

Т.И. ЕВСЕЕВА¹, С.А. ГЕРАСЬКИН², Е.С. ХРАМОВА¹¹ Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар,² Всероссийский НИИ сельскохозяйственной радиологии и агроэкологии, Обнинск

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА РАННИХ И ОТДАЛЕННЫХ РЕАКЦИЙ КЛЕТОК РАСТЕНИЙ НА КРАТКОВРЕМЕННОЕ И ХРОНИЧЕСКОЕ СОЧЕТАННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ²³²Th И Cd



Изучено кратковременное (30 ч) и хроническое (30 дней) сочетанное действие ²³²Th (0,18 мг/л) и Cd (60 мг/л) на традесканцию (клон 02) и лук репчатый. Ранняя реакция как соматических, так и генеративных клеток растений на сочетанное действие ²³²Th и Cd выражается в синергическом увеличении частоты цитогенетических нарушений. Регистрируемый экспериментально уровень генотоксических и цитотоксических отдаленных эффектов оказался ниже аддитивного как в случае кратковременного, так и хронического воздействия. Однако формирование этих сходных по результату ответных реакций происходит на разных уровнях биологической организации: если в случае кратковременного воздействия наблюдаемый эффект определяют внутриклеточные компенсаторные процессы, то в случае хронического — массовая гибель наиболее поврежденных бутонов в соцветии.

© Т.И. ЕВСЕЕВА, С.А. ГЕРАСЬКИН, Е.С. ХРАМОВА, 2003

Введение. Принципиальная нелинейность ответной реакции биологических систем на сочетанное действие факторов среды выражается в возникновении синергических и антагонистических эффектов, возможность проявления которых зависит от многих условий. В настоящее время значительные результаты достигнуты в вопросе прогнозирования величины максимального синергизма в зависимости от соотношения концентраций действующих агентов [1]. Меньше сведений имеется о закономерностях изменения реакции биологических объектов при варьировании временных характеристик сочетанного действия факторов. Твердо установлен лишь факт, что последовательное применение агентов при определенном соотношении доз, концентраций и времени между воздействиями ведет к индукции адаптивного ответа, результатом которого является снижение эффекта воздействия второго фактора [2, 3].

Детального анализа требуют не только временные параметры воздействия, но и характеристики состояния самих биологических систем, которые не инвариантны относительно времени. С этих позиций крайне важной является сравнительная оценка ранних и отдаленных эффектов кратковременного и хронического сочетанного воздействия факторов. Специальных исследований в этом направлении, в отличие от случая раздельного действия агентов, крайне мало, хотя очевидно не только теоретическое, но и практическое значение таких работ, поскольку в условиях антропогенного изменения среды обитания приходится сталкиваться именно с длительным сочетанным воздействием на биологические объекты низких доз и концентраций факторов разной природы.

Цель настоящей работы — дать сравнительную оценку ранним и отдаленным реакциям клеток растений на кратковременное и хроническое сочетанное действие ²³²Th и Cd.

Материалы и методы. Использование в качестве действующих факторов нитратов ²³²Th и Cd обосновано в предыдущих наших публикациях [4, 5]. В них же подробно описаны объекты и методы исследования. Укажем только те процедуры, которые необходимы для понимания сути настоящей работы.

В экспериментах с традесканцией свежесрезанные побеги с момента раскрытия первого цветка в соцветии помещали в растворы нитратов ²³²Th (0,18 мг/л по иону тория), Cd (60 мг/л по иону кадмия) или дистиллированную воду (конт-

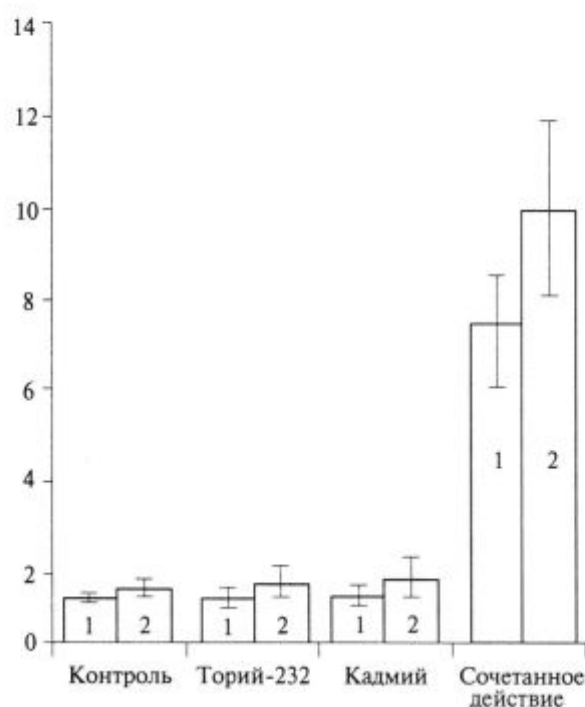


Рис. 1. Частота (%) клеток с микроядрами и число микроядер на 100 тетрад в материнских клетках пыльцы традесканции (клон 02) при раздельном и сочетанном действии ^{232}Th и Cd: по горизонтали — вариант эксперимента; по вертикали — частота клеток с микроядрами (1) и число микроядер на 100 тетрад (2)

