, с. 7—14.
42. Козаченко В. И., Пашин Ю. В. Особенности выявления прямых мутаций в лоскуте ГТФРТ.— Успехи современной генетики, 1980, № 9, с. 154—162.
43. Корогодина Ю. В., Съяксте Т. Г. Мыши линии 101/Н — возможная модель заболеваний человека с хромосомной нестабильностью.— Генетика, 1981, т. 17, № 5, с. 915—919.
44. Костенчук Н. А. Дендроценологический мониторинг в биосферных заповедниках и методы лесной таксации.— В кн.: Экологический мониторинг в биосферных заповедниках социалистических стран. Пущино, 1982, с. 175—177.
45. Кудин М. В., Лавов М. А. К программе экологического мониторинга в Березинском биосферном заповеднике.— В кн.: Экологический мониторинг в биосферных заповедниках социалистических стран. Пущино, 1982, с. 305—309.
46. Лекявичюс Р. К., Журков В. С., Ревазова Ю. В. и др. Аномалии головок спермиев как тест-метод для оценки активности мутагенов среды: Методические указания. Вильнюс, 1983. 13 с.
47. Лопатина Е. Б. Пространственный анализ интегральной антропогенной нагрузки.— В кн.: Региональный экологический мониторинг. М., 1983, с. 24—28.
48. Лусс Е., Шамина З. Сообщение о I Всесоюзном совещании по генетике соматических клеток в культуре, Звенигород, 1980, 18—21 октября.— Генетика, 1981, т. 17, № 11, с. 2061—2063.
49. Мамаев Б. М., Медведев Л. Н. Организация энтомологических исследований в биосферных заповедниках.— В кн.: Биосферные заповедники: Труды I советско-американского симпозиума, 1976, 5—17 мая. Л., 1977, с. 87—93.
50. Молчанова И. В., Караваева Е. Н., Чеботина М. Я. и др. Изучение распределения ^{90}Sr и ^{137}Cs по компонентам болотно-речной экосистемы.— Экология, 1982, № 2, с. 45—49.
51. Недялков С. Т. Биосферные заповедники Народной Республики Болгарии.— В кн.: Экологический мониторинг в биосферных заповедниках социалистических стран. Пущино, 1982, с. 252—256.
52. Нил Дж. Некоторые вопросы, касающиеся мониторинга изменения частоты мутаций в популяциях человека.— В кн.: Генетика и благосостояние человечества: Труды 14-го Междунар. конгресса, Москва, 1978, 21—30 августа. М., 1981, с. 193—205.
53. Норейка Э. И., Сабаляускас И. Ю., Пейкштените В. И. и др. Изучение индивидуальной чувствительности растений к мутагенам.— В кн.: Чувствительность организмов к мутагенным факторам и возникновение мутаций: [Тез. докл. 3-й конф. по теор. вопр. мутагенеза]. Вильнюс, 1980, т. 4, с. 102—103.
54. Одум Ю. Основы экологии. М.: Мир, 1975. 650 с.
55. Пилинская М. А. К вопросу о цитогенетическом эффекте пестицида пиримора в культуре лимфоцитов периферической крови человека in vivo и in vitro.— Цитология и генетика, 1982, т. 16, № 2, с. 38—42.
56. Попова И. А. Мутабильность ряда сортов овощного гороха.— В кн.: Чувствительность организмов к мутагенным факторам и возникновение мутаций: [Тез. докл. 3-й конф. по теор. вопр. мутагенеза]. Вильнюс, 1980, т. 4, с. 87.

