

На правах рукописи
УДК 574:599.323.4(470.5):575.224

Полявина Ольга Валентиновна

**Биоиндикация природных и техногенных мутагенов в среде
на примере грызунов Уральского региона**

03.00.16 - экология

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

**Екатеринбург
2003**

Работа выполнена в лаборатории экологических основ изменчивости и биоразнообразия животных Института экологии растений и животных Уральского отделения Российской Академии наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор ГИЛЕВА ЭМИЛИЯ АБРАМОВНА

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор СЕЛЯНКИНА КЛАРА ПЕТРОВНА

кандидат биологических наук ГРИГОРКИНА ЕЛЕНА БОРИСОВНА

Ведущая организация:

Уральский Государственный университет им. А.М. Горького

Защита диссертации состоится " _____ " _____ 2003 г. в _____ часов на заседании Диссертационного совета Д 004.005.01 в Институте экологии растений и животных УрО РАН по адресу: 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института экологии растений и животных УрО РАН

Автореферат разослан " _____ " _____ 2003 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета,
кандидат биологических наук

М.Г. Нифонтова

Актуальность темы. Современная экологическая ситуация характеризуется масштабным и комплексным воздействием факторов биологической, физической и химической природы на живые объекты (Сочетанное действие..., 2000). Уральский регион с его высокоразвитым агропромышленным комплексом испытывает на себе влияние химического загрязнения и разнообразного по генезису техногенного радиационного воздействия. Для ряда территорий Урала характерно высокое содержание естественных радиоактивных элементов урано-ториевого рядов в почвах и горных породах. Оценка генотоксического, т.е. мутагенного и канцерогенного, потенциала среды в различных районах Урала является важной характеристикой их экологического состояния, необходимым звеном при прогнозировании отдаленных последствий действия мутагенов различной природы на живые объекты, что указывает на актуальность данной проблемы. Особую важность в этой связи приобретает изучение природных популяций растений и животных, испытывающих, как правило, комплексное воздействие мутагенов техногенного и естественного происхождения. Необходимо отметить, что изучению закономерностей спонтанного мутагенеза в природных условиях уделяется явно недостаточное внимание. Недооценивается мутагенное влияние природных агентов – естественных радиоактивных элементов и вирусных инфекций. Между тем они играют существенную роль в индукции генетических нарушений (Бужиевская, 1986; Ильинских и др., 1986; Гилева и др., 2001).

Мелкие грызуны широко используются как объекты экологического мониторинга (Безель и др., 1986), в том числе для биоиндикации мутагенных и канцерогенных эффектов загрязнения среды (Зайнуллин, 1998; Захаров и др., 2000; Husby et al., 1999). Одним из наиболее информативных методов оценки мутагенного потенциала среды является учет цитогенетических (т. е. хромосомных) нарушений в половых и соматических клетках мелких грызунов (Пшеничнов и др., 1990; Гилева, 1997). Частота хромосомных aberrаций в клетках костного мозга может служить показателем интенсивности мутационного процесса в популяциях, поскольку она коррелирует с частотой возникновения точковых мутаций как в соматических, так и в половых клетках (Бужиевская, 1986).

Цель исследования: изучение влияния природной и техногенной радиоактивности, а также инфекционных агентов в среде на хромосомную нестабильность у млекопитающих на примере грызунов Уральского региона.

Задачи исследования: 1. Определить фоновые для Среднего и Южного Урала частоты хромосомных нарушений в клетках костного мозга мелких грызунов. 2. Оце-

нить влияние естественных радиоактивных элементов семейств урана и тория на уровень генетической нестабильности у синантропных и диких мелких грызунов на Среднем Урале. **3.** Сопоставить уровень хромосомных нарушений в клетках костного мозга синантропных грызунов с онкозаболеваемостью населения, обитающих на одной территории. **4.** Оценить влияние вирусных инфекций на частоту хромосомных нарушений у диких грызунов из лабораторной колонии и природных популяций. **5.** Изучить связь между цитогенетическими показателями и географическим положением популяций, популяционно-демографическими параметрами, содержанием в природных средах и организмах животных естественных и техногенных радионуклидов, а также тяжелых металлов на примере модельного вида - домашней мыши.

Научная новизна. Впервые для Уральского региона проведена комплексная биоиндикация влияния естественных и техногенных мутагенов (радионуклидов и тяжелых металлов) на популяции модельных видов грызунов в сочетании с анализом кластогенной роли инфекционных агентов. Установлено, что кластогенное влияние на рыжих полевок оказывают самые высокие (среди изученных) концентрации радона в почвенном воздухе - более 50 кБк/м³. Впервые показано, что существует параллелизм между уровнем кластогенеза в соматических клетках синантропных грызунов и онкозаболеваемостью населения на одной территории. Установлено, что в природных популяциях рыжей полевки на Среднем Урале преобладают особи, резистентные к кластогенному действию вируса Пуумала, в то время как в лабораторных условиях полевки, унаследовавшие вирус из природных популяций, имеют повышенную частоту структурных и числовых хромосомных нарушений. Выявлены цитогенетические маркеры вирусного поражения клеток. Впервые для природных условий продемонстрировано увеличение с возрастом уровня клеток с хромосомными аберрациями у грызунов. Доказано, что наиболее существенный вклад в увеличение хромосомной нестабильности у домашних мышей на Урале и в Зауралье вносит радиационный фактор.

Теоретическое и практическое значение. Полученные данные подтверждают теоретические представления о мутагенном действии радона, торона и продуктов их распада, а также вирусов. Выявленные закономерности в реакции генома мелких грызунов на воздействие природных мутагенов – естественных радионуклидов и вирусов необходимо учитывать при проведении эколого-генетического мониторинга территории Урала с помощью грызунов как тест-объектов. Показана возможность использования специфических мультиабберрантных клеток как маркеров вирусного поражения. Полу-

ченные результаты по сопоставлению уровней хромосомных нарушений в соматических клетках у домашних мышей и онкозаболеваемостью населения, обитающих на одной территории, повышают ценность домашних мышей как индикаторов существования генетического риска для человека.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Радиационный фактор вносит наиболее существенный вклад в увеличение хромосомной нестабильности у грызунов на Урале и Зауралье. Видовая специфика, половая принадлежность и возраст могут являться факторами, влияющими на уровни хромосомных нарушений у диких грызунов на фоновых и загрязненных территориях.

2. Существует параллелизм между онкозаболеваемостью населения и уровнями повреждения генома у домашних мышей на одной территории.

3. В природных популяциях грызунов персистирующие вирусы могут повышать частоту хромосомных aberrаций и индуцировать возникновение мультиабберрантных клеток, которые предложено использовать в качестве маркеров вирусного кластогенеза.

