**Использование генетической тест-системы во внеурочной деятельности по биологии, как способ привлечения к проблеме загрязнения вод**

***Н.В. Савченко***

На данный момент к актуальным проблемам, связанным с пресными водами пригодными для поддержания жизнедеятельности относят ее нехватку и низкое качество. Ухудшение качества воды напрямую связано с улучшением качества жизни человека. Помимо антропогенного фактора на состав гидросферы влияют климатические условия

В рамках образовательно процесса необходимо донести до учеников важность рационального использования водного ресурса и поддержания его качества. Одним из способов привлечения учащихся к экологической ситуации в регионе может стать исследование мутагенной активности речной воды в рамках проектной деятельности.

Реализация такого проекта осуществлялась в 2019-2020 гг. на базе Школы педагогики ДВФУ.

Цель работы – повышение экологической культуры через оценку цитогенетическую активности водотоков в Уссурийском городском округе Приморского края на тест-системе сои.

Для достижения цели решали следующие задачи:

1 . Разработать занятия по двум направлениям: «Вода – важнейший природный ресурс», «Мутации, их скрининг и мониторинг» с использованием методов активного обучения.

2. Разработать программу проекта «Цитогенетическая активность воды из водотока г. Уссурийска на тест-системе сои» для учеников средних общеобразовательных школ.

3. Реализовать исследовательский проект по теме «Цитогенетическая активность воды из водотока г. Уссурийска на тест-системе сои».

Для погружения учеников в тематику будущего проекта и ознакомления с таким методом анализа, как тест-система сои были проведены два ознакомительных занятия.

Определение мутагенного потенциала речной воды проводили с использованием генетической тест-системы «Соматический мозаицизм сои» [3]. Тест-система сои основана на учете различного типа пятен, которые возникают на листьях в результате обработки семян мутагенами. Одиночные пятна, как правило, возникают вследствие генных мутаций маркерного гена, делеции участка хромосомы с маркерным геном, анеуплоидии. Двойные пятна – это результат соматического кроссинговера.

Тестировали воду из рек Раковка, Комаровка и Раздольная на мутагенную и рекомбинагенную активность в мае и октябре 2018 г. Пункты отбора проб были выбраны так, чтобы охватить самые чистые участки рек (пункт № 1 - верховье реки Комаровки, пункт № 3 - верховье реки Раковки) и места интенсивного воздействия предприятий города - пункт № 2 и пункт № 4 на Комаровке и Раковке соответственно. На реке Раздольной: пункт № 5 - до г. Уссурийска (район села Борисовка), для характеристики качества речной воды до воздействия города и пункт № 6 - после очистных сооружений канализации МУП «Уссурийск-водоканал», для оценки воздействия города на водоток.

В перечень наблюдаемых металлов вошли Zn, Cu, Ni, Cd, Pb, исходя из характера природных и техногенных стоков, поступающих в реки.

На тест-системе «Соматический мозаицизм сои» установлена цитогенетическая (мутагенная и рекомбиногенная) активность воды из пунктов отбора проб № 2, 4. В отличие от проб, взятых в мае, вода в октябре 2018 г. индуцировала весь спектр тестируемых нарушений: соматический кроссинговер, хромосомные аберрации, анеуплоидию, точковые мутации (табл.1). Пункт № 2 - это центр города, участок реки Раковки перед слиянием с рекой Комаровкой, характеризующий воздействие города на данный водоток. Пункт № 4 - это участок реки Комаровки после слияния с рекой Раковкой, находится в низменном районе и подвергается сильному затоплению, центральная часть города, испытывает техногенный пресс.

