

УДК 636:612.014.48.2

## ДЕЙСТВИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

**В.И. ГЛАЗКО, д. с.-х. н.; Т.Т. ГЛАЗКО, д. с.-х. н.**

С использованием различных типов молекулярно-генетических маркеров, цитогенетического анализа выполнены исследования популяционно-генетических последствий проживания различных видов в зоне отчуждения Чернобыльской АЭС. Полученные данные свидетельствуют о том, что главный ответ на хроническое действие ионизирующего облучения в низких дозах заключается не в индукции появления новых генов, а в предпочтительном отборе в поколениях новых генных сочетаний.

Прошло двадцать два года со дня наибольшей трагедии XX в. — Чернобыльской катастрофы. После этой крупнейшей экологической катастрофы перед человечеством возникла необходимость новой стратегии, определяющей планирование долгосрочных действий, а также в углубленном понимании последствий долгосрочного воздействия долгоживущих радионуклидов на живой организм, в определении стратегии реабилитации и оценке последствий этой катастрофы как глобальной проблемы. Для пострадавших Чернобыль — это не только боль прошлого, но также проблема настоящего и вызов будущего.

Ключевой проблемой объективизации оценок последствий Чернобыльской катастрофы является поиск интегрального показателя повреждающего действия ионизирующего облучения для многоклеточного организма. Зависимость индуцируемых облучением изменений отдельных физиологических, молекулярно-генетических и клинических параметров от исходного состояния организма хорошо известна в радиобиологии, однако не поддается учету при традиционных методах мо-

нитинга и существенно искажает получаемые данные.

Зона отчуждения Чернобыльской АЭС — уникальная модельная система, в рамках которой удобно изучать популяционно-генетические преобразования, вызванные изменением направления и интенсивности естественного отбора. Это важно для понимания того, как развиваются экологические катастрофы вообще, для умения прогнозировать наступление очередного этапа. Это полигон уникальный в мировом масштабе: ведь на ограниченной территории произошло резкое изменение целого комплекса экологических факторов, и на фоне этих изменений воспроизводятся представители множества таксономических групп живых организмов, в т. ч. высшие млекопитающие. Необходимо подчеркнуть, что любая экологическая катастрофа уничтожает оптимальные условия существования одних видов и внутривидовых групп и одновременно создает условия, благоприятные для других. Из этого следует, что последствия экологической катастрофы можно заметно смягчить, если правильно подобрать виды и внутривидовые группы, жизнедеятельность

и воспроизводство которых не просто совместимы с новыми экологическими условиями, но и способствуют нормализации среды.

Эта работа выполнена в рамках разрабатываемого авторами нового направления — исследований генетической компоненты агросистем и её роли в их устойчивом развитии. Острая необходимость поиска новых подходов к оценке генетической компоненты устойчивого развития и биобезопасности регионов обусловлена в основном тремя причинами: резким ускорением распространения загрязнителей, усложнением их состава и наличием Чернобыля, с его неизвестным до сих пор кумулятивным эффектом. Программа исследований популяционно-генетических последствий таких катастроф должна включать следующее: выявление популяционно-генетических изменений, анализ и прогноз направления изменений, разработка методов управления изменениями, решение задач прогноза индивидуальной приспособленности.

#### Методы и материалы

В наших исследованиях были рассмотрены три основные модели контроля популяционно генетических изменений:

##### 1. *Лабораторные линии мышей*

Исследования выполнялись на разных лабораторных линиях мышей: BALB/c, CC57W/Mv и C57BL/6j, воспроизводимых в виварии Института молекулярной биологии и генетики НАНУ (контрольная группа), а также в зоне отчуждения ЧАЭС в спецвиварии (экспериментальная группа).

Достоинства модели: быстрая смена поколений, удобны для цитогенетических и генетических исследований; известная генетика; возможность четкого семейного анализа животных.

##### 2. *Мышевидные грызуны, отловленные в зоне отчуждения ЧАЭС*

Достоинства модели: быстрая смена поколений, удобны для цитогенетических и генетических исследований;

недостатки модели: короткий репродуктивный цикл; сложные миграционные процессы; невозможность семейного анализа животных в полевых условиях.

##### 3. *Крупный рогатый скот*

Крупный рогатый скот содержался в экспериментальном хозяйстве Новошепеличи (Припять, 200 Ки/км<sup>2</sup> по <sup>137</sup>Cs).