Апробация работы. Результаты исследований докладывались на научных чтениях “Проблемы эволюционной цитогенетики, селекции и интродукции” (Томск, 1997); конференциях молодых ученых Института экологии растений и животных УрО РАН (Екатеринбург, 1997, 1998, 1999, 2000, 2002 гг.); V и VI молодежных научных конференциях Института биологии Коми НЦ УрО РАН “Актуальные проблемы биологии” (Сыктывкар, 1998, 1999); конференции студентов, аспирантов и молодых ученых “Радиация и биосфера” (Обнинск, 2000); международной конференции “Биологические эффекты малых доз ионизирующей радиации и радиоактивное загрязнение среды” (Сыктывкар, 2001); IV съезде по радиационным исследованиям “Радиобиология, радиоэкология, радиационная безопасность” (Москва, 2001).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 13 работ.

Структура и объем работы. Работа состоит из введения, 7 глав, выводов и приложения. Диссертация изложена на 91 машинописных страницах, включает 5 рисунков и 20 таблиц. Список использованной литературы включает 198 работ, в том числе 63 на иностранных языках.

Глава 1. Естественные мутагены в окружающей среде и их вклад в формирование генетической нестабильности (литературный обзор)

В главе анализируются литературные данные о фоновых частотах структурных и числовых хромосомных aberrаций в клетках костного мозга у мелких грызунов, рас-

смотрены закономерности возрастных и половых отличий в уровнях хромосомных нарушений. Приводится обзор литературных данных о мутагенной и канцерогенной роли естественных радиоактивных элементов (ЕРЭ) семейств U-238 и Th-232, особенно газообразных Rn-222 (радона) и Rn-220 (торона), в рамках проблемы биологического действия малых доз ионизирующего излучения. Уделено внимание проблеме продленной генетической нестабильности при хроническом воздействии низких доз α -излучения. Рассмотрена информация о мутагенной роли вирусов и других инфекционных агентов.

Глава 2. Материал и методы

Изучены 628 грызунов пяти фоновых видов (*Mus musculus*, *Clethrionomys glareolus*, *Apodemus uralensis*, *Ellobius talpinus*, *Microtus arvalis*) из природных популяций Среднего и Южного Урала и севера Западной Сибири, а также лабораторных колоний (*Cl. glareolus*).

Изучение фоновых уровней хромосомных нарушений проведено на примере четырех видов грызунов: рыжих полевок (п. Шаля Свердловской области), обыкновенных полевок (Оренбургский заповедник), обыкновенных слепушонок (с. Нижнее Кунашакского района Челябинской области), лесных мышей (с. Уецкое Талицкого района Свердловской области). Эти территории характеризуются минимальным уровнем техногенного загрязнения и удалены от крупных автомагистралей.

Работа по изучению генетических последствий влияния ЕРЭ семейств U-238 и Th-232 была начата в 1996, 1997 гг. в п. Двуреченск Сысертского района Свердловской области на примере домовых мышей. Отлов домовых мышей проводили с июля по сентябрь в подвальных помещениях и надворных постройках частных домов, при закладке фундаментов которых использовались радиоактивные шлаки. В качестве контроля использовали животных из коммунального сектора п. Двуреченск, а также из п. Шаля и с территории биостанции УрГУ, расположенной в Сысертском районе Свердловской области. В местах отлова сотрудники Института геофизики УрО РАН под руководством проф. В.И. Уткина проводили измерение γ -фона и содержания радона в воздухе. Аналогичное исследование было продолжено в природной популяции рыжей полевки из окрестностей п. Озерный Режевского района Свердловской области. Отлов животных проводили в 1998, 1999 гг. с июля по сентябрь. Территория поселка и его окрестностей расположена в пределах Мурзинско-Камышевской урано-ториевой радиогеохимической зоны, характеризующейся максимально высоким радоновым потенциалом (Жуковский,

Ярмошенко, 1997). На окраинах поселка в трех могильниках захоронены отходы от переработки торийсодержащего сырья (монацитового песка). Выбор участков для отлова животных проводили по результатам предварительной эманационной и пешеходной гамма-съемки территории аттестованными радиометрами РГА-01 и СРП-88Н соответственно. Радиометрические измерения проводили совместно с сотрудниками СГСК "Радон" под руководством М.А. Изюмова. На участке I основным фактором радиационной нагрузки являлись естественные радионуклиды природного происхождения. На участке II, расположенном около одного из могильников, присутствовали радионуклиды как природного, так и техногенного происхождения. В местах отлова грызунов производили отбор проб грунта для определения содержания К-40, Sr-90, Cs-137, Ra-226 и Th-232.

Анализ онкозаболеваемости населения п. Двуреченск проводили на суммированных данных по онкозаболеваемости за 1986-1995 гг., предоставленных Свердловским ОМНПЦ "Онкология", с учетом пола, возраста, места проживания и локализации опухоли. Использованы также данные по онкозаболеваемости в Сысертском районе в целом.

Сведения о численности населения Двуреченска за этот период предоставлены администрацией поселка. При статистических расчетах первичной онкозаболеваемости производили пересчет первичных данных на 100000 жителей.

Материалом для исследования влияния вирусной инфекции на цитогенетические показатели послужили рыжие полевки из двух лабораторных колоний и двух природных популяций. Лабораторная колония 1 состояла из трех субколоний, происходящих каждая от 10-30 животных, пойманных в разных районах лесной зоны Центрального Нечерноземья в 1994-1996 гг.: Московская область (Ногинский район), Тверская область (Центрально-Лесной биосферный заповедник), Рязанская область (Окский биосферный заповедник). Животных, пойманных в разных местах, и их потомков содержали в одном помещении. Из лабораторной колонии 1 обследовано 25 животных, принадлежащих к третьему и четвертому лабораторному поколению. Основателями лабораторной колонии 2 послужили 86 пар рыжих полевок, отловленных в Тульской области. Эта колония поддерживалась в виварии с 1967 по 1997 гг. без пополнения извне. Из нее было обследовано 10 животных, принадлежащих к пятидесятому-шестидесятому лабораторным поколениям. Обе исследованные природные популяции рыжей полевки обитают на Среднем Урале - в районе биостанции УрГУ и в окрестностях п. Шаля. Все животные обследованы на наличие хантавируса Пуумала (ГЛПС) ст.н.с. Института полиомиелита и вирусных энцефалитов к.м.н. Н.С. Апекиной. Доказательством инфицированности животных

вирусом Пуумала служило выявление в сыворотке крови антител в титрах не менее 1:10 и/или вирусного антигена. Антитела определяли непрямой метод флуоресцирующих антител — НМФА, а антиген — прямым иммуноферментным методом — ИФМ (Гавриловская, Бойко, 1985).