57. Пресман А. С. Идеи В. И. Вернадского в современной биологии. М.: Знание, 1976. 63 с.
58. Прийлинн С., Шифрин Ю., Раудсепп А. и др. Изменчивость озимой пшеницы сорта Старке, индуцированная химическими мутагенами.— Изв. АН ЭССР. Биология, 1982, т. 31, № 3, с. 194—198.
59. Приставко В. П. Принципы и методы экспериментальной энтологии. Минск: Наука и техника, 1979. 133 с.
60. Приставко В. П. Организация наблюдений за состоянием энтомофауны в Березинском заповеднике.— В кн.: Экологический мониторинг в биосферных заповедниках социалистических стран. Пущино, 1982, с. 164—175.
61. Пузаченко Ю. Г., Звенигородская М. Э. Концепция биосферных заповедников в программных документах МАБ и географические принципы их выделения.— В кн.: Экологический мониторинг в биосферных заповедниках социалистических стран. Пущино, 1982, с. 46—64.
62. Пшеничнов Р. А. Конструирование и внедрение системы генетического мониторинга природных бактериальных популяций на Западном Урале.— В кн.: Перспективы развития исследований по естественным наукам на Западном Урале в свете решений XXVI съезда КПСС. Пермь, 1981, с. 67—68.
63. Пшеничнов Р. А. Суммарные мутагены.— В кн.: Каталог мутагенов. Свердловск, 1983, т. 3, с. 91—115.
64. Пшеничнов Р. А., Пашин Ю. В. Выявление и количественная оценка мутагенных факторов антропогенно меняющейся среды обитания на бактериальных тест-системах.— Экология, 1981, № 6, с. 72—79.
65. Пшеничнов Р. А., Колотов В. М., Барихин С. Я. и др. Микробная популяция — саморегулируемая система.— В кн.: Экология и популяционная генетика микроорганизмов. Свердловск. 1975. с. 3—13.
66. Пшеничнов Р. А., Колотвинов С. В. Изучение гетерогенности природных популяций кишечной палочки. Сообщение III. Биологический анализ взаимосвязи генетических маркеров.— В кн.: Гетерогенность популяций микроорганизмов. Свердловск, 1983, с. 18—27.
67. Региональный экологический мониторинг. М.: Наука, 1983. 258 с.
68. Роик Н. В., Алексеева Е. С. Хлорофильные мутации гречихи, их частота и спектр.— Цитология и генетика, 1982, т. 16, № 2, с. 55—57.
69. Романика Л. И., Голгофская К. Ю., Кудактин А. Н и др. Программа экологического мониторинга в Кавказском биосферном заповеднике.— В кн.: Экологический мониторинг в биосферных заповедниках социалистических стран. Пущино, 1982, с. 309—337.
70. Роменский А. А. К вопросу информационного обеспечения генетического мониторинга.— В кн.: Информационное обеспечение генетического мониторинга. Влияние загрязнения окружающей среды на здоровье населения в сельской местности. Ереван, 1979, с. 48—50.
71. Саммош Л. В. Методические подходы к изучению мутагенной активности химических веществ.— В кн.: Новые методы гигиенического контроля за применением полимеров в народном хозяйстве: [Тез. докл. 3-го Всесоюз. совещ., Киев, 2—4 декабря 1981]. Киев, 1981, с. 314—317.
72. Санитарная микробиология/Под ред. Г. П. Калины, Г. Н. Чистович. М.: Медицина, 1969. 384 с.
73. Саноцкий И. В., Фоменко В. Н. Отдаленные последствия влияния химических соединений на организм. М.: Медицина, 1979. 230 с.
74. Сборник методик по генетике микроорганизмов/Под ред. Р. Клауса, У. Хейса. М.: Медицина, 1969. 270 с.
75. Сборник методик по генетике микроорганизмов. М.: Медицина, 1970. 247 с.
76. Способ индуцирования мутаций у растений/Н. Ф. Санаев: А.с. 884649 (СССР). Заявл. 23.10.80, № 2996639/30-15; Опубл. в Б. И., 1981, № 44, МКИ А011/06.
77. Соколов В. Е., Пузаченко Ю. Г., Чернов Ю. И. Фундаментальные положения экологии в связи с задачами биосферных заповедников.— В кн.: Экологический мониторинг в биосферных заповедниках социалистических стран. Пущино, 1982, с. 5—35.

78. Солдатов П. К., Данов Г. А., Алексаньян А. К. и др. Мутагенное действие некоторых дефолиантов, применяемых в хлопководстве.— Узб. биол. журн., 1982, № 2, с. 55—57.
79. Старцев Г. А., Усманова О. В. Влияние генотипических особенностей арабидопсиса на его мутабильность.— В кн.: Чувствительность организмов к мутагенным факторам и возникновение мутаций: [Тез. докл. 3-й конф. по теор. вопр. мутагенеза]. Вильнюс, 1980, т. 4, с. 95.
80. Терентьев П. В. Изменчивость раковины *Limnae stagnalis* L.— Русский гидробиол. журн., 1928, т. 7, № 3/4, с. 81—86.
81. Терентьев П. В. Метод корреляционных плеяд.— Вестник ЛГУ. Сер. Биология, 1959, вып. 2, № 9, с. 137—141.
82. Терентьев П. В. Дальнейшее развитие метода корреляционных плеяд.— В кн.: Применение математических методов в биологии. Л., 1960, с. 27—36.
83. Трасс Х. Х. Лихеноиндикация как метод биомониторинга динамики окружающей среды.— В кн.: Экологический мониторинг в биосферных заповедниках социалистических стран. Пущино, 1982, с. 159—160.
84. Тумаков А. А., Постнов И. Е., Осипова Н. И. и др. Микроорганизмы — индикаторы токсичности природных и сточных вод.— Гидробиол. журн., 1981, т. 17, № 5, с. 88—93.
85. Черемисина В. Т., Кравченко И. В., Козлов А. Т. К биоиндикации загрязнения на экологической и эколого-генетической основах.— В кн.: Экологическая генетика растений и животных: [Тез. докл.]. Кишинев, 1981, ч. 2, с. 176—177.
86. Шимон Т., Секе З. Биосферные заповедники Венгерской Народной Республики.— В кн.: Экологический мониторинг в биосферных заповедниках социалистических стран. Пущино, 1982, с. 256—274.
87. Ширинян Г. С., Батикян Г. Г., Арутюнян Р. М. Принципы популяционного мониторинга интенсивности химического мутагенеза в Армянской ССР.— В кн.: Вопросы молекулярно-клеточной биологии. Ереван, 1979, с. 81—82.
88. Шрам Р. Необходимая и достаточная тест-система для оценки генетического риска, вызванного химическим загрязнением среды.— В кн.: Генетика и благосостояние человечества. М., 1981, с. 220—236.
89. Штеккер Г. Развитие биосферных резерватов и проблемы биологического мониторинга в ГДР.— В кн.: Экологический мониторинг в биосферных заповедниках социалистических стран. Пущино, 1982, с. 112—115.
90. Экологический мониторинг в биосферных заповедниках социалистических стран. Пущино: Наука, 1982. 343 с.
91. Arany J., Jenar-Du Buisson G. Sperm abnormalities and prenatal losses in the mouse.— Mutat. Res., 1982, v. 97, N 3, p. 166.
92. Arisawa M., Fujiu M., Suhara Y. et al. Differential mutagenicity of reaction products of various pyrazolones with nitrite.— Ibid., 1978, v. 57, N 3, p. 287—296.
93. Baan R. A., Berg P. T. M. van den, Fasbender M. J. et al. A sensitive immunological technique for detection of DNA damage.— Mutat. Res., 1982, v. 97, N 3, p. 168—169.
94. Barale R., Zucconi D., Loprieno N. A mutagenicity methodology for assessing the formation of N-dimethylnitrosamine in vivo.— Mutat. Res., 1981, v. 85, N 1, p. 57.
95. Barale R., Zucconi D., Romano M. et al. Formazione «in vivo» di nitrosocomposti ad azione mutagena diretta: loro valutazione con un tesi di host mediated assay.— Atti. Assoc. genet., 1980, v. 26, N 1, p. 31—32.
96. Barnett J. W. Jr., Ward B. Jr. Quantitation of mammalian cell recoveries in the peritoneal host, ediated assay.— Environ. Mutagenes., 1980, v. 2, N 2, p. 266.
97. Battaglia B., Bisol P. M., Fossato V. U. et al. Studies on the genetic effects of polution in the sea.— Rapp. et proc. verb. réun. Cons. int. explor. mer., 1980, v. 179, p. 267—274.

