

ХРОМОСОМНАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ У МЕЛКИХ ГРЫЗУНОВ В ЗОНЕ ВЛИЯНИЯ ОАО «ВЫСОКОГОРСКИЙ ГОРНО-ОБОГАТИТЕЛЬНЫЙ КОМБИНАТ»

Полявина О.В. Email: Polyavina1161@scientifictext.ru

*Полявина Ольга Валентиновна – кандидат биологических наук, доцент, заведующий кафедрой,
кафедра естественных наук и физико-математического образования,
Нижнетагильский государственный социально-педагогический институт (филиал)
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
Российский государственный профессионально-педагогический университет,
г. Нижний Тагил*

Аннотация: произведена оценка уровня хромосомной нестабильности в клетках костного мозга мелких грызунов, обитающих вблизи промышленных отвалов ОАО «Высокогорский горно-обогатительный комбинат» (ВГОК) в крупном промышленном центре Среднего Урала - городе Нижний Тагил. В изученных локалитетах выявлен повышенный мутагенный потенциал среды. Генотоксическое воздействие, в первую очередь, связано с химическим воздействием. Обнаружены межвидовые различия в реакции генома мелких грызунов, обитающих на одной территории, на мутагенное воздействие.

Ключевые слова: хромосомная нестабильность, мелкие грызуны, мутагенный потенциал среды, химическое загрязнение.

CHROMOSOMAL INSTABILITY IN SMALL RODENTS IN THE ZONE OF INFLUENCE OF OAO «VYSOKOGORSKY MINING AND PROCESSING PLANT»

Polyavina O.V.

*Polyavina Olga Valentinovna – PhD in Biology, Associate Professor, Head of Department,
DEPARTMENT OF NATURAL SCIENCES AND PHYSICAL-MATHEMATICAL EDUCATION,
NIZHNY TAGIL SOCIAL-PEDAGOGICAL INSTITUTE (BRANCH)
RUSSIAN STATE VOCATIONAL PEDAGOGICAL UNIVERSITY,
NIZHNY TAGIL*

Abstract: the level of chromosomal instability in the bone marrow cells of small rodents inhabiting near the industrial dumps of the «Vysokogorsky Mining and Processing Plant (VGOK)» in the large industrial center of the Middle Urals city of Nizhny Tagil. In the studied localities revealed increased mutagenic potential of the environment. Genotoxic exposure is primarily associated with chemical exposure. Discovered species differences in the reaction of small rodents genome that live in the same area, on the mutagenic effects.

Keywords: chromosomal instability, small rodents, mutagenic potential of the environment, chemical pollution.

УДК 574.24:575

Введение

Экологические проблемы за последние годы стали одними из важнейших на Урале. Как ни один другой регион, Урал насыщен предприятиями именно тех отраслей хозяйства, которые в силу характера используемых технологий наносят наибольший ущерб природе.

Одним из наиболее загрязненных городов Урала является г. Нижний Тагил, который расположен в центре старейшего на территории России горно-промышленного района, освоение которого началось в 1722 г. В настоящее время г. Нижний Тагил является одним из крупных центров Урала и России с развитым комплексом горнорудной, металлургической, машиностроительной и химической промышленности. К наиболее сильным и необратимым изменениям геологической среды в Нижнем Тагиле относятся техногенные нарушения, связанные с добычей полезных ископаемых. На территории города находится шесть отработанных месторождений железных руд и медного колчедана и ведутся работы на шести месторождениях железных руд, флюсового известняка. Все это приводит к изменению среды обитания живых организмов, трансформации природных сообществ, а население города подвергается негативному воздействию факторов окружающей среды, в первую очередь промышленного происхождения.

Одной из актуальных задач экологических исследований, проводимых в Нижнем Тагиле, является организация эколого-генетического мониторинга состояния окружающей среды.

Удобными модельными объектами в данного рода исследованиях являются мышевидные грызуны, для которых характерна: высокая численность, большая скорость размножения, сходные с человеком пищевые цепочки. Кроме того, выявление мутагенного эффекта факторов окружающей среды по

отношению к грызунам может служить адекватной моделью для оценки мутагенного потенциала среды по отношению к человеку [3, с. 9; 2, с. 172–175].