Материалом для комплексного анализа факторов, влияющих на хромосомную изменчивость у мелких грызунов, послужили домовые мыши из 18 локалитетов Среднего и Южного Урала и севера Западной Сибири: п. Советский Тюменской области; г.г. Екатеринбург (районы УрГПУ и ботанического сада УрО РАН), Среднеуральск, Первоуральск, Каменск-Уральский, п. Шаля, п. Новоуткинск (Первоуральский район), п. Двуреченск (частный и коммунальный сектор) и биостанция УрГУ (Сысертский район), п. Байны (Богдановичский район), д.д. Большая Грязнуха, Сосновское, Рыбниковское и Пирогово (Каменский район) Свердловской области; д.д. Кристалка и Старобогдановка Красногвардейского района Оренбургской области.

Степень радиационной опасности в районах исследований была ранжирована сотрудниками ФГУП “Зеленогорскгеология” по шестибальной системе с учетом геологических характеристик подстилающих пород, γ -фона, содержания естественных и искусственных радионуклидов в почве (чем выше ранг, тем меньше радиационная нагрузка).

В печени большинства исследованных животных определяли концентрацию Pb, Cd, Cu и Zn в лаборатории популяционной экотоксикологии ИЭРиЖ УрО РАН под руководством д.б.н. В.С. Безеля. Определение концентраций K-40, Sr-90, Cs-137, Ra-226 и Th-232 в костно-мышечной ткани грызунов проведено на кафедре радиохимии УГТУ-УПИ к.ф.-м.н. Е.И. Денисовым.

Препараты метафазных хромосом приготовлены из костного мозга грызунов стандартным способом и окрашены азур-эозином по Романовскому (Орлов, Булатова, 1983; Макгрегор, Варли, 1986). Методика цитогенетического анализа препаратов хромосом подробно изложена в работе Э.А. Гилевой (1997). От каждого животного анализировали по 50-100 метафазных клеток. В целом автором работы и сотрудниками группы популяционной цитогенетики ИЭРиЖ УрО РАН проанализировано 38114 клеток. Основными цитогенетическими показателями служили частота клеток с хромосомными aberrациями, суммарная частота анеуплоидных и полиплоидных клеток и частота клеток с пробелами.

При статистической обработке данных использовали факторный анализ, дисперсионный анализ с угловым преобразованием долей (ϕ -преобразование), корреляцион-

ный анализ, критерий χ^2 , непараметрические критерии Краскела-Уоллиса (H) и Манна-Уитни (U).

Глава 3. Фоновые уровни хромосомных нарушений у мелких грызунов на Среднем и Южном Урале

Анализ содержания ряда тяжелых металлов в печени лесных мышей и обыкновенных слепушонок показал, что их концентрации находятся в пределах физиологической нормы для грызунов (Гилева, 1997). Содержание радионуклидов в костно-мышечной ткани у представителей тех же видов грызунов не превышает глобальных уровней (Соколов, 1989). Результаты цитогенетического анализа представлены в таблице 1.

Таблица 1. Частота хромосомных нарушений у четырех видов грызунов из природных популяций Среднего и Южного Урала

Вид	Число животных	Число клеток	Пол	Средняя доля клеток, %		
				с хромосомными аберрациями	анеуплоидных и полиплоидных	с пробелами
<i>Clethrionomys glareolus</i>	10	500	самки	0,20	0,20	3,00
	11	550	самцы	0,73	0,73	2,00
			среднее	0,48	0,48	2,48
<i>Microtus arvalis</i>	2	100	самки	1,00	1,00	2,00
	7	350	самцы	0,29	0,57	1,43
			среднее	0,44	0,67	1,56
<i>Ellobius talpinus</i>	6	300	самки	2,33	0,33	4,00
	5	250	самцы	2,00	0,40	2,40
			среднее	2,18	0,36	3,27
<i>Apodemus uralensis</i>	8	400	самки	0,25	1,50	0,50
	10	500	самцы	0,40	0,80	0,50
			среднее	0,33	1,13	0,44

Выявлено достоверное превышение частоты клеток со структурными нарушениями хромосом у обыкновенных слепушонок по сравнению с остальными видами ($F=7,01$; $p=0,0005$). Причиной этого могут служить своеобразие организации и функционирования генома у представителей рода *Ellobius*, которое проявляется, например, в широкой межпопуляционной изменчивости кариотипов *Ellobius talpinus* (Ляпунова, Воронцов, 1978), а также тесный контакт животных при рытье с почвой, где удерживается значи-

тельное количество потенциально токсичных металлов и радионуклидов (Ван Страален и др., 1999; Евдокимов, 2001).

Анализ встречаемости разных типов хромосомных aberrаций показал, что среди структурных нарушений преобладали перестройки хроматидного типа, в основном одиночные фрагменты. Именно такой спектр aberrаций характерен для спонтанного мутагенеза (Бочков, Чеботарев, 1989; Smith, 1992).

Межвидовые различия по частоте клеток с геномными мутациями были недостоверны ($p=0,24$). Значение пробелов как индикаторов мутагенного воздействия остается спорным (Gileva, 2003). В трех изученных популяциях средняя частота клеток с пробелами была в 1,5-5 раз выше, чем частота клеток с хромосомными aberrациями. Однако при слабом мутагенном воздействии такой эффект наблюдается не всегда (Gileva, 2003). Вероятно, ахроматические пробелы могут быть использованы только как дополнительные индикаторы хромосомной нестабильности, особенно на фоновых территориях.

Рассмотрено влияние пола и возраста на изучаемые цитогенетические показатели. В настоящей работе по результатам рангового корреляционного анализа достоверная связь между фоновой частотой структурных и числовых хромосомных aberrаций и возрастом животных (относительным показателем возраста служила величина индекса ступни) не выявлена ($R_s=-0,07-0,55$; $p=0,13-0,75$). Самцы и самки изученных видов грызунов по всем трем цитогенетическим показателям не различаются ($p=0,29-0,83$).

Глава 4. Вклад естественных радиоактивных элементов в генетическую нестабильность у синантропных и диких мелких грызунов на Среднем Урале

Для изучения мутагенного эффекта ЕРЭ семейств U-238 и Th-232, в том числе радиоактивных газов (радона и торона), природного и техногенного происхождения были выбраны два полигона – п. Двуреченск Сысертского района и п. Озерный и его окрестности Режевского района Свердловской области.

4.1. Оценка мутагенного потенциала среды в п. Двуреченск с помощью домашних мышей

Анализ радиационной обстановки в помещениях, где производился отлов грызунов, показал следующее: интенсивность гамма-излучения в частном секторе поселка составила 70-1000 мкР/час, а средняя эквивалентная равновесная объемная активность (ЭРОА) радона – 766 Бк/м³; в коммунальном секторе поселка эти показатели составили – 10-25 мкР/час и 453 Бк/м³, соответственно. Уровни γ -фона на контрольных участках

(п. Шаля и биостанция УрГУ) и в коммунальном секторе п. Двуреченск находятся в пределах фона для Уральского региона. В частном секторе наиболее вероятен повышенный вклад торона, эманлирующего из торийсодержащих строительных материалов, в суммарную концентрацию радиоизотопов радона. Результаты цитогенетического анализа представлены в таблице 2.