98. Bayne B. L. The potential of bivalve molluscs for monitoring the effects of pollution.— Marine Environ. Qual. Committee, 1978, p. 207—230.
99. Binkert F., Burkhart J., Mallin H. V. A new sperm abnormality test using enzymatic staining.— Environ. Mutagenes., 1982, v. 4, N 3, p. 324.
100. Bishop J. B., Kodell R. L., Domon O. E. Differential response in mouse dominant lethal testa as a function of the strain of female and/or male used.— Environ. Mutagenes., 1981, v. 3, N 3, p. 374.
101. Black W. A. P., Mitchell R. L. Trace element in the common brown algae and sea water.— J. Mar. Biol. Assoc. U. K., 1952, v. 30, p. 141—157.
102. Bolt H. M., Laib R. J. Covalent binding of drug metabolites to DNA a tool of predicative value.— Arch. Toxicol., 1980, v. 46, N 1—2, p. 171—180.
103. Brayan G. W., Hummerstone L. G. Brown seaweed as an indicator of heavy metals in estuaries in south-west England.— J. Mar. Biol. Assoc. U.K., 1970, v. 53, p. 37—49.
104. Brogger A. The gap/break scoring problem in chromosome monitoring.— Mutat. Res., 1982, v. 97, N 3, p. 175.
105. Brouns R. M. E., Bos R. P., Henderson P. Th. Induction of DNA excision repair in isolated rat hepatocytes by some carcinogenic compounds.— Mutat. Res., 1981, v. 74, N 3.
106. Bryan G. M. The adsoption of zinc and other metals by the brown seaweed *Laminaria digitata*.— J. Mar. Biol. Assoc. U.K., 1969, v. 49, N 4, p. 61—63.
107. Burlhart J. G., Malling H. V. Spontaneous and induced derepression of LDH-X in hepatocytes of DBA/2J mice.— Genetics (USA), 1980, v. 94, N 4, part 2, p. 151.
108. Butterworth B. E. Practical consideration in the use of mammalian cell mutagenesis assays in screening for potential mutagens/carcinogens.— In: Banbury Rept. 2. Mammal cell mutagenesis: naturation test syst. Cold spring harbor lab., 1979, p. 137—139, 140—143.
109. Butterworth J., Lester P., Nickless G. Distribution of heavy metals in the severn estuary.— Mar. Pollut. Bull., 1972, v. 3, p. 103—106.
110. Carver J. H., Adair G. M., Wanders D. Mutagenicity testing in mammalian cells. II. Validation of multiple drugresistance markers having practical application for screening potential mutagens.— Mutat. Res., 1980, v. 72, N 2, p. 207—230.
111. Castillo M. A. Influencia de la temperatura y duracion del tratamiento con mutagenicos quimicos sobre semillas de arroz.— Cent. agr. Rev. Min. educ. super. Rep. Cuba, 1981, v. 8, N 3, p. 21—26.
112. Cattanach B. M. Germ-cell stage sensitivity differences to ionizing radiation and environmental mutagens.— Mutat. Res., 1982, v. 97, N 3, p. 177.
113. Cole R. J., Taylor N., Cole J. et al. Short-term tests for transplacentally active carcinogens. I. Micronucleus formation in fetal and maternal mouse erythroblasts.— Mutat. Res., 1981, v. 80, N 1, p. 141—157.
114. Constantin M. J. Pollen embryogenesis to induce, detect and analyze mutants.— Environ. Health Perspect., 1981, v. 37, N 1, p. 37—49.
115. Constantin M. J., Nilan R. A. The chlorophyll-deficient mutant assay in barley *(Hordeum vulgare)*. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program.— Mutat. Res., 1982, v. 99, N 1, p. 37—49.
116. Constantin M. J., Owens E. Introduction and perspectives of plant genetic and cytogenetic assays. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program.— Ibid., p. 1—12.
117. Degrassi F., Rizzoni M. Micronucleus test in *Vicia faba* root tips to detect mutagen damage in fresh-water pollution.— Ibid., 1982, v. 97, N 1, p. 19—33.
118. De Mars R. Suggestions for increasing the scope of direct testing for mutagens and carcinogens in intact humans and animals.— In: Banbury