Достоинства модели: удобны для цитогенетических и генетических исследований, возможность четкого семейного анализа животных; известная генетика и локализация маркеров; сходство синтении генов с человеком. Кроме того, к достоинствам этой модели относится то, что каждое животное имеет строго определенную родословную; присутствуют все поколения, родившиеся после Чернобыльской катастрофы в условиях зоны отчуждения; доступен для исследований генофонд контрольных групп животных — крупный рогатый скот той же породы в относительно более благополучных регионах; для большого количества молекулярно-генетических маркеров известна их локализация в хромосомах крупного рогатого скота; известно сходство между крупным рогатым скотом и человеком по синтении генов. К недостаткам этой модели относятся низкая плодовитость и то, что животные требуют специального обслуживания и ухода. Созданное экспериментальное стадо в хозяйстве Новошепеличи состояло из родительского поколения (F0 — быка Урана, коров Гамма, Альфа, Бета и 13 коров, завезенных в это хозяйство из относительно «чистых» районов в 1990—1993 гг.), а также полученных от них трех следующих поколений (F1, F2, F3), родившихся в условиях повышенного уровня ионизирующего излучения (на одно животное 0,6-0,8 Гр/год).

Для оценки возникающих изменений использовали традиционные методы цитогенетики и анализа полиморфизма молекулярно-генетических мар-

керов (белки; ДНК структурных генов; полиморфизм фрагментов ДНК, фланкированных микросателлитными повторами).

В задачи исследований входил анализ полиморфизма и наследования аллельных вариантов различных структурных генов в поколения крупного рогатого скота, воспроизводящихся в условиях повышенного радионуклидного загрязнения в хозяйстве Ново-Шепеличи. Для изучения особенностей генетической структуры исследуемых групп животных использовали как традиционные биохимические молекулярно-генетические маркеры, позволяющие проанализировать полиморфизм по ряду локусов, кодирующих белки крови, так и маркеры полиморфизма интронной области гена лептина и 4-го экзона гена капа-казеина. Выполнена также оценка информативности привлечения дополнительной характеристики генетической структуры пород — анализа закономерностей межлокусных ассоциаций генов [2]. Исследуемые локусы принадлежали к различным группам сцепления [3]. Рассматривали две группы синтенных генов (трансферрин, церулоплазмин — хромосома 1; рецептор витамина Д, каппа-казеин и гемоглобин — хромосома 6) и 4 несинтенных гена (амилаза-1 — хромосома 3, лептин — хромосома 4, пуридиннуклеозидфосфоорилаза — хромосома 10 и посттрансферрин-2 — хромосома 19).

#### Результаты и обсуждения

В экспериментальных исследованиях было обнаружено, что каждая из трех лабораторных линий мышей характеризуется своим спонтанным мутационным спектром в клетках костного мозга, и только некоторые его характеристики меняются в связи возрастом и сезоном исследования. Так, для линии мышей C57BL/6 типично нарастание анеуплоидии (хромосомных потерь) с возрастом и при переходе к летнему сезону по сравнению с

зимним. Для линии CC57W/Mv изменения в связи с возрастом и сезоном преимущественно наблюдались по внутрихромосомным дефектам (хромосомным абберациям), для линии BALB/c — по доле полиплоидных клеток. Причем в условиях повышенного уровня ионизирующего излучения примерно в 100 раз (около 0,5 Гр в год) в спецвирии около Чернобыльской АЭС наблюдалось повышение частот встречаемости у каждой линии только тех аномалий, спонтанная нестабильность которых обнаруживалась в контрольных условиях. Например, у линии C57BL/6 увеличивалась частота анеуплоидных клеток, у линии CC57W/Mv — метафаз с хромосомными абберациями. То есть в данном случае повышение ионизирующего излучения не приводило к появлению новых характеристик в мутационных спектрах у мышей, а только усиливало проявление спонтанной нестабильности по отдельным, линейноспецифичным характеристикам таких спектров.

Следует отметить, что у мышей отмечается отчетливая связь мутационных эффектов повышенного уровня ионизирующего излучения в зависимости от возраста. Так, «старые» мыши в контрольных условиях отличались от «юных» у мышей линии CC57W/Mv более высокой частотой встречаемости различных цитогенетических аномалий, в частности, одноядерных лейкоцитов с микроядрами. В то же время, у «старых» мышей экспериментальной (чернобыльской) группы, подвергавшихся в течение жизни действию повышенного уровня ионизирующего излучения, частота таких аномалий оказалась меньше не только по отношению к своему возрастному контролю, но и по сравнению с «юными» чернобыльскими мышами. Эти различия сопровождаются статистически достоверным увеличением делящихся клеток в костном мозгу «старых» чернобыльских мышей по сравнению с их «старым» контролем. То есть, в тече-

ние жизни в условиях повышенного уровня ионизирующего излучения у мышей, в отличие от контрольных условий, не происходит уменьшения темпов клеточного деления в костном мозгу, что, по-видимому, сопровождается ускорением элиминации клеток с генетическими дефектами.