Таблица 2. Частота хромосомных нарушений у домашних мышей из трех населенных пунктов Свердловской области

Район отлова	Число животных	Число клеток	Средняя доля клеток, %		
			с хромосомными aberrациями	анеуплоидных и полиплоидных	с пробелами
п. Двуреченск, частный сектор	22	1100	4,09	1,18	4,18
п. Двуреченск, коммунальный сектор	16	800	1,25	0,88	3,88
биостанция УрГУ (контроль)	18	900	2,11	1,00	3,33
п. Шаля (контроль)	21	1050	0,76	0,48	2,48
χ^2			32,69	3,25	5,22
p			<0,0001	0,3548	0,1563

Как видно из таблицы, мыши из исследуемых локалитетов достоверно различаются по частоте клеток с хромосомными aberrациями. У домашних мышей, отловленных в частном секторе поселка, этот показатель в 3 раза выше, чем у животных из коммунального сектора поселка, и в 5 раз выше, чем у мышей из п. Шаля ($\chi^2=13,30-24,76$; $p<0,01$). Хотя у домашних мышей с биостанции УрГУ частота структурных нарушений хромосом примерно в 2 раза ниже, чем частоту в частном секторе п. Двуреченск, эти различия оказались недостоверными ($p>0,05$). Выявленные уровни хромосомных aberrаций у домашних мышей из частного сектора поселка достаточно высоки и сопоставимы с таковыми у мелких грызунов из зон радиационных инцидентов (Индык и др., 1991; Глазко и др., 1996; Гилева, 1997).

Наблюдается превышение в 2-2,5 раза уровня клеток с нарушением числа хромосом (анеуплоидных и полиплоидных) у мышей из частного сектора п. Двуреченск и территории биостанции УрГУ по сравнению с животными из п. Шаля, но различия по этому показателю между зверьками из изученных популяций недостоверны ($\chi^2=3,54$;

$p=0,32$). Среди клеток с измененным числом хромосом в основном встречались анеуплоидные. Различия между выборками по частотам клеток с пробелами также недостоверны ($\chi^2=5,22$; $p=0,16$), хотя наблюдается параллелизм между частотой пробелов и частотой хромосомных aberrаций.

Индикатором природы мутагенов является соотношение хромосомных нарушений разного типа (Бочков, 1993). Различия между выборками по соотношению aberrаций хромосомного и хроматидного типа достоверны ($\chi^2=21,10$; $p=0,0001$). Обращает на себя внимание заметно большее количество маркерных при радиационном воздействии aberrаций у домашних мышей из частного сектора поселка — хромосомных транслокаций, в том числе робертсоновских, реципрокных и дицентриков, парных колец. Обнаружена также клетка с множественными парными фрагментами (“double minutes”), появление которых связывают с действием ионизирующего излучения (Durante et al., 1995; de Oliveira et al., 2001).

Полученные данные свидетельствуют о повышенном мутагенном потенциале в частном секторе п. Двуреченск в первую очередь за счет тория техногенного происхождения. Вероятно, имеет место как внешнее γ -облучение домашних мышей за счет продуктов распада Th-232, так и внутреннее облучение радиоактивными газами (радоном, тороном) и короткоживущими продуктами их распада.

4.2. Влияние естественных радиоактивных элементов семейств U-238 и Th-232 на частоту хромосомных нарушений у рыжей полевки

Использование полевки при изучении кластогенного действия радиоактивных газов (радона и торона) и дочерних продуктов их распада интересно с двух позиций. Во-первых, полевки тесным образом контактируют с этими радиоактивными газами, диффундирующими из почвы и накапливающимися в замкнутых пространствах. Во-вторых, популяции диких грызунов являются аборигенными и, как правило, автохтонными, в отличие от популяций синантропных грызунов. Поэтому они должны более устойчиво сохранять изменения генома, аккумулярованные за весь период мутагенного воздействия (Гилева, 1997). В связи с этим изучение мутагенного действия ЕРЭ семейств U-238 и Th-232 было продолжено в природной популяции рыжей полевки из окрестностей

п. Озерный Режевского района Свердловской области.

Среднее содержание Ra-226 в пробах почвы с “радиационных” участков в Озерном в 3-6 раз превышало контрольные значения. Концентрация Th-232 в почве на участ-

ке I в 3-4 раза и на участке II в 10-11 раз была выше контрольных значений. Максимальное содержание Th-232 в пробах почвы (2600 Бк/кг) зарегистрировано на одном из могильников. Концентрации Cs-137 и K-40 в Озерном сопоставимы с контрольными значениями. Количество Sr-90 в почвах всех локалитетов соответствовало глобальным уровням. Повышенный уровень γ -излучения зарегистрирован на участке II – в среднем 52 мкР/час, что, вероятно, определяется высоким содержанием в почве Th-232. На участке I мощность дозы γ -излучения соответствовала фоновым значениям для Уральского региона, составляя в среднем 19 мкР/час. Результаты измерения объемной активности радона в почвенном воздухе в Озерном свидетельствуют о значительном (в среднем в 8-12 раз) превышении среднемировых значений (7400 Бк/м³). В отдельных точках эквивалентная равновесная объемная активность радона достигала 310000 Бк/м³, что в 42 раза выше среднемирового уровня (Отчет о радиометрических ..., 1998).

Таким образом, радиационная нагрузка в п. Озерный и его окрестностях обусловлена загрязнением продуктами от переработки торийсодержащего монацитового песка (участок II) и воздействием природных радионуклидов семейств U-238 и Th-232, связанным с расположенной здесь радиогеохимической аномалией (участок I).

Результаты цитогенетического анализа представлены в таблице 3.

Таблица 3. Хромосомные нарушения у рыжей полевки из трех локалитетов Свердловской области с различным уровнем радиационной нагрузки

Локалитет		Число живот- вот- ных	Число кле- ток	Средняя доля клеток, %		
				с хромосомными абберациями	анеуплоидных и полиплоидных	с пробелами
п.Озёрный	участок I	18	900	1,89	0,67	3,44
	участок II	10	1000	1,50	0,40	1,80
биостанция УрГУ (контроль)		40	2000	0,70	0,45	1,70
п.Шаля (контроль)		36	1800	0,61	0,50	2,44
Н-критерий Краскела-Уоллиса				18,98	1,99	10,34
р				0,0003	0,5754	0,0159

У полевок с “радиационных” участков выявлено достоверное превышение в 2-3 раза частоты клеток со структурными нарушениями хромосом по сравнению с контрольными группами ($U=89,0-195,0$; $p<0,01$). Достоверными оказались различия и по

средней частоте клеток с пробелами ($N=10,34$; $p=0,02$). В данном случае принцип параллелизма между вышеназванными цитогенетическими показателями нарушился, и высокие уровни пробелов были зарегистрированы у животных с самым высоким и самым низким уровнем хромосомных aberrаций. Анеугенный эффект во всех локалитетах не выражен. Соотношение aberrаций разного типа у животных, отловленных в Озерном, имело иное выражение по сравнению с грызунами из зоны радиационного воздействия в Двуреченске. Среди структурных перестроек хромосом в значительной степени преобладали aberrации хроматидного типа (70-80 %). Подобный характер кластогенеза может служить проявлением эффекта наследуемой хромосомной нестабильности, причиной которого является хроническое низкодозовое облучение (Мазурик, Михайлов, 2001).