Целью нашего исследования является изучение уровней хромосомной нестабильности в популяциях мелких грызунов, обитающих в зоне влияния промышленных отвалов ОАО «Высокогорский горно-обогатительный комбинат» («ВГОК»).

Материал и методы

Сбор материала проводили в районе промышленных отвалов ОАО «Высокогорский горно-обогатительный комбинат», который, наряду с Нижнетагильским металлургическим комбинатом (ООО «ЕВРАЗ НТМК»), является крупнейшим источником промышленного загрязнения окружающей среды в городе Нижний Тагил [7, с. 177].

Отвалы состоят из шлаков и шламов от различных производств и сжигания твердого топлива, некондиционного минерального сырья, отходов (хвостов) обогатительных фабрик.

Отлов мелких грызунов производился в период с 2015 по 2016 годы в двух локалитетах, расположенных в зоне влияния отвалов: на территории микрорайона Голый Камень и непосредственно на отвалах.

В качестве модельных объектов были выбраны синантропный вид – домовая мышь (*Mus musculus* Linnaeus, 1758) и типичные гемисинантропные виды – полевая мышь (*Apodemus agrarius* Pallas, 1771), лесная мышь (*Apodemus uralensis* Pallas, 1811), восточноевропейская полевка (*Microtus rossiaemeridionalis* O., 1924). В общей сложности было изучено 56 грызунов.

Интенсивность мутагенного воздействия оценивали по частоте встречаемости (средней доле) клеток костного мозга грызунов со структурными и числовыми абберациями хромосом.

В качестве контроля использованы данные по частотам хромосомных нарушений у мелких грызунов из различных районов Среднего и Южного Урала с минимальным техногенным воздействием. За фоновые территории были выбраны участки, удаленные от промышленных предприятий и автомагистралей, где зарегистрированы только глобальные уровни загрязнения – д. Стариково Свердловской области (*Microtus rossiaemeridionalis*), с. Шигаево Шалинского района Свердловской области (*Apodemus agrarius*), п. Шаля Шалинского района Свердловской области (*Mus musculus*), окрестности с. Уецкое Галицкой района Свердловской области (*Apodemus (Sylvaemus) uralensis*).

Анализ препаратов хромосом проводился методом световой микроскопии при увеличении в 1600 раз на микроскопе «Ergaval» (Германия). В общей сложности было проанализировано 2600 клеток. Общие методологические подходы, использованные при цитогенетическом анализе хромосомных препаратов, подробно изложены в работе Э.А. Гилевой [3, с. 17–19].

При статистической обработке был использован непараметрический критерий χ^2 .

Результаты и их обсуждение

Интенсивность мутагенного воздействия на мелких грызунов в Нижнем Тагиле изучается с 2002 г. в рамках проведения эколого-генетического мониторинга состояния окружающей среды. За этот период выявлены уровни хромосомной нестабильности у факультативных и синантропных мелких грызунов в 13 локалитетах, расположенных в различных микрорайонах города. Одной из задач нашей работы было изучение уровней структурных и числовых нарушений хромосом у мелких грызунов, обитающих в зоне влияния ОАО «Высокогорский горно-обогатительный комбинат».

Исследованные популяции изученных видов грызунов были однородны по половому составу. Межполовых различий по частотам всех типов хромосомных нарушений в большинстве локалитетов не выявлено ($\chi^2 = 0,01–1,63$, $p = 0,2–0,9$). Это позволило объединить выборки самцов и самок для дальнейшего цитогенетического анализа. Только в одном случае частота клеток с ахроматическими пробелами у самок оказалась достоверно выше, чем у самцов – у лесных мышей с территории отвалов ($\chi^2 = 4,58$, $p = 0,03$).

Данные по частотам хромосомных нарушений у изученных видов грызунов с территории Нижнего Тагила, а также из контрольных популяций представлены на рисунке 1.