Интересно подчеркнуть, что сходные данные были получены другими авторами, показавшими, что стимуляция клеточного деления при высоких дозах ионизирующего облучения приводит к ускорению элиминации клеток с генетическими дефектами [4].

Выполнены исследования мутационных спектров и у представителей трех видов полевков (*Microtus arvalis*, *Microtus oeconomus* и *Clethrionomys glareolus*), отловленных в зоне отчуждения Чернобыльской АЭС в местообитаниях с повышенным уровнем радионуклидного загрязнения. В наименее загрязненных радионуклидами местообитаниях ( $<5$  Ки/км<sup>2</sup>, меньше 0,1 Гр/год), у самого эволюционно «молодого» вида из исследованных — обыкновенной полевки *Microtus arvalis* — обнаружена высокая частота встречаемости анеуплоидных клеток; у рыжей полевки *Clethrionomys glareolus* — метафаз с межхромосомными слияниями по типу Робертсоновских транслокаций. По сравнению с этими видами клетки самого эволюционно «старого» вида — полевки-экономки *Microtus oeconomus* характеризовались относительно повышенной стабильностью хромосомного аппарата по исследованным характеристикам мутационных спектров.

Исследования мутационных спектров у представителей трех видов полевков, отловленных в зоне отчуждения Чернобыльской АЭС, в местообитаниях с повышенным уровнем радионуклидного загрязнения (0,3 Гр/год; 0,9—1,2 Гр/год) показали, что со временем, несмотря на сохранение высокого уровня радиоактивного загрязнения в местах отлова грызунов, среди представителей разных видов постепенно уменьшалось количество особей

с высокой частотой мутантных клеток в костном мозге. Так, у обыкновенной полевки и у рыжей полевки в 1996 г. частота встречаемости животных с высокими уровнями цитогенетических аномалий среди клеток костного мозга была существенно выше, чем в контроле, и чем у животных, отловленных в тех же местообитаниях, но в более поздних годах (в 1999 и в 2001). Так, например, метафазы с хромосомными аберрациями у обыкновенной полевки в контроле встречались с частотой  $2,5 \pm 1,5\%$ , в Чистоголовке (1996, 1999 гг.) —  $3,6 \pm 0,8$  и  $5,0 \pm 2,3$ , в 2001 г. —  $2,5 \pm 0,3$ ; у рыжей полевки в контроле таких метафаз было  $1,2 \pm 0,7$ , в «Рыжем лесу» в 1996 г. —  $7,3 \pm 3,4$ , в 1999 г. —  $3,5 \pm 0,8$  и в 2001 г. —  $0,9 \pm 0,3\%$ .

Важно подчеркнуть, что такое уменьшение, свидетельствующее о постепенном накоплении радиорезистентных особей, у рыжей полевки отчетливо наблюдается только у животных, отловленных в «Рыжем лесу», где очень высок уровень радионуклидного загрязнения ( $>1000$  Ки/км<sup>2</sup>), в отличие от местообитания с более низким уровнем радионуклидного загрязнения (Янов,  $\sim 200$  Ки/км<sup>2</sup>). То есть, скорость отбора на радиорезистентность тем выше, чем выше уровень радионуклидного загрязнения. Обращает на себя внимание и то, что даже в участках зоны отчуждения с таким высоким уровнем радионуклидного загрязнения как «Рыжий лес», накопление радиорезистентных особей обнаруживается только в 1999 г, через 13 лет после Чернобыльской аварии, после того, как сменилось 26 поколений полевков (полевки размножаются два раза в год). Из этого следует, что для появления людей с повышенной устойчивостью к ионизирующему излучению, как, например, в популяциях местности Рамзар в Иране, необходимо чтобы прошло примерно 600 лет, учитывая репродуктивные особенности человека.

Оказалось, что у полевков, отловленных в местообитаниях с повышенным уровнем радионуклидного загрязнения

(Янов — около 200 Ки/км<sup>2</sup>; Чистоголовка — около 500 Ки/км<sup>2</sup>; «Рыжий лес» — около 1000 Ки/км<sup>2</sup>) в клетках костного мозга наблюдается накопление именно тех цитогенетических аномалий, повышенная изменчивость которых была видоспецифична для мутационных спектров полевки и в относительно чистых местообитаниях: для рыжей полевки — метафазы с робертсоновскими межхромосомными слияниями, для обыкновенной полевки — анеуплоидия. Наименьшей изменчивостью в местах с повышенным радионуклидным загрязнением соответственно отличались мутационные спектры клеток полевки-экономки. То есть, как и в случае линейных мышей, повышенное ионизирующее облучение не приводило к появлению качественно новых характеристик мутационных спектров, а только усиливало проявление тех видоспецифичных характеристик таких спектров, повышенная нестабильность которых наблюдалась у животных, отловленных в чистых зонах.