Rept. 2. Mammal cell mutagenesis: naturation test syst. Cold Spring harbor lab., 1979, p. 329—340.
119. De Serres F. J. Introduction utilization of higher plant systems as monitors of environmental mutagens.— Environ. Health Perspect., 1978, v. 27, N 1, p. 3—6.
120. Drobney V. K. Zea mays as a monitor for in situ mutagenesis.— Environ. Mutagenes., 1980, v. 2, p. 286—287.
121. Dribney V. K. Zea mays as a monitor for in situ mutagenesis.— 11th Annu. Meet. Eviron. Mutagen Soc., Nashville, Tenn., March 16—19, 1980. Program and Abstr. Bethesda, Md. s.a., p. 110.
122. Dubinin N. P. Mutagenesis and environment.— Mutat. Res., 1982, v. 87, N 3, p. 182—183.
123. Emerit I., Levy A., Vaux S. G. Chromosome damaging agent of low molecular weight in the serum of New Zealand black mive.— Cytogenet. and Cell Genet., 1980, v. 26, N 1, p. 41—48.
124. Emmerling-Thompson M., Nawrocky M. M. Genetic basis for using *Tradescantia* clone 4430 as an environmental monitor of mutagens.— J. Hered., 1980, v. 71, N 4, p. 262—265.
125. Falck K., Maki-Paakkanen J., Sorsa M. et al. Biological monitoring of mutagen exposure in the rubber industry.— Mutat. Res., 1982, v. 97, N 3, p. 186.
126. Frezza D., Presciuttini S., Fossato V. Risultati preliminari di uno studio dell'attivita mutagena dei mitili della laguna di Venezia.— Atti. Assoc. genet. ital., 1980, v. 25, N 1, p. 111—112.
127. Gommoner B., Vithayathil A. J., Dolara P. et al. Formation of mutagens in beef and exctract during cooking.— Science, 1978, v. 201, N 4359, p. 913—916.
128. Grassi F., Rizzoni M., Vitagliano E. Sudi preliminari per la messa a punio di un test di micronuclei in apici radicall di *Vicia faba*, per sviluppare una rilévazione doppia (a priori e a posteriori) del danno mutagenico.— Atti. Assoc. genet. ital., 1980, v. 25, N 1, p. 133—135.
129. Hecht F., McCaw B. K., Peakman D. et al. New translocations in human lymphocytes: a mutagen monitoring system.— Environ. Health Perspect., 1979, v. 31, N 1, p. 19—22.
130. Hook E. B. Human germinal mutations: monitoring for environmental effects.— Soc. Biol., 1979, v. 26, N 2, p. 104—116.
131. Hook E. B. Survival lance of human populations for germinal cytogenetic mutations.— In: 3rd Int. Conf. Environ. Mutagens, Tokyo, Mishima, Kyoto, Sept. 21—27, 1981. Abstr., S. 1, 1981, p. 16.
132. Hsie A. W., Casciano D. A., Couch D. B. et al. The use of Chinese hamster ovary cells to quantify specific locus mutation and to determine mutagenicity of chemicals. A report of the Gene-Tox Program.— Mutat. Res., 1981, v. 86, N 2, p. 193—214.
133. Ichikawa S. In situ monitoring with tradescantia around nuclear power plants.— Environ. Health Perspect., 1981, v. 37, N 1, p. 145—164.
134. Ishizawa W., Utsunomiya T., Kinoshita N. et al. Formation of methylnitrosocyanamide from methylguanidine and sodium nitrite in simulated gastric juice and in stomachs of rast: Quantitative estimation by a mutagenicity assay.— J. Nat. Cancer Inst., 1979, v. 62, N 1, p. 71—77.
135. Johnson F. M., Lewis S. E. Enzyme activity variations caused by mutant genes in mice.— Genetics (USA), 1980, v. 94, N 4, part 2, p. 51.
136. Johnson F. M., Lewis S. E. Mutation-rate determinations based on electrophoretic analysis of laboratory mice.— Mutat. Res., 1981, v. 82, N 1, p. 125—135.
137. Kada T., Kanematsu N. Reduction of N-methyl-N′-nitro-N-nitrosoguanidine induced mutations by cobalt chloride in *Escherichia coli*.— Proc. Jap. Acad., 1978, v. 54, N 5, p. 234—237.
138. Kada T., Morita K., Inoue T. Anti-mutagenic action of vegetable factor (*S*) on the mutagenic principle pf tryptophan pyrolysate.— Mutat. Res., 1978, v. 53, N 3, p. 351—353.