Таким образом, повышенные уровни естественных альфа-излучающих радионуклидов природного и техногенного происхождения индуцируют генетическую нестабильность в соматических клетках мелких млекопитающих. Кластогенное влияние, по-видимому, оказывают лишь самые высокие концентрации радона в почвенном воздухе (не менее 50 кБк/м^3).

Глава 5. Соотношение уровней хромосомных нарушений у домовых мышей из п. Двуреченск Свердловской области с уровнем онкозаболеваемости населения

Одной из задач эколого-генетического мониторинга загрязненных мутагенами территорий является прогноз степени генетической опасности для населения, проживающего на них. Выявление уровня соответствия между частотой хромосомных нарушений в соматических клетках синантропных грызунов и онкозаболеваемостью населения на одной территории может стать основой для более широкомасштабного использования грызунов в целях эколого-генетического мониторинга ряда территорий Урала, в том числе и для прогноза существования канцерогенного риска для населения. Такие исследования были проведены на территории п. Двуреченск.

Приведенные в таблице 2 данные по уровню кластогенеза у домовых мышей из частного и коммунального секторов поселка свидетельствуют о том, что в частном секторе заметно повышен мутагенный потенциал среды, что в основном связано с ионизирующим излучением от радона, торона и дочерних продуктов их распада, обладающими и канцерогенными свойствами (Monchaux et al., 1994; Jostes, 1996). На основании этого можно ожидать, что население частного сектора подвергается повышенной опасности возникновения злокачественных новообразований и большему генетическому риску, чем жители коммунальных домов. Это предположение было проверено путем сравнения

уровней онкозаболеваемости у жителей обоих секторов с учетом возрастной и половой структуры населения (табл. 4). Данные по лицам мужского и женского пола были объединены, поскольку соотношение полов в целом было одинаковым в обоих локалитетах (0,46).

Таблица 4. Онкозаболеваемость населения Двуреченска (на 100000 чел.)

Место проживания	Возраст, годы						Всего
	до 29	30-39	40-49	50-59	60-69	70 и более	
Частный сектор	47,8	246,9	561,8	303,0	654,8	1612,9	439,3
Коммунальный сектор	16,0	68,2	217,4	277,1	1404,9	1604,9	201,4

Из таблицы видно, что среди жителей частных домов доля заболевших злокачественными новообразованиями всех локализаций превышала более чем в 2 раза этот показатель у населения коммунального сектора ($p=0,0001$). Эти различия в значительной степени связаны с тем, что в частном секторе доля лиц старше 50 лет была достоверно выше ($p<0,0001$), чем в коммунальном (51% и 20% соответственно), а рост частоты злокачественных новообразований с возрастом общеизвестен. Однако и вне зависимости от возраста (в 5 возрастных группах из 6) лица, проживающие в частном секторе, заболевали чаще, чем в коммунальном (критерий знаков, $p<0,05$). Нужно подчеркнуть, что и у мужчин, и у женщин различия между частным и коммунальным секторами проявляются в основном за счет заболеваемости раком легких, кожи, губы, полости рта и гортани (231,7 случаев на 100000 в частном секторе и 50,7 в коммунальном; $\chi^2=7,81$; $p=0,005$), т. е. органов, в наибольшей степени подвергающихся непосредственному влиянию радона и торона. По суммарной доле заболевших раком других локализаций жители частных и коммунальных домов достоверно не различались (193,1 и 139,4 случаев на 100000 соответственно; $p=0,26$). Резко повышена онкозаболеваемость у лиц младших возрастов, проживающих в частном секторе. Учитывая радиоэкологические условия проживания и структуру онкологической заболеваемости, можно полагать, что одним из факторов риска для жителей частного сектора являются радиоактивные газы. Поэтому можно рекомендовать проведение дополнительных дезактивационных работ в частном секторе поселка.

В связи с основной задачей настоящей работы важно подчеркнуть, что имеет место параллелизм между частотой хромосомных aberrаций в соматических клетках синантропных грызунов и канцерогенным риском для людей, обитающих на одной и той же территории с повышенным мутагенным потенциалом среды. Полученные данные

подтверждают эффективность использования домашних мышей как биоиндикаторов повышенного генетического риска, связанного с техногенным загрязнением.

Глава 6. Влияние вирусной инфекции на уровень генетической нестабильности у рыжих полевок из лабораторных колоний и природных популяций

Изучение вирусного мутагенеза в природных популяциях вызывает особый интерес в связи с проблемой способности вирусов активировать спонтанный мутагенез и, возможно, ускорять хромосомную эволюцию (Жданов, 1990). Кроме того, при проведении эколого-генетического мониторинга состояния окружающей среды необходимо знать, насколько специфичен кластогенный эффект вирусов, и не могут ли они имитировать мутагенное влияние поллютантов физической и химической природы.

Закономерности вирусного кластогенеза были рассмотрены на примере хантавируса Пуумала, который вызывает у человека геморрагическую лихорадку с почечным синдромом (ГЛПС). Выбор рыжей полевки в качестве объекта исследования не случаен, поскольку она является основным природным резервуаром хантавируса серотипа Пуумала в лесной зоне Европы (Bernshtein et al., 1999).

Специфику вирусиндуцированного кластогенеза мы изучали в лабораторной колонии 1, где в течение нескольких поколений персистировал вирус Пуумала, и где можно было исключить влияние химических и физических мутагенов. В качестве предполагаемого контроля использовались рыжие полевки из лабораторной колонии 2 с тридцатилетним периодом разведения, в которой вирус отсутствовал.

Кроме того, в течение двух лет нами изучались природные популяции рыжей полевки из окрестностей п. Шаля и с территории биостанции УрГУ. В местах отлова грызунов были исследованы уровни γ -фона, содержание радона в почвенном воздухе и концентрации радионуклидов (K-40, Cs-137, Ra-226 и Th-232) в почве. Все эти показатели находились в пределах зональной нормы.