Более того, оказалось, что со временем, несмотря на то что высокий уровень радиоактивного загрязнения в местах отлова грызунов сохранялся, у представителей разных видов постепенно уменьшалось количество мутантных клеток в костном мозге. Похоже, в новых условиях размножались преимущественно особи, наиболее устойчивые к повреждающему действию ионизирующего излучения, — шел интенсивный отбор.

Среди исследованных трех видов мышевидных грызунов наиболее «чувствительным» к действию ионизирующего излучения оказался эволюционно молодой вид обыкновенной полевки, для которого характерна определенная кариотипическая нестабильность в ареале, в отличие от полевки экономки и рыжей полевки.

Мутанты в зоне отчуждения ЧАЭС не выявлены у мышевидных грызунов — ни при экспозиции линейных мышей (C57BL/6, BALB/c, CC57W/Mv)

к повышенному (примерно в 100 раз) уровню ионизирующего излучения в спецварии, ни у видов рыжей и обыкновенной полевки, и у полевки-экономки, отловленных в т. ч. и в «Рыжем лесу». То есть, ионизирующее излучение не индуцирует новых аномалий, а только усиливает проявление исходно нестабильных цитогенетических характеристик для каждой из исследованных линий мышей.

Межвидовое сравнение свидетельствует в пользу данных, полученных на линейных мышах о том, что повышение дозы ионизирующего излучения не индуцирует новые генетические повреждения, а усиливает потенциально имеющиеся, специфичные для отдельных генотипов (разные линии мышей) и для отдельных видов (разные виды мышевидных грызунов).

Генетические нарушения возникают в организме постоянно, но только малая их часть сохраняется дольше, чем два-три клеточных деления. То есть даже если нарушений возникает действительно много, негативные последствия будут иметь далеко не все. У животных имеются сложные, комплексные механизмы, контролирующие состояние генома. Они же обеспечивают защиту от возникающих ошибок, повреждений генетического материала. Наличие механизмов репарации — обязательное условие существования биологических объектов — открытых систем, в которых тем не менее сохраняется определенный уровень упорядоченности (энтропии). Поэтому мутации, которым удается уклониться от систем контроля генетического постоянства, события редкие. В то же время, реальную опасность представляют как раз те, которые могут сохраняться в ряду клеточных поколений.

Интересно подчеркнуть, что дозы ионизирующего излучения (в пределах исследованных нами) у лабораторных линий мышей и у полевки только увеличивают частоту встречаемости цитогенетических аномалий, по которым обнаруживаются линейно- и ви-

доспецифичная повышенная изменчивость в контрольных условиях. Можно ожидать, учитывая общий высокий уровень спонтанных повреждений ДНК и реализованных нерепарируемых мутаций в соматических клетках, что такие специфические различия в характеристиках спонтанных мутационных спектров обусловлены генетически детерминированными дефектами соответствующих репарационных систем. И если у этого организма в относительно «чистых» зонах имеется определенный дефицит систем, контролирующих расхождение хромосом в митозе по дочерним клеткам, как, например, у мышей линии C57BL/6 или обыкновенных полевок, то именно такой тип аномалий и будет увеличиваться, в первую очередь, под влиянием генотоксических воздействий. То есть, будет наблюдаться не прямая индукция генетических повреждений, а ослабление механизмов их репарации или элиминации.

У черно-пестрого (голландизированного) скота в родительском поколении частота встречаемости лейкоцитов с микроядрами оказалась статистически достоверно выше ( $P < 0,001$ ), чем в первом, во втором и в третьем поколениях животных, рожденных в зоне повышенного радионуклидного загрязнения, однако эта характеристика и в третьем поколении оказалась достоверно ниже ( $P < 0,001$ ), чем во втором. Частота встречаемости в мазках периферической крови двуядерных лейкоцитов также достоверно выше в родительском поколении, чем в первом и во втором поколениях животных. То есть, по частотам встречаемости цитогенетических аномалий в мазках периферической крови в поколениях крупного рогатого скота, родившихся в условиях повышенных доз ионизирующего излучения, наблюдается отчетливое повышение радиорезистентности животных.