139. Klekowski E. J., Klekowski E. Jr. Mutation in ferns growing in an environment contaminated with polychlorinated biphenyls.— Amer. J. Bot., 1982, v. 69, N 5, p. 721—727.
140. Krausse G. W. Induktion, Selektion und Nutzung von Mutanten bei Soja 1. Mitt. Chlorophyllmutationsraten nach Samenbehandlung mit N-Nitroso-N-Methylharnstoff in Abhängigkeit von der Nachkommenschaftsgröße und der Chimärennatur der M-Pflanzen.— Arch. Züchtungsforsch., 1982, Bd 12, N 1, S. 11—12.
141. Kuleshov N. P. The frequency of chromosome and genome mutations in man.— Clin. Genet., 1981, v. 19, N 6, p. 516.
142. Legator M. S., Bueding E., Batzinger R. et al. An evaluation of the host-mediated assay and body fluid analysis. A report of the U.S. Environmental protection agency Gene-Tox program.— Mutat. Res., 1982, v. 98, N 3, p. 319—374.
143. Legator M. S., Malling H. V. Concepts in animal testing for chemical mutagens.— Genetics (Suppl.), 1969, v. 61, N 1, p. 35—36.
144. Leonard A. L'incidence de la civilisation industrielle sur le patrimoine génétique de l'homme.— Rév. quest. sci., 1981, v. 152, N 3, p. 385—402.
145. Lijinsky W., Andrews A. W. The mutagenicity of nitrosamides in *Salmonella typhimurium*.— Mutat. Res., 1979, v. 68, N 1, p. 1—8.
146. Lower W. R. Different mutational response of *Zea and Tradescantia* to environmental pollution.— 11th Annu. Meet. Environ. Mutagen Soc., Nashville, Tenn., Marcn 16—19, 1980. Program and Abstr. Bethesda, Md., s.a., p. 109.
147. Lyon M. F. International commission for protection against environmental mutagen and carcinogen. ICPEMC working paper 4/1. Sensitivity of various germ-cell stages o environmental mutagens.— Mutat. Res., 1981, v. 87, N 3, p. 323—345.
148. Ma Te-Hsiu. Tradescantia micronucleus bioassay and pollen tube chromatid aberration test for in situ monitoring and mutagen screening.— Environ. Health Perspect., 1981, v. 37, N 1, p. 85—90.
149. Ma Te-Hsiu. Vicia cytogenetics test for environmental mutagens. A report of the U.S. Environmental protection agency Gene-Tox program.— Mutat. Res., 1982, v. 99, N 3, p. 257—271.
150. Ma Te-Hsiu. Tradescantia cytogenetics tests (root-tip mitosis pollen mitosis, pollen rother-cell meiosis). A report of the U.S. Environmental protection agency Gene-Tox program.— Ibid., p. 293—302.
151. Ma Te-Hsiu, Anderson van A., Iftikharuddia A. In situ monitoring of air pollutants and screening of chemical mutagens using Tradescantia micronucleus bioassay.— 11th Annu. Meet. Environ. Mutagen Soc., Naschville, Tenn., March 16—19, 1980. Program and Abstr., Bethesda, Md., s.a., p. 111.
152. Malling V. In vivo point-mutation systeme. Proceedings of the Workshop. Methods in mammalian mutagenesis, Maine, Oct. 6—8, 1976.— Genetics (USA), 1979, v. 92, N 1, part 1, p. 67—71.
153. Martin C. N. The use of isolated rat hepatocytes to measure un scheduled dna synthesis as a screen for chemical carcinogens.— Toxicology, 1980, v. 18, N 3, p. 233—237.
154. Matter B. E., Tsuchimoto T. Mutagenicity test systems for the detection of chromosome aberrations in vivo.— Arch. Toxicol., 1980, v. 46, N 1—2, p. 89—98.
155. McCoy E. C., Hyman J., Rosenkranz H. S. Conversion of environmental pollutant to mutagens by visible light.— Biochem. Biophys. Res. Commun., 1979, v. 89, N 2, p. 729—734.
156. Morris A. W., Bale A. J. The accumulation of codimium, copper, marganese and zinc by *Fucus versiculosus* in the Bristol Channel Estuarine and Coast.— Mar. Sci., 1975, v. 3, N 2, p. 135.
157. Müller A. J., Grale R., Mendel R. R. et al. Nitrate reductase-deficient mutants isolated from cultured Micotiana tabacum cells.— In: Exp. Mutagenesis Plants. Proc. Symp. Varna, 1976. Sofia, 1978, p. 301—308.