Результаты цитогенетического анализа представлены в таблице 5. Из таблицы видно, что самые высокие уровни структурных повреждений хромосом и пробелов отмечены у животных из обеих лабораторных колоний, что достоверно (за исключением частоты пробелов в колонии 1) превышает значения по этому показателю для рыжих полевок из природных популяций ($U=59,0-278,0$; $p<0,05$). Причем доля клеток с хромосомными аберрациями и пробелами у рыжих полевок из “контрольной” лабораторной колонии была выше, хотя и недостоверно, чем в инфицированной лабораторной колонии 1. Это в первую очередь, связано, с тем, что у одной полевки из “контрольной”

группы было зарегистрировано 30% aberrантных клеток и 30% клеток с пробелами, в то время как у остальных животных средняя частота клеток с хромосомными aberrациями составила 3%, а с пробелами — 4,9%.

Таблица 5. Хромосомные нарушения у рыжей полевки из лабораторных колоний и природных популяций

Группа животных	Число животных	Число клеток	Средняя доля клеток, %		
			с хромосомными aberrациями	анеуплоидных и полиплоидных	с пробелами
Лабораторная колония 1	25	1250	4,80	1,92	4,32
Лабораторная колония 2	10	500	5,80	0,60	7,40
Природные популяции:					
биостанция УрГУ	40	2000	0,70	0,45	1,70
окрестности п. Шаля	36	1800	0,61	0,50	2,44
Н-критерий Краскела-Уоллиса			37,31	18,36	18,03
р			<0,0001	<0,0004	<0,0004

У этого зверька, как и у большинства инфицированных вирусом Пуумала рыжих полевок, были обнаружены клетки с множественными повреждениями хромосом, в которых количество хромосомных aberrаций достигало нескольких десятков (рис. 1, А).



Рис. 1. Клетки костного мозга рыжей полевки: А — мультиaberrантная клетка, Б — клетка с массовой фрагментацией и пульверизацией хромосом.

Среди хромосомных нарушений преобладали aberrации хроматидного типа — в основном одиночные фрагменты, реже встречались хроматидные транслокации. Иногда наблюдалась массовая фрагментация и пульверизация хромосом (рис. 1, Б).

Выяснилось, что вирус Пуумала обладает и анеугенным эффектом, о чем свидетельствует достоверное превышение суммарной частоты анеуплоидных и полиплоидных клеток у полевок из лабораторной колонии 1 над остальными группами ($U=74,0-268,0$; $p=0,04-0,0002$). Такой тип цитогенетического поражения часто наблюдается как при острых, так и при хронических вирусных инфекциях (Прокофьева-Бельговская, 1969).

В обеих природных популяциях все три показателя цитогенетического поражения были значительно ниже, чем в инфицированной колонии 1, а два показателя (структурные аберрации и пробелы) ниже, чем в колонии 2 ($U=59,0-278,5$; $p=0-0,01$). Значения этих показателей близки к фоновым уровням, зарегистрированным у мелких грызунов на Урале (Гилева, 1997).

Ситуация с инфицированностью вирусом Пуумала у полевок из п. Шаля и с биостанции УрГУ была разной. У 9 из 36 полевок, пойманных в окрестностях п. Шаля, обнаружены антитела к вирусу Пуумала, однако мультиабберрантные клетки, типичные для вирусоносителей из лабораторной колонии, у этих инфицированных животных отсутствовали. Противоположная ситуация имела место у рыжих полевок с биостанции УрГУ: среди них не было носителей вируса Пуумала, но у одного животного были обнаружены четыре мультиабберрантные клетки, а у другого — одна клетка с массовой фрагментацией хромосом.

Полученные данные свидетельствуют о том, что у диких грызунов в лабораторных условиях, где воздействие средовых мутагенов маловероятно, при длительной персистенции вирусы повышают частоту структурных и числовых хромосомных аберраций и индуцируют возникновение мультиабберрантных клеток, которые можно использовать в качестве маркеров вирусного мутагенеза. В природных популяциях, где живые организмы сталкиваются с множеством патогенов, по-видимому, срабатывают эволюционно закрепившиеся механизмы, повышающие резистентность геномов к их мутагенному воздействию. Такие механизмы обеспечиваются системами репаративного и иммунного контроля. В условиях длительного разведения в неволе, вероятно, происходит нарушение работы этих “защитных” систем из-за высокого уровня инбридинга, а также в результате общей стрессовой нагрузки, связанной с domestikацией.

Повышенное число клеток со структурными аберрациями у одной полевки из колонии 1, а также наличие мультиабберрантных клеток у этого животного и у двух зверьков из района биостанции УрГУ, при отсутствии вируса Пуумала в их организме, могло

быть связано с кластогенным действием другого инфекционного агента. Известно, что млекопитающие могут быть латентными носителями многочисленных вирусов.

Глава 7. Комплексный анализ факторов, влияющих на хромосомную изменчивость у мелких грызунов на Урале и в Западной Сибири, на примере домовых мышей

Попытка комплексного исследования влияния ряда биотических и абиотических факторов на хромосомную нестабильность у мелких грызунов предпринята на примере синантропных домовых мышей из 18 локалитетов Среднего и Южного Урала и севера Западной Сибири. Изучалась связь между цитогенетическими показателями и географическим положением популяций, популяционно-демографическими параметрами, содержанием в природных средах и организмах животных пяти естественных радиоактивных элементов, Sr-90 и Cs-137, а также четырех тяжелых металлов. Для этого были использованы факторный, дисперсионный (в том числе, непараметрический) и корреляционный анализы. Результаты факторного анализа представлены в таблице 6.

Таблица 6. Результаты факторного анализа

Характеристики	Факторы				
	1	2	3	4	5
Пол	0,073	-0,355	0,110	0,241	-0,721
Широта	0,907	0,298	-0,089	-0,150	-0,102
Долгота	0,780	0,465	0,025	-0,142	-0,067
Размерно-возрастная группа	-0,200	0,298	-0,195	0,334	-0,260
Хромосомные aberrации	-0,273	0,092	0,310	-0,539	-0,387
Анеуплоидия и полиплоидия	-0,283	0,116	-0,156	-0,591	0,235
Пробелы	-0,318	0,045	-0,206	-0,581	-0,356
Cu	-0,008	0,124	0,704	-0,084	0,247
Zn	0,116	-0,057	0,800	0,044	-0,065
Cd	0,452	-0,602	0,109	-0,254	0,007
Pb	0,083	-0,782	-0,133	-0,105	0,161
Радиация	0,755	-0,172	-0,180	-0,114	-0,018
Собственные числа	2,526	1,566	1,419	1,287	1,025
Доля объясненной дисперсии, %	21,053	13,047	11,828	10,726	8,544

Выделилось 5 основных факторов, которые объясняют 66% общей дисперсии. Наибольшие нагрузки по первому фактору приходятся на показатели, связанные с географическим положением локалитетов и радиоэкологической характеристикой районов

отлова грызунов. По второму фактору выделяются концентрации токсических микроэлементов, Cd и Pb, по третьему — биомикроэлементов, Cu и Zn, в печени мышей. Цитогенетические показатели вносят основной вклад в четвертый фактор. В одиннадцати популяциях из восемнадцати суммарная частота анеуплоидных и полиплоидных клеток была достоверно выше у самцов ($p=0,03$); тогда как по другим цитогенетическим показателям половых различий не выявлено. Вероятно, самцы проявляют большую чувствительность к отдельным генотоксикантам, обладающим анеугенным эффектом.