В результате выполненных исследований генетической структуры в поколениях крупного рогатого скота,

воспроизводящегося в условиях повышенного радионуклидного загрязнения зоны отчуждения Чернобыльской АЭС, получены следующие данные. Только во втором поколении из родившихся в условиях повышенного радионуклидного загрязнения 160 исследованных особей выявлена одна мутантная особь по локусу трансферрина.

Обнаружено, что в чернобыльском экспериментальном стаде крупного рогатого скота различные аллели некоторых генов передаются потомкам с разной вероятностью. Кроме того, специально после выявления эффекта нарушения равновероятной передачи аллельных вариантов по ряду молекулярно-генетических маркеров с исследовательскими целями в 1990-1992 гг. сюда завезли еще 14 коров из относительно чистых районов. Этих коров мы рассматривали как нулевое — родительское поколение. От них было получено пять следующих поколений, родившихся в условиях повышенного (примерно в 100 раз) уровня ионизирующего излучения. Экспериментальное стадо насчитывало более сотни животных. Часть родительского поколения уже умерла, а в 2002 г. умер и бык Уран. Однако следует заметить, что за время существования этого стада коровы Альфа, Бета и Гамма приносили в среднем по 0,9 теленка в год, да и бык Уран в возрасте 17 лет еще сохранял свою репродуктивную функцию. А вот коровы первого поколения, рожденные в условиях повышенного радиационного фона, приносили телят почти в два раза реже. Создалось впечатление, что, если коровы попадали в загрязненную зону после рождения, это почти не сказывалось на их репродуктивной функции, но вот если в этих условиях проходило внутриутробное развитие животных, и, в частности, закладка яйцеклеток у самок, то их плодовитость существенно уменьшалась. Кроме того, в поколениях животных, родившихся в зоне, отчетливо наблюдали, что один из основополагающих законов генетики —

закон равновероятной передачи аллельных вариантов генов от родителей к потомкам, здесь иногда не срабатывает. Мы обнаружили достоверные отклонения от него для четырех генов: трансферрина, церулоплазмينا, рецептора к витамину Д и пуриноклеозидфосфорилазы. Что касается двух первых, кодирующих белки транспорта железа и меди, то здесь наследовались в основном варианты с наименьшей подвижностью в электрическом поле (то есть с наименьшим электрическим зарядом и, предположительно, более стабильные), а для рецептора к витамину Д преимущество получал, наоборот, самый «быстрый» вариант. У пуриноклеозидфосфорилазы обычно наследовался вариант с высокой активностью. С биохимической точки зрения это логично. Рецептор к витамину Д участвует, например, в регуляции внутриклеточного кальциевого обмена, от которого зависит активность ферментов, антиоксидантной системы. Пуриноклеозидфосфорилаза участвует в контроле темпов клеточного деления. А для ферментов — переносчиков железа и меди важна стабильность. Получается, что для выживания в условиях радиоактивного загрязнения некоторые варианты генов оказались неподходящими, и особи, их несущие, просто не рождались. На свет появлялись лишь те, чьим ферментным системам удавалось справиться с неблагоприятными факторами среды.

Показано, что в условиях повышенного радионуклидного загрязнения не уменьшается в поколениях гетерозиготность, несмотря на близкородственные скрещивания.

По другим генам, напротив, наблюдалось преимущественное рождение гетерозигот. В наших исследованиях достаточно отчетливо фиксировалось наличие отбора против особей, для которых было характерно носительство генотипов, типичных для высокоспециализированной родительской голштинской породы. Благодаря тому,

что животные экспериментального хозяйства всех поколений были доступны для анализа, легко можно было увидеть, какие варианты генов чаще всего не передаются потомкам, уходят из генофонда. Так, например, в первом поколении, родившемся в Чернобыле от быка Урана, потомки наследовали от коров чаще всего только один вариант гена трансферрина из 3 возможных — Д2. Причем этот вариант обычно типичен не для голштинов, а для более примитивных, но более устойчивых к неблагоприятным условиям воспроизводства пород, например, таких, как древний серый украинский скот.

Очевидно, что в отличие генетической структуры от родительского поколения существенный вклад вносят и высокая стерильность коров, родившихся в зоне отчуждения ЧАЭС.

Интересно подчеркнуть, что в работе [5] также получены отчетливые данные об увеличении смертности детей до года в европейских странах после 1986 г., то есть, после Чернобыльской аварии. Очевидно, что полученные этими авторами данные позволяют ожидать, что так же как и в наших исследованиях на модельном объекте, с этими погибшими детьми невосвратимо ушла и часть европейского генофонда.