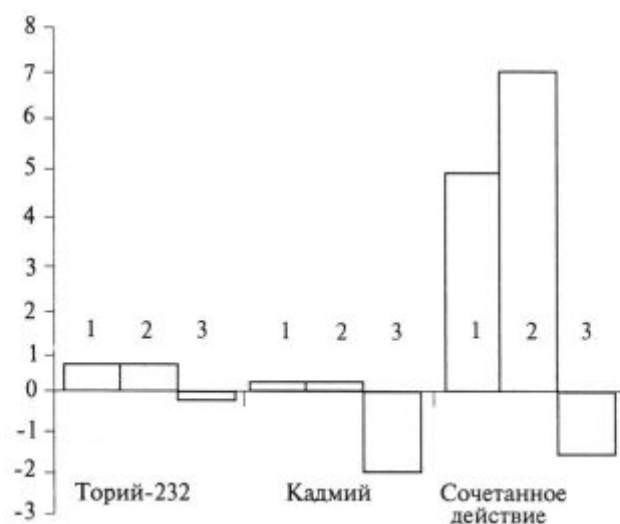


Рис. 2. Частота aberrantных ана-телофаз (%), количество aberrаций на 100 клеток и величина (%) митотического индекса клеток корневых меристем *Allium cepa* при раздельном и сочетанном действии ^{232}Th и Cd: по горизонтали — вариант эксперимента; по вертикали — инкременты: частоты aberrantных ана-телофаз (1), количества aberrаций на 100 ана-телофаз (2), величины митотического индекса (3)

роль). При исследовании сочетанного действия раствор содержал одновременно ионы ^{232}Th и Cd в указанных концентрациях. Генотоксичность тестируемых соединений оценивали по частоте соматических мутаций, цитотоксичность — по потере репродуктивной способности клеток волосков тычинок (ВТ). Время воздействия токсикантов составляло либо 30 ч (кратковременное действие), либо 30 дней (хроническое). В первом случае растения после 30-часовой экспозиции переставляли в дистиллированную воду. Волоски тычинок анализировали в течение 30 дней в обоих вариантах исследований, что позволило в случае 30-часовой обработки регистрировать отдаленные эффекты кратковременного действия ионов металлов на растения.

Для изучения ранних эффектов действия ^{232}Th и Cd применяли микроядерный тест на традесканции и ана-телофазный метод учета перестроек хромосом в корневых меристемах лука репчатого, обработанных в течение 30 ч. Это время с момента воздействия необходимо для перехода большинства клеток апикальных меристем лука в ана-телофазу первого митоза [5] и материнских клеток пыльцы традесканции в стадию тетрад [6].

В клетках корневых меристем лука, находящихся на стадии ана-телофазы, учитывали одиночные, двойные мосты и фрагменты, отставшие хромосомы, подсчитывали митотический индекс во временных давленных препаратах, окрашенных ацетокармином. Тест на микроядра в материнских клетках пыльцы традесканции проводили по методике [6]. Анализировали не менее 1000 ана-телофаз и по 1500 тетрад на вариант.

Статистическую обработку данных осуществляли общепринятыми методами [7]. Коэффициенты взаимодействия рассчитывали по формуле [8]. Поскольку эксперименты проводили в разные годы, эффекты действия ионов металлов сравнивали по инкрементам.

Результаты исследований и их обсуждение. Анализ ранней реакции растений на раздельное действие ^{232}Th и Cd свидетельствует о том, что оба иона металла в изученных концентрациях не вызывают достоверного увеличения доли тетрад с микроядрами в пыльниках традесканции и частоты aberrantных клеток в корневых меристемах лука (рис. 1 и 2). Другими авторами [9] показано, что статистически значимое повышение доли тетрад с микроядрами в пыльниках традескан-

ции наблюдается при концентрации Cd в растворе не менее 1 мМ и экспозиции 6 ч. Тем не менее в нашем эксперименте при 30-часовом воздействии концентрация кадмия 0,26 мМ (60 мг/л) достоверно ($p = 0,02$) увеличила по сравнению с контролем нагруженность тетрад повреждениями (рис. 1) и снизила пролиферативную активность клеток апикальных меристем лука (рис. 2). Торий-232 в использованной концентрации не проявлял токсичности в обоих тестах.