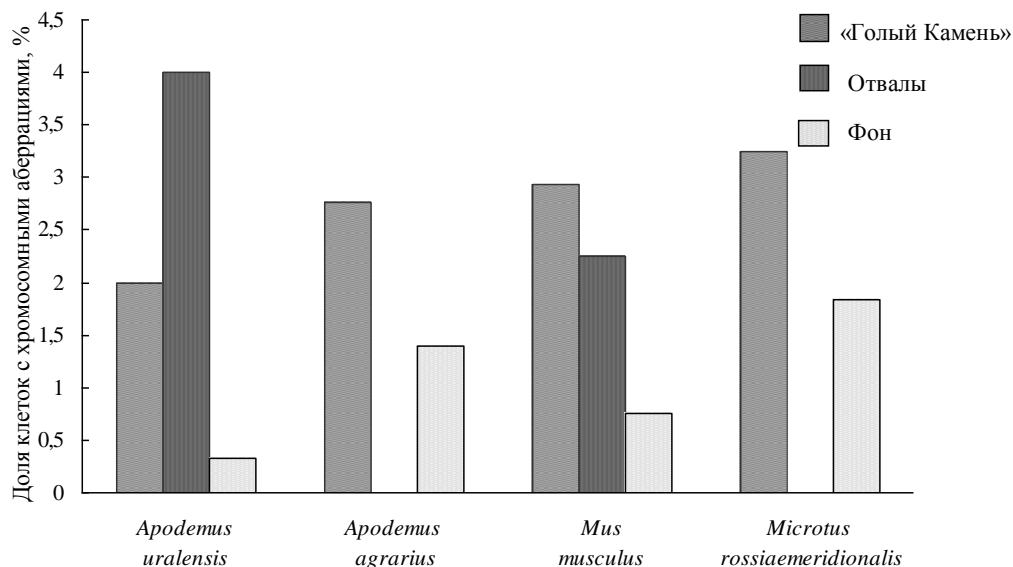


Рис. 1. Средняя доля клеток с хромосомными aberrациями у исследуемых видов грызунов на территории Нижнего Тагила и фоновых участках

У животных, отловленных на территории «Голого Камня», обнаружено существенное превышение уровня кластогенеза по сравнению с контрольными значениями, характерными для грызунов с фоновых (контрольных) территорий. Средняя доля клеток с хромосомными aberrациями достоверно или близко к такому превышает контрольные значения в 1,8 – 6 раз ($X^2 = 2,77-12,59$, $p = 0,0004-0,09$) (рис. 1). Наибольшее превышение фоновых значений – в 6 раз – выявлено для лесных мышей ($X^2 = 8,40$, $p = 0,004$), наименьшее - для восточноевропейских полевок – в 1,8 раза ($X^2 = 3,43$, $p = 0,06$).

Выявленные межвидовые различия в уровнях хромосомных aberrаций у животных, обитающих на одной территории, хотя и не являются достоверными ($X^2 = 0,05-1,01$, $p = 0,31-0,83$), но в целом заслуживают внимания. Самые высокие уровни структурных повреждений хромосом (основной цитогенетический показатель) обнаружены у восточноевропейской полевки и домовый мыши.

Уровень клеток с геномными нарушениями у всех представителей изученных видов грызунов превышает фоновые значения в 1,5 – 4,4 раза (рис. 2). Различия с контролем достоверны только для домовых мышей и восточноевропейских полевок ($X^2 = 5,91-14,15$, $p = 0,03-0,0002$).