И тут возникает другой вопрос — какие должны быть дозы радионуклидного загрязнения для того, чтобы популяция млекопитающих ответила на них повышением смертности части новорожденных и, соответственно, изменениями генетической структуры в поколениях? То есть, каковы должны быть поглощаемые живыми объектами дозы ионизирующего излучения для того, чтобы часть генофонда исчезала из популяций?

Сравнительный анализ генетической структуры F0 и F1 с использованием молекулярно-генетических маркеров (оценки распределения аллелей по 7 полиморфным структурным генам) показал, что действительно, не

все генотипы передаются от родителей к потомкам с равной вероятностью; наблюдается преимущественное воспроизводство только некоторых из них.

Так, было исследовано 14 животных родительского поколения (поглощенная доза — около 0,8 Гр/год); 35 — первого поколения; 21 — второго поколения животных, родившихся в Чернобыле. В таблице для примера представлено сравнение ожидаемых и наблюдаемых в потомстве генотипов по локусу трансферрина у исследованных животных.

То есть наблюдается в два раза меньше генотипов AA и в два раза больше генотипов AD2 по сравнению с ожидаемым. Наиболее наглядно такое нарушение равновероятной передачи аллелей обнаруживалось у 8 потомков первого поколения двух коров — Альфа и Гамма. Обе коровы были гетерозиготами по локусу трансферрина АД2, но при скрещивании с отцом Ураном все 8 потомков получили материнский аллель Д2; ни в одном из случаев не наблюдали передачу материнского аллеля А.

Наиболее выраженные такие отклонения от равновероятной передачи наблюдали, в частности, кроме трансферрина, по локусам церулоплазмينا, рецептора к витамину Д. Кроме того, по разным маркерам обнаруживалось преимущественное рождение гетерозигот.

Для того чтобы выяснить, насколько специфично наблюдаемое измене-

ние генетической структуры только для потомков экспериментального стада в Чернобыле, мы сравнили по тем же молекулярно-генетическим маркерам генетическую структуру внутривидовых групп разных пород крупного рогатого скота, которые также подвергались действию различных факторов экологического стресса. Рассматривались следующие варианты действия экологических факторов: 1) у красной степной породы в анализ были включены следующие группы: хозяйство Херсонской обл., относительно «чистая» зона, две группы — инфицированная и свободная от вируса бычьего лейкоза (одно и то же стадо), разная «чувствительность» к фактору биогического стресса; 2) хозяйства Кировограда и Донецка, для которых характерно повышенное химическое загрязнение (абиотический фактор); 3) породы пинцгау: три группы в связи с воспроизводством в равнинных, горных и высокогорных условиях (абиотический фактор); 4) серая украинская порода: группа в Херсонской обл. (исходное местообитание) и интродуцированная в Сибирь (абиотический фактор); 5) голштинской породы две группы — в относительно «чистой» зоне, Херсонская обл., и в экспериментальном хозяйстве Новошепеличи (абиотический фактор).

На основании распределения аллелей структурных генов и расчета генетических расстояний была построена дендрограмма. Полученные данные

Ожидаемое и наблюдаемое распределение генотипов по локусу трансферрина у потомков, родившихся в первом поколении, в условиях хронического действия повышенного ионизирующего излучения

Генотипы трансферрина у 13 коров-матерей	Ожидаемые генотипы трансферрина у потомков					
1AD1	x AD1 (Уран) = AA	2AD1	D1D1	—	—	
7AD2	x AD1 (Уран) = 7AA	7AD1	—	7AD2	7D1D2	
5D1D2	x AD1 (Уран) = —	5AD1	5D1D1	5AD2	5D1D2	
СУММАРНО 52 ГЕНОТИПА	8AA	14AD1	6D1D1	12AD2	12D1D2	
В %	15	27	12	23	23	
	Наблюдаемые генотипы трансферрина у потомков					
СУММАРНО 35 ГЕНОТИПОВ	3AA	7AD1	3D1D1	16AD2	6D1D2	
В %	8,6	20,0	8,6	45,7	17,1	

свидетельствуют о том, что влияние факторов экологического стресса может приводить к существенной генетической дифференциации между группами животных, в некоторых случаях такая дифференциация оказывается больше, чем межпородные отличия.

Выявлены два гена, продуктами которых являются рецептор витамина Д и пурипнуклеозидфосфориласа, полиморфизм которых во всех случаях участвовал в межгрупповой внутрипородной дифференциации в связи с действием факторов экологического стресса. Это позволяет предполагать наличие универсальных характеристик популяционно-генетического ответа на влияние разных факторов экологического стресса.