При изучении отдаленных эффектов 30-часового действия ионов металлов на клетки ВТ традесканции (табл. 1) обнаружена сходная реакция растений. Частоты генных мутаций после выдерживания черенков в растворах ^{232}Th или Cd не отличаются от контрольных, а пролиферативная активность клеток ВТ достоверно снижается только при обработке кадмием: потеря репродуктивной способности на 0,36 % превосходит контрольное значение. Хотя тенденции реакции растений сходны, все же уровни ранних цитогенетических эффектов действия и ^{232}Th , и Cd превосходят отдаленные. Так, доля индуцируемых кадмием аберрантных клеток корневых меристем лука больше контрольной на 0,24 %, торием — на 0,63 %. Митотический индекс снижен на 1,96 и 0,30 % соответственно. Инкременты частот тетрад с микроядрами составляют для варианта с Cd 0,20 %, для ^{232}Th — 0,21 %. Соответствующие уровни индуцированных ионами металлов отдаленных генотоксического и токсического эффектов оказываются ниже (табл. 1).

В случае хронического воздействия (табл. 2) изученная концентрация ^{232}Th , не подавляя процесс деления клеток ВТ традесканции, индуцирует достоверный генотоксический эффект, превышающий как контрольный уровень, так и наблюдаемый после 30-часового воздействия (при $p = 0,03$). Кадмий, не увеличивая частоту генных мутаций, усиливает токсический эффект: несмотря на неразличающиеся значения инкрементов величин потери репродуктивной способности клеток ВТ при кратковременном и хроническом воздействии кадмия (табл. 1 и 2), во втором варианте наблюдается гибель бутонов с 11–14-го по 20–22-й дни от начала эксперимента. Таким образом, увеличение времени действия как ^{232}Th , так и Cd приводит к повышению уровня регистрируемых биологических эффектов.

При совместном поступлении ^{232}Th и Cd общие тенденции реакции растений сохраняются. Так, уровни индуцируемых ранних эффектов превышают отдаленные, причем эти различия намного очевиднее, чем при раздельном действии

Таблица 1
Частота соматических мутаций, морфологических аномалий и потеря репродуктивной способности клеток ВТ традесканции (клон 02) при раздельном и сочетанном кратковременном (30 ч) действии нитратов ^{232}Th и Cd

Количество проанализированных волосков тычинок, шт.	Соматические мутации, %		Потеря репродуктивной способности клеток, %	
	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	Инкремент	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	Инкремент
Контроль (2002 г.)				
13800	$0,13 \pm 0,04$	0	$0,32 \pm 0,25$	0
^{232}Th (2002 г.)				
12373	$0,13 \pm 0,04$	–0,001	$0,28 \pm 0,16$	–0,04
Cd (2002 г.)				
10959	$0,10 \pm 0,10$	–0,03	$0,68 \pm 0,27^*$	0,36
Cd + ^{232}Th (2002 г.)				
7860	$0,12 \pm 0,07$	–0,01	$0,60 \pm 0,17^*$	0,28

*Отличие от контроля достоверно при $p < 0,05$.

Таблица 2
Частота соматических мутаций, морфологических аномалий и потеря репродуктивной способности клеток ВТ традесканции (клон 02) при раздельном и сочетанном хроническом (30 дней) действии нитратов ^{232}Th и Cd

Количество проанализированных волосков тычинок, шт.	Соматические мутации, %		Потеря репродуктивной способности клеток, %	
	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	Инкремент	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	Инкремент
Контроль (1997 г.)				
19452	$0,06 \pm 0,01$	0	$0,06 \pm 0,01$	0
^{232}Th (1997 г.)				
20506	$0,120^* \pm 0,004$	0,06	$0,10 \pm 0,03$	0,04
Контроль (2001 г.)				
10393	$0,07 \pm 0,02$	0	$0,23 \pm 0,07$	0
Cd (2001 г.)				
20359	$0,10 \pm 0,03$	0,03	$0,63 \pm 0,42^*$	0,40
Cd + ^{232}Th (2001 г.)				
15066	$0,09 \pm 0,04$	0,02	$0,34 \pm 0,27$	0,11

*Отличие от контроля достоверно при $p < 0,05$.