Таблица 1

**Индукция соматического мозаицизма на листьях сои под действием проб воды из рек Раковка, Комаровка и Раздольная в 2018 г.**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Пункт** | **Эффект появления пятен на листьях растений сои** | | | | | **Возможный**  **механизм** |
| **Y11y11** | | | **Y11Y11** | **y11y11** |
| тёмно-зелёные пятна | жёлтые пятна | двойные пятна | светло-зелёные пятна | светло-зелёные пятна |
| **Май 2018** | | | | | | |
| № 1 | **-** | **-** | **-** | **-** | **-** | **-** |
| № 2 | **-** | **+** | **-** | **+** | **-** | точковые мутации, анеуплоидия, хромосомные аберрации |
| № 3 | **-** | **-** | **-** | **-** | **-** | - |
| № 4 | **+** | **+** | **-** | **-** | **-** | анеуплоидия, хромосомные аберрации |
| № 5 | **-** | **+** | **-** | **-** | **-** | хромосомные аберрации, анеуплоидия |
| № 6 | **-** | **+** | **-** | **-** | **-** | хромосомные аберрации, анеуплоидия |
| **Октябрь 2018** | | | | | | |
| № 1 | **-** | **-** | **-** | **-** | **-** | **-** |
| № 2 | **+** | **+** | **+** | **+** | **-** | соматический кроссиговер, хромосомные аберрации, анеуплоидия, точковые мутации |
| № 3 | **+** | **+** | **-** | **+** | **-** | точковые мутации, анеуплоидия |
| № 4 | **+** | **+** | **+** | **+** | **+** | соматический кроссиговер, хромосомные аберрации, анеуплоидия, точковые мутации, изменения в хлоропластной ДНК |
| № 5 | **+** | **+** | **+** | **-** | **-** | соматический кроссинговер, анеуплоидия, хромосомные аберрации |
| № 6 | **+** | **+** | **-** | **+** | **-** | точковые мутации, анеуплоидия |

Примечание:

«+» - более, чем 3-кратная индукция;

«+» - индукция слабая (2-3-кратная);

«-» - нет эффекта;

Мы связываем цитогенетическую активность речной воды из пунктов № 2, 4 (в центре города), прежде всего, со степенью её загрязнения тяжёлыми металлами, так как большинство из них являются мутагенами [1].

Для решения следующих задач нашей работы, чтобы мотивировать обучающихся к выполнению генетических проектов, была проведена лекция-беседа с элементами визуализации по теме «Мутации, их скрининг и мониторинг» на инновационной площадке МБОУ СОШ №11 г. Уссурийска,16 октября 2019 года.

Цель лекции «Мутации, их скрининг и мониторинг» – привлечение обучающихся к изучению генетики.

Вопросы к лекции-беседе:

1. Что такое мутация?

2. Какие примеры мутаций вы знаете?

3. Назовите примеры вредных и полезных мутаций.

4. Какие факторы могут вызывать появление мутаций?

5. Что вы знаете о скрининге и мониторинге мутаций?

План лекции:

1. Классификация мутаций;

2. Скрининг и мониторинг мутаций;

3. Генетические тест-системы

В соответствии с первым пунктом плана был рассмотрен термин «мутация», даны общие представления о мутационной изменчивости и полная классификация мутаций с их характеристикой.

Второй пункт плана включал объяснение причин появления мутаций (химические, физические, биологические мутагены), способы обнаружения и контроля мутаций, дано определение тест-систем.

По третьему пункту плана подробно рассмотрели генетические тест системы (критерии выбора, принципы анализирования, комплекс тест-систем). Основное место в обсуждении было отведено растительной тест-системе «Соматический мозаицизм сои».

Из присутствовавших на лекции несколько человек заинтересовались работой в проектах по генетике. Согласно ФГОС выполнение индивидуального итогового проекта обязательно для каждого обучающегося 9 класса. В течение одного учебного года учащийся должен выполнить один итоговый индивидуальный проект.

Исследовательский проект предполагает чёткое определение цели и методов исследования. Такие проекты требуют хорошо продуманной структуры, обозначенных задач, актуальности проекта для всех участников, социальной значимости, продуманных методов эксперимента и методов обработки и представления результатов. По сущности, эта работа приближается к научному исследованию [2].