Важно подчеркнуть, что потомки высокоспециализированной молочной породы — голштины — в условиях экспериментального хозяйства Новошепеличи по распределению аллелей исследованных структурных генов образуют общий кластер с древнейшей породой крупного рогатого скота — серой украинской (предположительно промежуточная форма между туром и всем европейским домашним скотом). То есть в условиях экологического стресса по структурным генам наблюдается сдвиг генетической структуры в сторону более примитивной, предковой породе.

Выполнен также анализ генетической структуры экспериментального стада Новошепеличи, голштинов из хозяйства относительно «чистой» Херсонской обл., и некоторых других пород с использованием другого варианта молекулярно-генетических маркеров — фрагментов ДНК, фланкированных инфертированными повторами микросателлитных локусов (ISSR-PCR маркеры). В результате была получена дендрограмма. На этой дендрограмме, так же как и на полученной на основе анализа по биохимическим маркерам, голштины, рожденные в экспериментальном хозяйстве, попадают в один кластер с серой украинской по-

родой, в отличие от голштинов из относительно «чистой» зоны.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что в поколениях крупного рогатого скота наблюдается нарушение равновероятной передачи аллельных вариантов по различным типам молекулярно-генетических маркеров, как по структурным генам, так и по фрагментам ДНК, фланкированным различными микросателлитными повторами. По генетической структуре наблюдается сдвиг генофонда экспериментального стада Новошепеличи, исходно принадлежавшего специализированной молочной породе, в сторону древней и примитивной предковой породе — серой украинской, по разным вариантам молекулярно-генетических маркеров.

Возникает вопрос — как это может происходить. Оценка плодовитости коров в разных поколениях экспериментального стада свидетельствует о том, что основным механизмом может быть изменение приспособленности генотипов (их вклад в следующее поколение) за счет уменьшения рождаемости и увеличения гибели телят до трех месячного возраста.

За 7-9 лет исследований и в первом, и втором поколениях, плодовитость коров, рожденных в экспериментальном хозяйстве, снижается примерно в два раза, по сравнению с родительским поколением.

У коров этого экспериментального стада наблюдалось отчетливое изменение плодовитости в зависимости от их принадлежности к поколениям F<sub>0</sub>, F<sub>1</sub> или F<sub>2</sub>. Так, 16 коров родительского поколения (F<sub>0</sub>) экспериментального стада, рожденных в «чистой» зоне, суммарно дали 96 телят (0,93±0,03 теленка на корову в год); 20 из них (21%) умерли в возрасте до 3 месяцев после рождения. F<sub>1</sub>, первое дочернее поколение, родившееся в условиях экспериментального хозяйства Новошепеличи (~200 Ки/км<sup>2</sup>), существенно отличалось от родительского по этому показателю. Так, среди 36 коров F<sub>1</sub>

21 корова (58%) оказались стерильными; только 15 коров F1 принесли потомство F2 поколения ( $0,73 \pm 0,06$ ); 13 из них умерли до 3-месячного возраста после рождения (26%). Четыре коровы F2 суммарно дали 10 телят (F3) за 2-4 года; т. е.  $0,94 \pm 0,06$  теленка на корову в год.

Обращает на себя внимание также тот факт, что среди 20 погибших телят в F1 преобладали самцы (среди погибших были 6 самок и 14 самцов), а среди 13 погибших телят F2 соотношение полов было приблизительно одинаковым (7 самок и 6 самцов).

Такое уменьшение рождаемости и увеличение смертности животных позволяет предполагать наличие отбора против наиболее радиочувствительных особей, интенсивность которого особенно выражена в поколении F1.

Полученные данные свидетельствуют о том, что относительно небольшое увеличение доз ионизирующего излучения, по сравнению с мировым диапазоном, могут приводить к увеличению гибели потомства у таких видов млекопитающих, как человек и крупный рогатый скот, и, соответственно, к изменению генетической структуры потомства, поскольку часть генофонда уходит с погибшими особями. Можно ожидать, что направление таких генофондных изменений обусловлено преимущественным воспроизводством наиболее устойчивых к неблагоприятным воздействиям, но наименее специализированных особей.

Таким образом, на основании выполненных исследований можно сделать несколько следующих выводов.

Главная проблема для популяций разных видов, в т. ч. и человека, проживающих на территориях, загрязненных радионуклидами после аварии на Чернобыльской АЭС заключается не в абсолютной величине полученных доз ионизирующего излучения, а в новизне для них этих доз.