Рядом авторов было показано влияние возраста на хромосомную нестабильность у мелких млекопитающих в контролируемых лабораторных условиях (Tucker et al., 1999; Zúñiga-González et al., 2001). Нами было выделено шесть размерно-возрастных групп мышей по длине тела (I – <70 мм, II – 70-75 мм, III – 76-80 мм, IV – 81-85 мм, V – 86-90 мм, VI – >90 мм). По результатам дисперсионного анализа установлено достоверное увеличение с “возрастом” частоты клеток с хромосомными aberrациями ($p=0,05$). По другим цитогенетическим показателям различия между возрастными группами были недостоверны ($p=0,20-0,93$). Выявленные половые и возрастные отличия в уровнях хромосомных нарушений необходимо учитывать при исследовании кластогенеза в природе.

У домовых мышей из исследованных локалитетов выявлены значительные межпопуляционные различия по всем трем цитогенетическим показателям ($p<0,0001$).

В качестве фонового уровня принята частота хромосомных нарушений у домовых мышей из п. Советский Тюменской области, где зарегистрировано лишь глобальное загрязнение. В одиннадцати локалитетах из восемнадцати частота клеток костного мозга с хромосомными aberrациями значимо превышает контрольный уровень ($p=0,0001-0,007$). Для восьми локалитетов значимым является превышение по суммарной доле анеуплоидных и полиплоидных клеток ($p=0,0001-0,02$).

Анализ географической изменчивости частоты хромосомных нарушений показал, что хромосомная нестабильность у домовых мышей возрастает в юго-западном направлении (коэффициенты ранговой корреляции цитогенетических показателей с долготой и широтой достоверны – $R_s=-0,10-0,15$; $p=0,001-0,03$, за исключением связи частоты анеуплоидных и полиплоидных клеток с долготой – $R_s=-0,08$; $p=0,08$). Можно предположить, что наблюдаемый географический тренд в первую очередь связан с усилением техногенного пресса в юго-западном направлении. Были оценены два компонента техногенного пресса — тяжелые металлы и радиоактивность.

Анализ содержания Pb, Cd, Cu и Zn показал, что их концентрации в печени домашних мышей совпадали с фоновыми значениями для мелких грызунов на Урале (Гилева, 1997; 2001). Хотя для двух из них — Pb и Cd установлена мутагенная активность (Rojas et al., 1999), нам не удалось обнаружить связь между уровнем хромосомных нарушений и содержанием этих микроэлементов в организме животных ($R_s = -0,02-0,11$; $p = 0,18-0,75$).

Между тем, обнаружено значимое влияние уровня радиоактивного воздействия, который в нашем исследовании отражает радиационный рейтинг районов отлова домашних мышей, на частоту всех трех цитогенетических показателей ($H = 28,85-37,89$; $p < 0,0001$) (рис. 2).

Частота клеток с хромосомными нарушениями, %

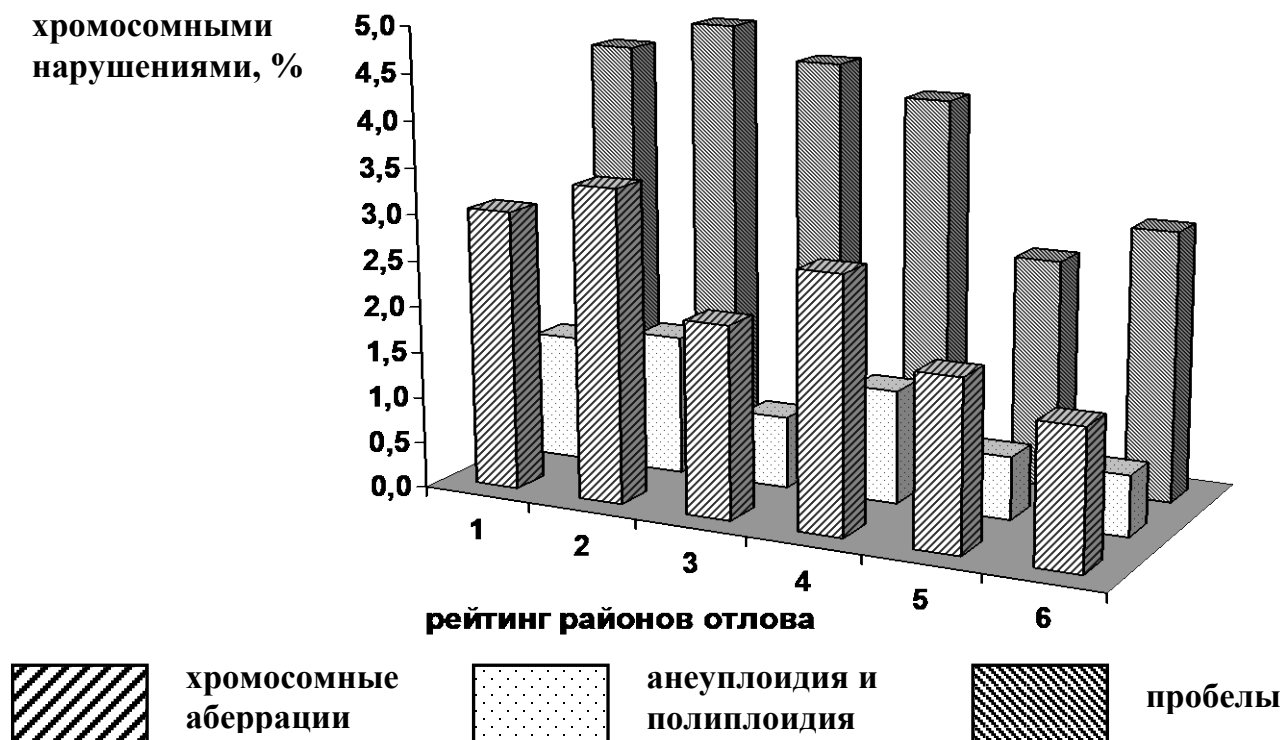


Рис. 2. Частота хромосомных нарушений у домашних мышей из районов с различной радиологической ситуацией.