В рамках нашего исследования ученицей 9 класса школы № 11 Дарьей Чудиной был выполнен проект по теме «Цитогенетическая активность воды из водотока г. Уссурийска на тест-системе сои».

Был разработан алгоритм проектирования (табл.2).

Работа над проектом началась с подбора литературы по генетике и, в частности, по мутагенезу, которую школьнице необходимо было изучить. Перед началом исследования нами была подробно объяснена методика использования выбранной тест-системы и генетические механизмы возникновения пятен на листьях сои.

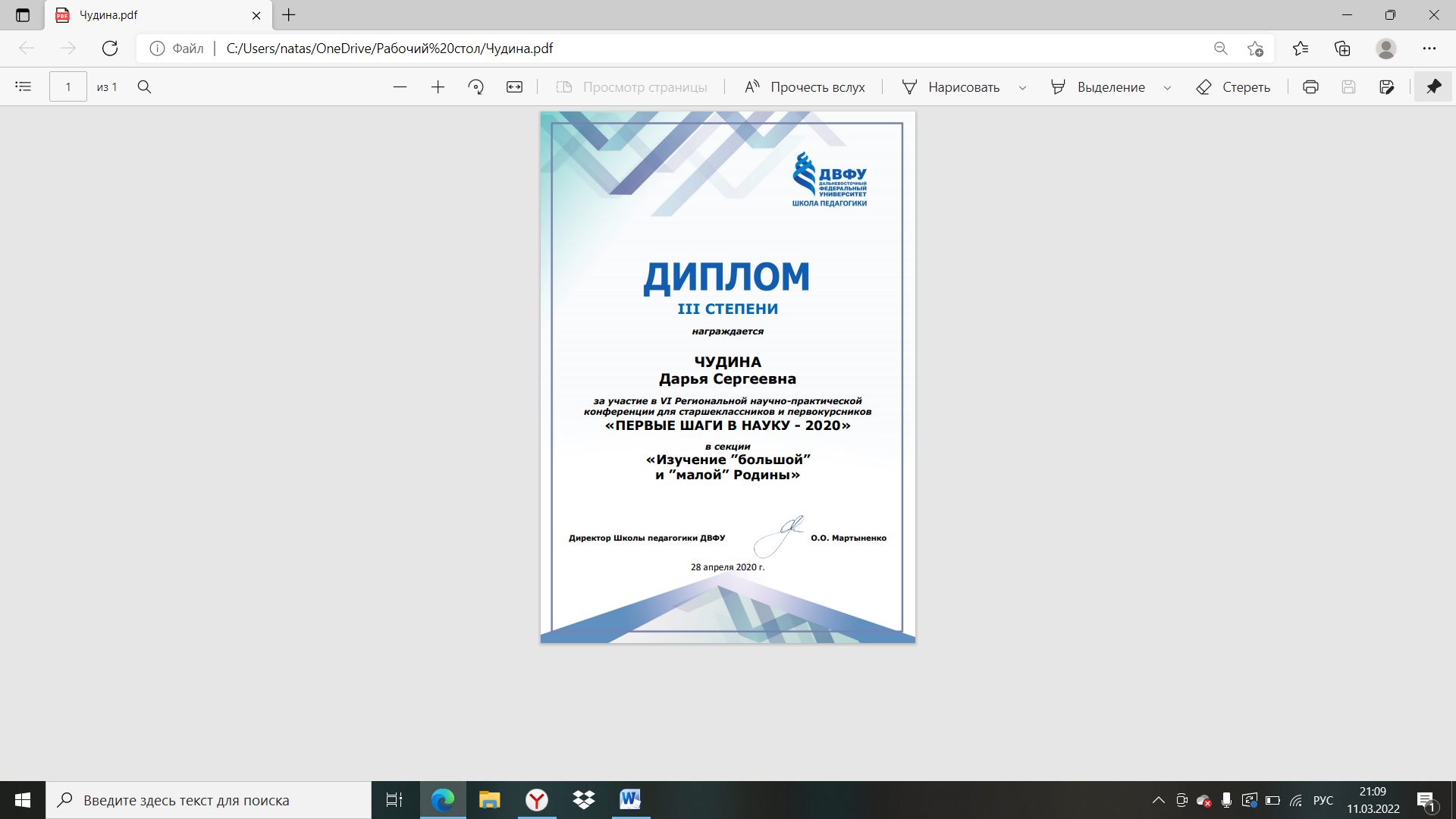
В качестве места для взятия пробы воды был выбран пункт № 4, как подверженный техногенному прессу. Подготовка семян сои тесторной линии заключалась в замачивании их в тестируемой воде и в дистиллированной воде (это контроль) на 24 часа. Затем следовала посадка и выращивание в течение 4-5 недель до раскрытия второго сложного листа. В ходе обработки результатов установили цитогенетическую (мутагенную и рекомбинагенную) активность воды из водотока г. Уссурийска (река Комаровка после слияния с рекой Раковкой) в октябре 2019.