Главные генетические последствия для популяций разных видов заключаются не в увеличении количества

мутантных организмов, а в том, что часть генов уходит из их воспроизводства, вследствие селекции против «радиочувствительных» организмов. То есть, не появляются новые гены, а уходят старые, связанные с повышенной «чувствительностью» организмов к новым условиям воспроизводства. Имеются косвенные данные, свидетельствующие, что более приспособленными к новым условиям внутри вида оказываются наименее специализированные особи.

Таким образом, на чернобыльской модели впервые установлен факт популяционно-генетических изменений у животных, воспроизводящихся в условиях экологического стресса, а также выявлено направление таких изменений в сторону сохранения гетерозиготности по ряду молекулярно-генетических маркеров.

Направление отбора очевидно — преимущество для воспроизводства получают особи, наиболее устойчивые к генотоксическим воздействиям ионизирующего излучения. Интересно, однако, другое: не только ионизирующее излучение, но и другие неблагоприятные факторы приводят к постепенному накоплению в группах крупного рогатого скота некоторых вариантов отдельных генов, причем гены эти — те же самые. Обнаружилось, например, сходство между коровами, которые рождаются в условиях Чернобыля, и теми, которые появились на свет в новом регионе разведения — после перемещения группы крупного рогатого скота серой украинской породы из Херсонской обл. в Сибирь. В общем популяционно-генетическая адаптация идет не путем размножения новых вариантов генов, а благодаря перетасовке старых, с тем, чтобы получить комбинацию, благоприятную для новых условий. Исследования генетических процессов у различных видов в зоне отчуждения ЧАЭС как раз и позволяют вычленил у них ту часть генофонда, которая ответственна за выживание в условиях повышен-

ного давления естественного отбора. Не выявлено носителей робертсоновских транслокаций, присутствие которых нередко наблюдается в «чистых» зонах у представителей видов с акроцентрическими аутосомами.

#### Заключение

В общем, рассмотренные результаты экспериментальных исследований позволяют сделать следующее заключение. Не обнаруживается увеличения мутантных особей у исследованных видов в условиях хронического действия повышенного уровня ионизирующего излучения. Увеличение частот соматических клеток с цитогенетическими аномалиями не сопровождалось качественными изменениями по сравнению со спонтанными мутационными спектрами, поскольку наблюдалось увеличение нестабильности хромосомного аппарата только по тем характеристикам, по которым имелись генотипические особенности у линий мышей и видовые — у полевок. У полевок повышение количества радиорезистентных особей выявляется примерно через 26 поколений после аварии и только в местообитаниях с максимальным уровнем радионуклидно-

го загрязнения. В поколениях крупного рогатого скота обнаруживается нарушение равновероятной передачи аллельных вариантов по ряду молекулярно-генетических маркеров и рост гетерозиготности. По генетической структуре наблюдается сдвиг генофонда экспериментального стада Новошепеличи, исходно принадлежащего специализированной молочной породе, в сторону менее специализированных пород с комбинированной продуктивностью. Такой сдвиг, по видимому, является универсальным популяционно-генетическим ответом у крупного рогатого скота на действие разных факторов экологического стресса.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Барановський В.А. Антрополопчний ризик Еколого-географічна карта України, / Центр екологічної освіти та трансформації. Кшв, 2001. — 2. Edden E., Fries R. // *Animal Genetics*, 1995. V. 26. P. 215-236. — 3. Gamier-Gere P., Dillmann C.A. // *J. Heredity*, 1992. V. 83. N 3. — 4. Rothkamm K., Lobrieh M. // *PNAS*, 2003. V. 100. N.9. P. 5057-5062. — 5. Hagen Scherb // *International J. of Epidemiology*, 1999. 28. 932-940.

#### SUMMARY

With the using of different types of molecular-genetic markers, cytogenetic analysis, the investigation of population-genetic consequences in different species living in alignment zone of Chernobyl's NPP was carried out. As the result of different model investigations the following experimental data were obtained. The increase of number of animals carrying of constitutive mutations in species reproduced in conditions of ionizing irradiation increasing was not observed. It was revealed in cattle generation: a) the decrease of calf's births and the increase of calf mortality; b) the disruption of equal probability of different allele inheriting - elimination of one between them and preferable reproduction of other alleles; c) the shift of genetic structure in generation from the parent's one to typical structure for more primitive forms; d) the changes of genetic structure in cattle generations, reproducing in conditions of ionizing irradiation increasing were similar to population-genetic consequences which were observed as result of influences of different biotic and abiotic factors of ecological stresses (for example, virus infection, introduction and reproduction of cattle in new ecology-geographical zones). The obtained data testified that the main answer to chronic ionizing irradiation in low dose did not include the induction the new gene appearing, but the selection of some gene assembles, which obtained the preferable reproduction in offspring.