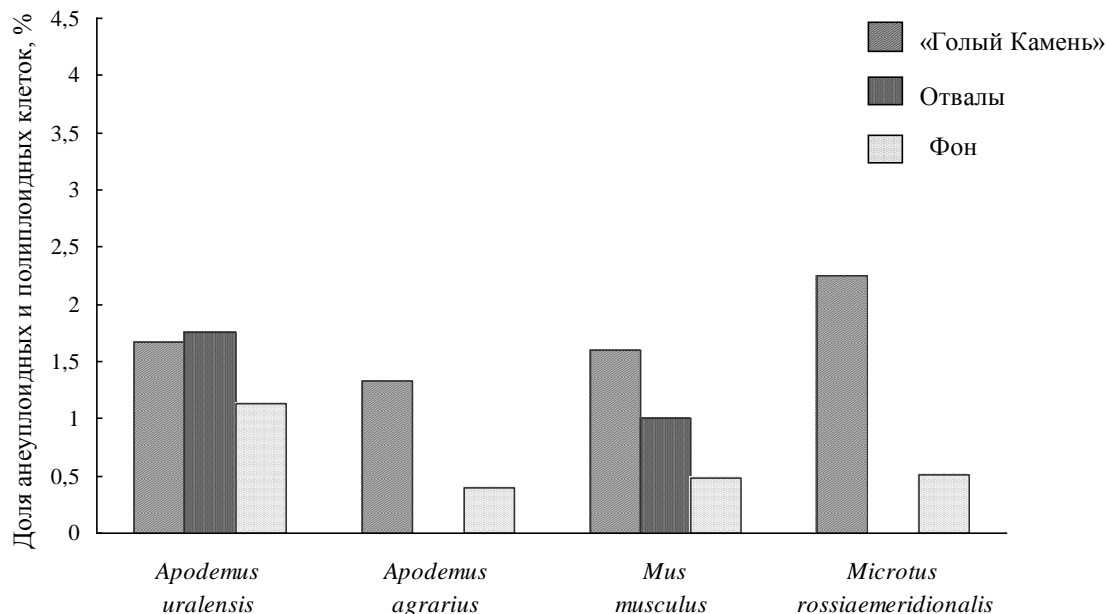


Рис. 2. Средняя доля анеуплоидных и полиплоидных клеток у исследуемых видов грызунов на территории Нижнего Тагила и фоновых участках

Частота клеток с пробелами также оказалась повышена по сравнению с фоновыми уровнями (рис. 3).

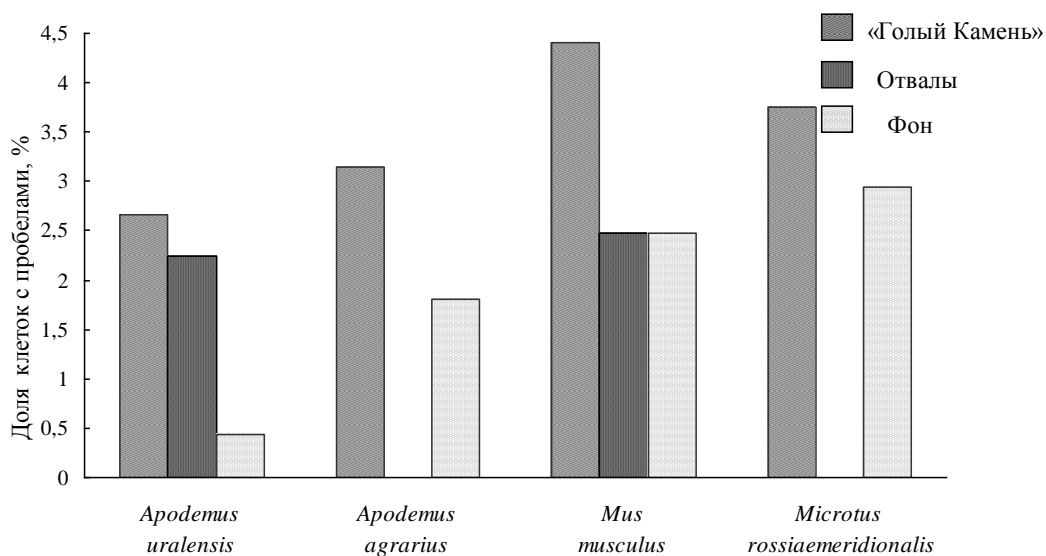


Рис. 3. Средняя доля клеток с пробелами у исследуемых видов грызунов на территории Нижнего Тагила и фоновых участках

Максимальное превышение – в 6 раз – встречается у лесных мышей с «Голого Камня» ($X^2 = 11,22$, $p = 0,0008$). Также наблюдается достоверное превышение фоновых значений у домашних мышей ($X^2 = 4,87$, $p = 0,03$). В остальных случаях попарные сравнения с фоновыми уровнями оказались не значимыми ($X^2 = 0,76-2,32$, $p = 0,13-0,38$).