Таблица 2

**План реализации исследовательского проекта по теме «Цитогенетическая активность воды из водотока г. Уссурийска на тест-системе сои»**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **№** | **Этапы работы** | **Сроки проведения** |
| 1. | Подбор и изучение литературы в соответствии с темой проекта | 14.10.2019г. – 18.10.2019 г. |
| 2. | Знакомство и освоение методики выполнения исследования: принципы использования тест-системы «Соматический мозаицизм сои», механизмы возникновения пятен.  Взятие пробы воды, подготовка семян | 21.10.2019 г. – 23.10.2019 г. |
| 3. | Проведение исследования (посадка семян) | 24.10.2019 г. |
| 4. | Обработка результатов | 7.11.2019 г. – 20.11.2019 г. |
| 5. | Подготовка к защите проекта на VI Региональной научно-практической конференции для старшеклассников и первокурсников «Первые шаги в науку». | 18.12.2019г. – 16.03.2020 г. |

Итак, в ходе нашей работы на тест-системе «Соматический мозаицизм сои» установлена цитогенетическая (мутагенная и рекомбиногенная) активность воды из водотоков г. Уссурийска в октябре 2018 г. и слабая мутагенная активность в мае 2018 г. Разработана лекция по теме «Мутации, их скрининг и мониторинг», содержащая информацию о мутационной изменчивости, классификации мутаций, характеристике мутаций, механизмах возникновения мутаций и методах их обнаружения и контроля. Разработана программа проекта по теме «Цитогенетическая активность воды из водотока г.Уссурийска на тест-системе сои», способствующего формированию представлений о текущей экологической ситуации. Реализован исследовательский проект по теме «Цитогенетическая активность воды из водотока г. Уссурийска на тест-системе сои» с обучающимися 9 класса МБОУ СОШ №11 г. Уссурийска. Проект успешно защищен на внутришкольной конференции, планируется выступление на VI Региональной научно-практической конференции для старшеклассников и первокурсников «Первые шаги в науку».



По результатам данного исследования были опубликованы следующие статьи:

**1.** Научные публикации, индексируемые в базе данных Scopus

Bykovskaya N.V., Shishlova M.A., Shishlova T.M., Savchenko N.V.Chemical and genetic study of water in urbanized territories for the content of heavy metals // AIP Conference Proceedings. Proceedings of the XXVII Conference on High-Energy Processes in Condensed Matter, dedicated to the 90th anniversary of the birth of RI Soloukhin. 2020. С. 030095. <https://doi.org/10.1063/5.0028711>