Радиационное воздействие усиливается в юго-западном направлении. Об этом свидетельствуют результаты корреляционного анализа, оценивающего связь между радиационным рейтингом (чем выше ранг, тем меньше радиационная нагрузка) и географическими координатами ($R_s = 0,15-0,61$; $p = 0-0,0017$). Здесь располагаются районы, подвергшиеся радиоактивному загрязнению: Каменский район Свердловской области (Восточноуральский радиоактивный след), а также деревни Старобогдановка и Кристалка

Оренбургской области (соответственно, основная ось и периферия Тоцкого радиоактивно следа). Таким образом, среди изученных абиотических факторов наиболее существенный вклад в мутагенный потенциал среды на Урале и в Зауралье вносит степень радиационного воздействия, что должно учитываться при оценке генетического риска для населения этих регионов.

Выводы

1. Впервые определены фоновые частоты клеток с хромосомными aberrациями у ряда модельных видов грызунов (мышей и полевок) на Среднем и Южном Урале, которые составляют от 0,33 % до 0,48 %. У обыкновенной слепушонки фоновая частота клеток со структурными нарушениями хромосом достоверно выше, чем у остальных видов и составляет 2,18 %. Фоновые уровни анеуплоидных и полиплоидных клеток у четырех изученных видов грызунов составляют от 0,48 % до 1,11 %.

2. Показано достоверное влияние естественных радиоактивных элементов, в том числе радона и торона, на хромосомную изменчивость в популяциях диких и синантропных грызунов.

3. Обнаружен параллелизм между частотой хромосомных aberrаций у синантропных грызунов и онкозаболеваемостью населения, совместно обитающих на территории с повышенным содержанием радиоактивных газов.

4. Установлено, что вирусные инфекции вызывают повышение частоты хромосомных нарушений у диких грызунов из лабораторных колоний. Показана возможность использования специфических мультиабберрантных клеток как маркеров вирусного поражения.

5. В натуральных условиях продемонстрировано увеличение уровня клеток с хромосомными aberrациями у домашних мышей с возрастом.

6. Оценена связь между цитогенетическими показателями и географическим положением популяций, популяционно-демографическими параметрами, содержанием в природных средах и организмах животных естественных и техногенных радиоактивных элементов, а также тяжелых металлов на примере домашних мышей. Показано, что наиболее существенный вклад в увеличение хромосомной нестабильности у домашних мышей на Урале и Зауралье вносят естественные и техногенные радионуклиды.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Гилева Э.А., Полявина О.В., Чепраков М.И. Мутагенный потенциал среды в трех районах Свердловской области с различной степенью радоноопасности // Пробле-

мы эволюционной цитогенетики, селекции и интродукции: Материалы науч. чтений, посвящ. 100-летию проф. В.П. Чехова Томск: Изд-во ТПУ, 1997. С. 67-69.

2. Полявина О.В. Хромосомные нарушения у домовых мышей, обитающих в районах с повышенным содержанием техногенных и природных альфа-излучателей // Проблемы изучения биоразнообразия на популяционном и экосистемном уровне: Матер. конф. Екатеринбург, 1997. С. 185-189.

3. Полявина О.В. Хромосомные нарушения у рыжей полевки, зараженной вирусом геморрагической лихорадки // Актуальные проблемы биологии: Тез. докл. V молодеж. конф. Сыктывкар, 1998. С.150-151.

4. Полявина О.В., Ялковская Л.Э. Частота хромосомных нарушений у четырех видов грызунов из природных популяций Среднего и Южного Урала // Современные проблемы популяционной, исторической и прикладной экологии: Материалы конф. Екатеринбург, 1998. С. 204-208.

5. Полявина О.В. Влияние естественных радиоактивных элементов на частоту цитогенетических нарушений у рыжей полевки из природных популяций // Актуальные проблемы биологии: Тез. докл. VI молодеж. конф. Сыктывкар, 1999. С. 180-181.

6. Гилева Э.А., Большаков В.Н., Полявина О.В., Чепраков М.И., Чайковский Г.Н., Важов В.И., Безель В.С. О соотношении между частотой хромосомных нарушений у домовой мыши и онкозаболеваемостью населения при разных уровнях радиационной опасности // Доклады АН. 1999. Т. 364, № 6. С. 846-848.

7. Полявина О.В. Естественные мутагены в среде и их вклад в хромосомную изменчивость у грызунов // Развитие идей академика С.С. Шварца в современной экологии: Материалы конф. Екатеринбург, 1999. С. 146-153.

8. Полявина О.В., Ялковская Л.Э. Обыкновенная полевка на Урале: распространение, цитогенетические характеристики, гибридизация в природе // Биосфера и человечество: Материалы конф. молодых ученых памяти Н.В. Тимофеева-Ресовского. Екатеринбург, 2000. С. 212-216.

9. Полявина О.В., Ялковская Л.Э. Хромосомная нестабильность у грызунов из радиационных биогеоценозов Урала // Радиация и биосфера: Тез. докл. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых, посвящ. 100-летию со дня рождения Н.В. Тимофеева-Ресовского, Обнинск, 20-21 сент. 2000 г. Обнинске, 2000. С. 15-18.

10. Гилева Э.А., Полявина О.В., Апекина Н.С., Демина В.Т., Осипова О.В., Бернштейн А.Д. Вирусные инфекции и хромосомные нарушения у рыжей полевки из природных и лабораторных популяций // Генетика. 2001. Т. 37, № 4. С. 504-510.

11. Полявина О.В. Кластогенный эффект хронического облучения в малых дозах от альфа-излучателей природного и техногенного происхождения у грызунов // Биологические эффекты малых доз радиации и радиоактивное загрязнение среды: Тез. докл., Сыктывкар, Респ. Коми, Россия, 20-24 марта 2001 г. Сыктывкар, 2001. С. 234-235.

12. Полявина О.В. Вклад радона в формирование генетической нестабильности у млекопитающих в Свердловской области // IV съезд по радиационным исследованиям: Радиобиология, радиоэкология, радиационная безопасность: Тез. докл., Москва, 20-24 нояб. 2001 г. М., 2001. Т. 1. (Секц. 1-5). С. 219.

13. Полявина О.В. Оценка связи половозрастной структуры, генотоксического потенциала среды и цитогенетической нестабильности у домовых мышей на Урале и в Западной Сибири // Биота горных территорий: история и современное состояние: Материалы конф. молодых ученых, 15-19 апр. 2002 г. Екатеринбург, 2002. С. 147-157.

Подписано в печать 19.03.2003. Формат 60x84/16. Усл.печ.л. 1,0

Печать офсетная. Тираж 100 экз. Заказ №

Копировальный центр ООО "ЦМИК"

г. Екатеринбург, ул. Мамина-Сибиряка, 137. тел. 56-08-26

Свидетельство о регистрации № 05162 серия I-ЛИ