На территории отвалов были отловлены два вида грызунов – домовая мышь (*Mus musculus*) и полевая мышь (*Apodemus agrarius*). Оба вида склонны к синантропии, на территории Нижнего Тагила, встречаются в промзонах [4, с. 286]. Уровни хромосомных нарушений различного типа у животных, отловленных на территории отвалов, также представлены на рисунках 1 – 3.

Средняя доля клеток с хромосомными абберациями у лесной мыши с территории отвалов превышает фоновые значения в 12 раз ($X^2 = 25,85$, $p < 0,0001$), а у домашней мыши – в 3 раза ($X^2 = 5,51$, $p = 0,02$).

У обоих видов наблюдается превышение фоновых уровней числовых повреждений хромосом (суммарной частоты анеуплоидных и полиплоидных клеток) в 1,5 – 2 раза, но различия не значимы ($X^2 = 0,88-1,29$, $p = 0,26-0,35$).

Третий цитогенетический показатель – средняя доля клеток с пробелами – демонстрирует следующую картину (рис. 3). У *Apodemus uralensis* наблюдается более существенное превышение фоновых значений – в 5,1 раза ($X^2 = 9,12$, $p = 0,0025$), по сравнению с *Mus musculus*, у которых различия с контролем не значимы ($X^2 = 0,09$, $p = 0,77$).

Изучение межвидовых различий в уровнях хромосомных нарушений мы провели в двух направлениях. С одной стороны интерес представляло сравнение четырех видов грызунов с территории Голого Камня, относящихся к разным семействам и имеющих разную склонность к синантропизации. С другой стороны мы сравнили реакцию генома на мутагенное воздействие у двух видов – лесной мыши и домашней мыши, которые встречались на обоих изученных участках.

На территории Голого Камня самым высоким оказался уровень структурных повреждений хромосом у восточноевропейских полевок и домашних мышей, наименьший – у лесных мышей (рис. 1, 3). Частота геномных мутаций также была наибольшей среди восточноевропейских полевок, а на втором месте по этому показателю были лесные мыши (рис. 2).

Выявленные межвидовые различия в уровнях генетической нестабильности в целом могут быть связаны с различиями в реакции генома представителей разных видов мелких грызунов на мутагенное воздействие, а также уровнями поступления мутагенов в организм животных [1, с. 72–73; 5, с. 20–21]. Уровень поступления мутагенов определяется многими экологическими факторами, например, рационом питания. Среди изученных видов грызунов присутствуют: типичные зернояды – это лесная мышь и полевая мышь, зеленоядом является восточноевропейская полевка, а домовая мышь характеризуется смешанным типом питания, включая антропогенные источники пищи. В условиях химического загрязнения среды зеленоядные виды, например полевки рода *Microtus*, аккумулируют большие концентрации тяжелых металлов по сравнению с зерноядными представителями рода *Apodemus* и, особенно, с плотоядными видами [1, с. 74–75]. Кроме того, объем и состав пищевого рациона зависят от энергетических потребностей животных, от биотопической специфики местообитаний, в том числе от

степени их химической деградации (Безель, 2006, с. 80-81). Степень оседлости видов и сезонные миграции также могут оказывать влияния на уровень накопления поллютантов. В нашем случае, более оседлый вид – это восточноевропейская полевка. Кроме того, среди полевок именно восточноевропейская проявляют большую склонность к синантропизации [6, с. 718]. Возможно поэтому уровень хромосомной нестабильности у этого вида в условиях совместного обитания выше, чем у других видов грызунов. Среди мышинных также проявляется вариабельность в уровнях хромосомных нарушений. Домовые мыши характеризуются повышенными уровнями кластогенеза по сравнению с представителями рода *Apodemus*, а среди последних у полевых мышей частоты клеток с хромосомными абберациями и пробелами выше, чем у лесных мышей. Домовые мыши могут сталкиваться с поступлением поллютантов из дополнительных источников, так как они всеядны; зимой среди кормовых объектов могут быть и антропогенные источники. Кроме того домовые мыши характеризуются большей чувствительностью к мутагенному воздействию (Гилева, 1997, с. 50-51). Лесные мыши, в отличие от полевых, проявляют меньшую склонность к синантропии, тяготеют к лесным биоценозам. Возможно, поэтому у этого вида наблюдаются меньшие уровни структурных нарушений хромосом. Хотя частота анеуплоидных и полиплоидных клеток у лесных мышей, наоборот, выше, чем у полевых и домашних.