158. Nagao M., Yahagi T., Sugimura T. Differences if effects of narharman with, various classes of chemical mutagens and amounts of S-9.— Biochem. Biophys. Res. Commun., 1978, v. 83, N 2, p. 373—378.
159. Nickless G., Stenner R., Terrille N. Distribution of cadmium, lead and zinc in the Bristol Channel.— Mar. Pollut. Bull., 1972, v. 3, p. 37—43.
160. Nilan R. A., Rosichan J. L., Arenaz P. et al. Pollen genetic markers for detection of mutagens in the environment.— Environ. Health Perspect., 1981, v. 37, N 1, p. 19—25.
161. Pereira M. A., Chang L. Covalent binding of chemical carcinogens and mutagens to rat bemoglobin.— Environ. Mutagenes., 1980, v. 2, N 2, p. 213.
162. Phillips D. J. The use of biological indicator organisms to monitor trace metal pollution in marine and estuarine environmental.— Environ. Pollut., 1977, v. 13, N 4, p. 74—79.
163. Plewa M. J. Specific-locus mutation assays in Zea rays. A report of the U.S. Environmental protection agency Gene-Tox program.— Mutat. Res., 1982, v. 99, N 3, p. 317—337.
164. Plewa M. J., Wagner E. D. Germinal cell mutagenesis in specially designed maize genotypes.— Environ. Health Perspect., 1981, v. 37, N 1, p. 61—73.
165. Pool B. L. Nachweis der mutagenen Wirkung von 5-Methoxypsoralen (Bergapten).— Arztl. Kosmetol., 1979, N 6, S. 349—350.
166. Preston A., Jefferies D. F., Dutton I. W. R. et al. British Isles coastal waters. The concentration of selected heavy metals in sea water, suspended matter and biological indicators a pilot survey.— Environ. Pollut., 1972, v. 3, p. 160.
167. Preston J. R., Au W., Bender N. A. et al. Mammalian in vivo and in vitro cytogenetic assays: A report of the U.S. EPA's Gene-Tox program.— Mutat. Res., 1981, v. 87, N 2, p. 143—148.
168. Prin J. G. Les mutations chez le roseicollis.— J. Oiseaux, 1982, v. 153, N 1, p. 15—17.
169. Redel G. P. A probe of mutagenicity with the plant arabidopsis.— Environ. Mutagenes., 1980, v. 2, N 2, p. 288.
170. Redel G. P., Eisenstark A. A probe of mutagenicity with the plant arabidopsis.— 11th Annu. Meet. Environ. Mutagen Soc., Nashville, Tenn., March 16—19, 1980. Program and Abstr., Bethesda, Md., s.a., p. 111—112.
171. Reish D. The use of benthis animals in monitoring the marine environment.— J. Environ. Plann. and Pollut. Contr., 1973, v. 1, N 3, p. 173—181.
172. Rinkus S. L., Legator M. S. Chemical characterization of 465 known or suspected carcinogens and their correlation with mutagenic activity in the *Salmonella typhimurium* system.— Cancer Res., 1979, v. 39, N 9, p. 182—183.
173. Rosin M. P., Stich H. F. Inhibitory effect of reducing agents of N-acetoxy- and N-hydroxy-2-acetylaminofluorens-induced mutagenesis.— Cancer Res., 1978, v. 38, N 5, p. 1307—1310.
174. Russell L. B., Matter B. E. Whole-mammal mutagenicity tests: evaluation of live methods.— Mutat. Res., 1980, v. 75, N 3, p. 279—302.
175. Saenco G. N., Kepyakova M. D., Makienko V. F. et al. Concentration of polyvalent metals by seaweed in Vostoc Bay, Sea of Japan.—Mar. Biol., 1976, v. 34, N 2, p. 32—36.
176. Schairer Z. A., Sautkulis R. C., Tempel N. R. A search for the identity of genotoxic agents in the ambient air using the Tradescantia bioassay.— In: Short-Term Bioassays Anal. Complex Environ. Mixtures 3. N.Y.; London, 1983, p. 211—228.
177. Schairer E. A., Sautkulis R. C., Tempel N. R. Detection and identification of genotoxic agents in ambient air using the Tradescantia bioassay.— Environ. Mutagenes., 1982, v. 3, N 3, p. 379.
178. Sharma C. B. S. R. Plant monitors of environmental mutagens.— In: Eval. mutagenic and carcinogenic potential Environ. Agents. collect. arric-