<https://elibrary.ru/item.asp?id=45160872>

2. Научные публикации, индексируемые в базе данных РИНЦ

1) Быковская Н.В., Иванова А.И., Савченко Н.В. Изучение полиморфизма по цвету волос у человека во внеурочной деятельности обучающихся по биологии // Животный и растительный мир Дальнего Востока. Вып. 32. [Электронный ресурс]: ДВФУ, Школа педагогики; – Электрон. дан. – Владивосток: ДВФУ, 2019. С.27-33. - Режим доступа: <http://uss.dvfu.ru/e-publications/2019/zhivotny_i_rastitelny_mir_dv_v32_2019.pdf>

<https://elibrary.ru/item.asp?id=44122857>

2) Быковская Н.В., Савченко Н.В. Методическое сопровождение лекции «Мутации, их скрининг и мониторинг» во внеурочной деятельности по биологии // Животный и растительный мир Дальнего Востока. Вып. 32. [Электронный ресурс]: ДВФУ, Школа педагогики; – Электрон. дан. – Владивосток: ДВФУ, 2019. С.51-54. - Режим доступа: <http://uss.dvfu.ru/e-publications/2019/zhivotny_i_rastitelny_mir_dv_v32_2019.pdf>

<https://elibrary.ru/item.asp?id=44122871>

3) Быковская Н.В., Савченко Н.В., Рейм Т.А. Методическое сопровождение лекции «Классические генетические тест-системы» во внеурочной деятельности по биологии // Животный и растительный мир Дальнего Востока. Вып. 33. [Электронный ресурс]: Материалы региональной научной конференции «Животный и растительный мир Дальнего Востока». ФилиалДВФУ в г.Уссурийске (Школа педагогики). – Владивосток: ДВФУ, 2020. С. 46–50. – Режим доступа: <http://uss.dvfu.ru/e-publications/2020/zhivotny_i_rastitelny_mir_dv_v33_2020.pdf>

dx.doi.org/10.24866/7444-4121-0/46-50

<https://www.elibrary.ru/item.asp?id=44134844>

4) Савченко Н.В. Научный руководитель: к.б.н., доцент Быковская Н.В. Цитогенетическое исследование водотоков в проектной деятельности по биологии в средней школе // Актуальные проблемы психолого-педагогических, социально-гуманитарных и естественных наук – 2020: Материалы студенческой научно-практической конференции Школы педагогики ДВФУ, г. Уссурийск, 29 апреля 2020 г.; Филиал ДВФУ в г.Уссурийске (Школа педагогики). C.296-301 – Владивосток: ДВФУ, 2020. - URL: <http://uss.dvfu.ru/e-publications/2020/materialy_stud_konf_2020.pdf>

**Литература**

*Айала, Ф.* Современная генетика / Ф. Айала, Дж. Кайгер. – М.: Мир, 1988. – Том 2. – 368 с.

*Биттуева, М.М.* Оценка эффективности растительного теста по учету соматических мутаций в листьях сои Glycine max (L.) Merrill / М.М. Биттуева // Современные проблемы науки и образования. Вып.6. [Электронный ресурс]: РАЕ; - Электрон.дан. М.: Академия Естествознания, 2016. Режим доступа: <https://www.science-education.ru/ru/page/policy>

*Дубинин, Н.П.* Генетика / Н.П. Дубинин. – Кишинев: Штиинца, 1985. – 536 с.

Евгеньев, М.И. Тест-методы и экология / М.И. Евгеньев // Соросовский образовательный журнал. 1999. – №11. – 29-34 с.

*Савченко, Н.В.* Цитогенетическое исследование водотоков в проектной деятельности по биологии в средней школе / Н.В. Савченко // Актуальные проблемы психолого-педагогических, социально-гуманитарных и естественных наук [Электронный ресурс]: материалы студенческой научнопрактической конференции, Уссурийск, 29 апреля 2020 г. / ДВФУ; – Электрон. дан. – Владивосток: ДВФУ, 2020. 4 с. 32.

*Сергеев, И.С.* Как организовать проектную деятельность учащихся: практическое пособие для работников общеобразовательных учреждений. – М.: АРКТИ, 2008. – 16 с.