Интересными оказались межвидовые различия в уровнях хромосомных нарушений у двух видов мышей *Apodemus uralensis* и *Mus musculus*, обитающих одновременно на обоих изученных участках в Нижнем Тагиле.

На территории Голого Камня у домашних мышей средняя доля клеток с хромосомными нарушениями в 1,6 – 1,9 раза выше, чем у лесных мышей. На отвалах, наоборот, у лесных мышей уровень кластогенеза, а также частота встречаемости анеуплоидных и полиплоидных клеток в 1,8 раз выше, чем у домашних мышей, хотя межвидовые различия и в том, и в другом случае недостоверны ($X^2 = 0,01-2,02$, $p = 0,15-0,94$).

Отлов грызунов на отвалах осуществлялся только в осенний период и в структуре сообщества доминировала лесная мышь. Возможно, биотопические условия на отвалах были более пригодны для этого вида, поэтому лесные мыши подвергались в большей степени мутагенному воздействию от источников загрязнения.

Заключение

Нужно отметить, что в целом уровни структурных нарушений хромосом у животных в изученных локалитетах повышены по сравнению с фоновыми популяциями, что свидетельствует о заметном генотоксическом воздействии факторов окружающей среды вблизи отвалов «ВГОК» в Нижнем Тагиле. Отсутствие достоверных различий в некоторых случаях может быть связано с малым объемом выборок животных.

Генотоксическое воздействие в изученных локалитетах, в первую очередь, связано с химическим воздействием. Об этом свидетельствует значительно преобладание среди структурных нарушений хромосомных аббераций хроматидного типа.

Наблюдаемая межвидовая изменчивость реакции изученных видов грызунов на мутагенное воздействие имеет комплексную природу, включает сложное сочетание разнообразных экологических факторов, определяющих специфику поступления мутагенов в организм животных.

Список литературы / References

1. Безель В.С. Экологическая токсикология: популяционный и биоценотический аспекты. – Екатеринбург: Издательство «Гощицкий», 2006. 280 с.
2. Большаков В.Н., Бердюгин К.И., Васильева И.А., Кузнецова И.А. Млекопитающие Свердловской области. Справочник-определитель. Екатеринбург: Издательство «Екатеринбург», 2000. 240 с.
3. Гилева Э.А. Эколого-генетический мониторинг с помощью грызунов (уральский опыт). Екатеринбург: Издательство Уральского университета, 1997. 105 с.
4. Полявина О.В. Хромосомная нестабильность у мелких грызунов в зоне влияния промышленных предприятий Нижнего Тагила // Биологические системы: устойчивость, принципы и механизмы функционирования: Мат-лы V Всерос. науч.-практ. конф. (Нижний Тагил, 1–4 марта 2017). Нижний Тагил: Нижнетагильский государственный социально-педагогический институт (филиал) ФГАОУ ВО «Российский государственный профессионально-педагогический университет», 2017. С. 284–290.
5. Ялковская Л.Э. Геномная и онтогенетическая нестабильность в популяции грызунов.: Дис. ... канд. биол. наук. Екатеринбург, 2007. 24 с.
6. Ялковская Л.Э., Ченпраков М.И., Ракитин С.Б., Полявина О.В. Место обитания видов-двойников группы «Arvalis» (*Microtus*, *Arvicolinae*, *Rodentia*) на территории крупных городов Среднего Урала // Зоологический журнал, 2017. № 2. С. 83–90.

7. Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среды Свердловской области в 2015 г.». [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://mprso.midural.ru/article/show/id/1084/> (дата обращения: 12.06.17).