les and Lab. Meth. Workshop, BARC, Febr. 15—19, 1982. Bombay, 1982, p. 27—39.
179. Shelby M. D. Chemical mutagenesis in plants and mutagenicity of plant related compounds.— In: Environ. Mutagen information center, USA, 1976. 327 p.
180. Sheu C. W., Roginski H. B. Detection of translocation heterozygotes among male progeny of triethylenemelamine treated CD-1 mice: fertility cytological methods.— Genetics (USA), 1980, v. 94, N 4, part 2, p. 95—96.
181. Simmon V. E. In vitro mutagenicity assays of chemical carcinogeans and related compounds with *Salmonella typhimurium*.— J. Nat. Cancer Inst., 1979, v. 62, N 4, p. 893—899.
182. Sloofs W., Van Kreijl C. F. Monitoring the rivers Rhine and Meuse in the Metherlands for mutagenic activity using the Ames test in combination with rat or fish liver homogenates.— Aquat. Toxicol., 1981, v. 2, N 2, p. 89—98.
183. Sram R. J. Cytogenetic analysis of peripheral lymphocytes as a method for monitoring environmental levels of mutagens.— Ind. and Environ. Xenobiotics. Int. Conf. Prague, 27—30 May, 1980, Berlin e.a., 1981, p. 187—194.
184. Sram R. J., Kuleshov N. P. Monitovani genetickych ucinku faktoru zivotniho prostredi v lidske populaci.— Biol. listy, 1979, v. 44, N 2, p. 81—103.
185. Sram R. J., Kuleshov N. P. Monitoring the occupational exposure to mutagens by the cytogenetic analysis of human pepipheral lymphocytes in vivo.— Arch. Toxicol., 1980, v. 45, Suppl. 4, p. 11—18.
186. Taylor R. T., Wu R. Mutagen induced reversion of a Chinese hamster ovary triple auxotroph.— 11th Annu. Meet. Environ. Mutagen Soc., Nashville, Tenn., March 16—19, 1980. Program and Abstr. Bethesda, Md., s.a., p. 51.
187. Terentjev P. V. Biometrische Untersuchungen über die morphologischen Merkmale von Radibunda Pall.— Biometrica, 1931, Bd 23, N 1—2, S. 23—51.
188. Thust R., Mendel J., Kneist S. et al. Standartization of clastogenicity and SCE assays on mammalian cells in vitro — results and problems.— Arch. Toxicol., 1980, v. 45, Suppl. 4, p. 62.
189. Tyrer H. W. Technology for automated analysis of maize pollen used as a marker for mutation: 1. Flow-through systems.— Environ. Health Perspect., 1981, v. 37, N 1, p. 137—142.
190. Vigfusson N. V., Pernsteiner C. A., Vyse E. R. In vitro SCE assassment for determining the presence of mutagens in aquatic systems.— Genetics (USA), 1980, v. 94, N 4, part 2, p. 109.
191. Waksvik H., Boysen M. Cytogenetic analysis of lymphocytes from workers in a nickel refinery.— Mutat. Res., 1982, v. 103, N 2, p. 185—190.
192. Waters M. D., Simon V. F., Mitchel A. D. et al. An overvierw of short-term tests for the mutagenic and carcinogenic potential of pesticides.— J. Environ. Sci. and Health, 1980, v. 15, N 6, p. 867—906.
193. Weber D. F. Maize pollen test systems to detect nondisjunction.— Environ. Health Perspect., 1981, v. 37, N 1, p. 79—84.
194. Wilderian A. G., Nazar R. N. Significance of plant metabolism in the mutagenicity and toxicity of pesticides.— Can. J. Genet. and Cytol., 1982, v. 24, N 4, p. 437—449.
195. Wyrobek A. J., Watchmaker G., Gordon L. et al. Sperm shape abnormalities in carbaryl-exposed employes.— Environ. Health Perspect., 1981, v. 40, N 2, p. 255—265.
196. Yamaguchi H. Nihon genshiryoku gakkaishi.— J. Atom. Energy Soc. Jap., 1980, v. 22, N 3, p. 142—146.
197. Joshida D., Matsumoto T., Okamoto H. Interaction between amino-1-carboline and, amino-2-carboline on mutagenicity in *Salmonella typhimurium*.— Mutat. Res., 1979, v. 68, N 2, p. 175—178.
198. Zimmermann F. K. Biological tests for the detection of mutagenic chemicals.— Toxicol. and Environ. Chem., 1981, v. 3, N 3—4, p. 215—225.

ПРИЛОЖЕНИЕ

1. Программа *SORT6.MIR*. Описание программы.

1.1. Водная часть.

Программа *SORT6.MIR* предназначена для вычисления коэффициентов парной корреляции и упорядочения массива получаемых коэффициентов по убыванию.

1.2. Функциональное назначение.

1.2.1. Тип ЭВМ.

Программа *SORT6.MIR* написана на языке АНАЛИТИК-79 для двухпроцессорного комплекса СМ-1410.

1.2.2. Общее описание функционирования программы.

В процессе работы программа предусматривает вычисление следующих величин:

1) M — средняя арифметическая значений рассматриваемого признака;
2) S — среднее квадратичное отклонение;
3) MM — ошибка среднего;
4) C — коэффициент вариации;
5) R — значение коэффициента парной корреляции;
6) TT — значение критерия Стьюдента для R по формуле:

$$TT=\frac{R\sqrt{N-2}}{\sqrt{1-R^2}},$$

где N — количество элементов признака.

Вывод TT и R осуществляется с указанием номеров рассматриваемых признаков. Далее программой производится отбор (по убыванию) коэффициентов парной корреляции до тех пор, пока не будут задействованы все признаки (хотя бы по одному разу).

1.2.3. Ограничения на применение программы.

Ограничений на применение программы нет.

1.3. Входная информация.

Исходные данные предварительно помещаются в файл с именем *SORT3.MIR* в следующем порядке:

N — количество элементов признака;
T — количество признаков;
$x[T, N]$ — массивы, записанные по признакам.

Рабочие массивы:

$R[TT]$; $R1[TT]$; $A[T]$; $B[T]$; $M[T]$; $NN[T]$.

1.4. Выходная информация.

На печать выводится значение следующих величин: I (номер признака), M, S, MM, C. Далее печатаются номера рассматриваемых признаков, коэффициент парной корреляции между ними, соответствующее ему значение TT.

Затем печатаются номера рассматриваемых признаков и коэффициент корреляции, соответствующий им. Вывод происходит до тех пор, пока не будут использованы все признаки (хотя бы по одному разу).

2. Распечатка программы *SORT6.MIR*.

```
ОТКР(«SORT3.MIR»);
ВВОД(2,3); ЗАКР(3); ОТКР(2,'LP');
```

```
ВЫВ(2'I,ПРОБ(8),M,ПРОБ(15),S,ПРОБ(15),MM,ПРОБ(15),C,СТР);
ЦИКЛ(I,1,1,T,(A[I]=SUM(J,1,N,X[I,J]); NN[I]=I;
B[I]=SUM(J,1,N,X[I,J]**2)));
ЦИКЛ(I,1,1,T,(M[I]=A[I]/N; S=SQRT((N*B[I]—A[I]**2)/N/(N—1));
C=10¹0*S/M[I]; MM=S/SQRT(N); M1=M[I];
ВЫВ(2'I,ПРОБ(5),M1,ПРОБ(5),S,ПРОБ(5),MM,ПРОБ(5),C,СТР)));
ЦИКЛ(I,1,1,T—1,ЦИКЛ(J,I+1,1,T,(R[I,J]=SUM (K,1,N,(X[I,K]—M[I])
*(X[J,K]—M[J]))/SQRT(SUM(K,1,N,(X[I,K]—M[I])**2)*
*SUM(K,1,N,(X[J,K]—M[J])**2)); R1[I,J]=ABS(R[I,J]); )))));
ЦИКЛ(II,1,1,T—1,ЦИКЛ(JJ,II+1,1,T,(I1=II; J1=JJ; МБ=R[II,JJ];
ЦИКЛ(I,1,1,T—1,ЦИКЛ(J,I+1,1,T,ЕСЛИ(R[I,J]>МБ,(I1=I; J1=J;
МБ=R[I,J])))); TT=R[I1,J1]*SQRT((N—2)/ (1—R[I1,J1]**2));
RR=R[I1,J1]; ВЫВ(2'I1,ПРОБ(2),J1,ПРОБ(3),RR,ПРОБ(2),TT,СТР);
R[11,J1]=—1; ))); ВЫВ(2'СТР(5));
ЦИКЛ(II,1,1,T—1,ЦИКЛ(JJ,II+1,1,T,(I1=II; J1=JJ; MR=R1[II,JJ];
ЦИКЛ(I,1,1,T—1,ЦИКЛ (J,I+1,1,T,ЕСЛИ(R1[I,J]>MR, I1  I; J1=J;
MR=RI[I,J]))));
RR=R1[I1,J1]; ВЫВ(2'I1,ПРОБ(2),J1,ПРОБ(3),RR,СТР); R1[I1,J1]=0;
NN[I1]=0; NN[J1]=0; ЕСЛИ(SUM(L,1,T,NN[L])=0,НА(МЕТ)))); МЕТ.
КОНЕЦ*
```

3. Массив для контрольного примера

```
(N=31; T=4; X[4,31]'(3.4,1.2,2,2,1,3.6,1, 2.8,2,3.8,1.2,2.4,1.8,1.4,2.4,3.6,1.6,1,1.6,
1.4,3.6,2.8,1.4,1.8,1.2,2.4,1.4,1,1.8,3.2,2.2,295,214,131,225,116,230,177,236,217,186,136,
223,134,151,135,316,152,171,178,141,173,174,210,198,143,233,183,106,211,231,146,
3.4,3.2,2,2.7,2,3.9,2.4,2.2,2.9,2.8,2.1,3.2,2.5,3,3.2,3.8,2.1,2.6,3.3,3.4,4,3.3,3.5,2.6,2.5,
2.9,2,2.4,2.7,3.4,3.5,121,89,110,101,65,135,87,88,100,92,102,148,104,98,119,124,139,94,
107,119,85,95,88,88,112,122,77,69,78,117,160); R[4,4]'; R1[4,4]'; A[4]'; B[4]'; M[4]';
NN[4]';)*
```

4. Контрольный пример

I	*M*	*S*	*MM*	*C*
1	.2064516E1	.890523E0	.15994266E0	.43134710E2
2	.1861935E3	.49701388E2	.8926633E1	.26693407E2
3	.2887097E1	.58807139E0	.10562075E0	.30368952E2
4	.1042903E3	.22494732E2	.4040173E1	.21569342E2

I	*J*	*R*	*TT*
1	2	.587896E0	.3913678E1
1	3	.582137E0	.3855541E1
2	3	.4588953E0	.2781377E1
3	4	.4064856E0	.2395857E1
1	4	.3531325E0	.2032633E1
2	4	.2146137E0	.1183302E1

I	*J*	*R*
1	2	.587896E0
1	3	.582137E0
2	3	.4588953E0
3	4	.4064856E0

0[1] Здесь и далее. 0 необходимо считать за Ø

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие 3
Введение 4
Глава 1. Общие представления о биологическом мониторинге 6
Глава 2. Обоснование выбора индикаторного вида микроорганизмов. Материалы и методы исследования . . 29
Глава 3. Характеристика фундаментальных экологических ниш — мест изоляции субпопуляций 39
Глава 4. Основные результаты и их обсуждение . . . 51
Глава 5. Биометрический анализ взаимосвязи генетических маркеров 67
Заключение 96
Литература 107
Приложение 117

Пшеничнов Роберт Алексеевич
Колотвинов Сергей Владимирович

ОСНОВЫ ПОСТРОЕНИЯ СИСТЕМЫ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРОСТРАНСТВЕННЫЙ МОНИТОРИНГ

Рекомендовано к изданию
Ученым советом Института
экологии растений и животных
и РИСО Уральского научного центра
Академии наук СССР

Редактор **К. И. Ушакова**
Художник **М. Н. Гарипов**
Техн. редактор **Н. Р. Рабинович**
Корректоры **Е. М. Бородулина, Г. Н. Старкова**

Сдано в набор 2.01.86. Подписано в печать 19.11.86. НС 11187. Формат $60 \times 90^1/_{16}$. Бумага типографская № 1. Гарнитура литературная. Печать высокая. Усл. печ. л. 7,5. Уч.-изд. л. 9. Тираж 600. Заказ 90. Цена 1 р. 40 к.

РИСО УНЦ АН СССР, Свердловск, ГСП-169,
Первомайская, 91.
Издательство «Уральский рабочий», Свердловск,
просп. Ленина, 49.