ионов металлов. Действительно, для варианта с 30-часовой экспозицией частота аберрантных клеток в корневых меристемах лука, как и доля тетрад с микроядрами (рис. 1 и 2), превышают достоверно ($p < 0,001$) не только соответствующий контроль, но и ожидаемый аддитивный эффект. Коэффициенты взаимодействия (K_w) для показателей «доля клеток с абберациями» в корневых меристемах лука и «частота тетрад с микроядрами» в пыльниках традесканции равны 4,02 ($p < 0,05$) и 15,15 ($p < 0,001$). Более того, в обоих случаях синергически увеличивается нагруженность клеток повреждениями: $K_w = 5,77$ ($p < 0,05$) и 10,55 ($p < 0,001$) соответственно. В то же время отдаленные генотоксические эффекты сочетанного действия ^{232}Th и Cd на ВТ традесканции оказались антагонистическими независимо от продолжительности экспозиции токсикантов. K_w , рассчитанный по величинам частот соматических мутаций, которые индуцируются в клетках ВТ при 30-часовом действии ионов металлов, составил 0,32 ($p < 0,03$), а для случая хронического совместного поступления ^{232}Th и Cd — 0,22 ($p < 0,001$).

Очевидно, как при раздельном, так и совместном влиянии ^{232}Th и Cd максимально возможное число первичных повреждений в клетках возникает в период интенсивного поступления ионов в растения, до достижения уравновешенной (steady-state) фазы и во время нее. Этот период составляет для Cd несколько часов при поступлении из раствора и зависит от концентрации ТМ и тест-объекта [10]. Экспериментально показано [11, 12], что ранний ответ клетки на воздействие Cd включает повышение уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ) и нарушение механизма антиоксидантной защиты. В это же время адаптивные и компенсаторные реакции (восстановление структуры и функций поврежденных во время стресса белков, активация антиоксидантных систем, связывание ионов эндогенными защитными веществами, депонирование их в вакуолях и трихомах в метаболически неактивной форме и т.п.) еще не получают должного развития [11, 13]. Например, активация синтеза металлтионеинов, играющих важное значение в связывании Cd, наблюдается уже через несколько минут после обработки растений ТМ [13], но оптимальная для детоксикации концентрация белков в тканях обнаруживается лишь спустя двое суток от начала воздействия [14]. Поэтому имен-

но в первые часы поглощения растением ионов металлов регистрируется максимальный повреждающий эффект, что обусловлено характером их поступления и перераспределения в компартментах клетки, а также различием направленности ее ранней и отсроченной реакции на присутствие ТМ. Такой результат наблюдается при 30-часовом совместном с ^{232}Th и раздельном действии кадмия. Если же повреждения репарируются, как в варианте с одним только ^{232}Th , то регистрируемый биологический эффект не отличается от контрольного.

При раздельном поступлении исследуемых ионов металлов в растения условия реализации первично возникающих повреждений в клетках определяются в основном интенсивностью (концентрационной или временной) действия агента. В случае сочетанного поступления наиболее важное значение приобретает функциональное состояние самой системы, о чем свидетельствует существенная зависимость величины совместного эффекта ^{232}Th и Cd от времени, прошедшего с начала экспозиции. Особенность реакции клеток при одновременном влиянии факторов заключается в возможности взаимодействия повреждений, индуцированных каждым агентом в отдельности [4]. Эти процессы и обуславливают синергический эффект взаимодействия ^{232}Th и Cd на ранних стадиях формирования ответной реакции растений.

Иная ситуация создается при реализации повреждений в клетках ВТ традесканции на протяжении 30-дневного периода. В этом случае либо развиваются компенсаторные внутриклеточные процессы, направленные на детоксикацию ионов металлов и устранение индуцируемых ими повреждений в клетках растений, либо бутоны гибнут, и в результате часть нарушений ВТ не может быть зарегистрирована. Соотношение между этими процессами изменяется в зависимости от временных параметров воздействия.

При 30-часовом совместном поступлении ^{232}Th и Cd в растения длительность периода цветения традесканции не только не отличается от контроля, но и превосходит наблюдающуюся для раздельного действия Cd. Такой феномен мог быть следствием антагонизма ионов на пути поступления в растения. Однако эту причину следует исключить, поскольку конкуренция при поступлении ионов должна была снизить эффект сов-

местного действия ^{232}Th и Cd на клетки пыльцы традесканции. Но этого не произошло, напротив, эффект взаимодействия оказался синергическим. Поэтому антагонизм по показателю «генные мутации» в случае сочетанного 30-часового действия ионов металлов на ВТ традесканции можно считать следствием развития компенсаторных процессов.

В варианте с хроническим воздействием ^{232}Th и Cd антагонизм в отношении индукции генных мутаций обусловлен исключительно массовой гибелью поврежденных бутонов, которая начинается с 11-го дня, причем цветение больше не восстанавливается, и повреждения в ВТ не могут быть учтены. Поэтому регистрируется антагонизм ($K_w = 0,25$; $p < 0,001$) и по потере репродуктивной способности клеток, тогда как при 30-часовом воздействии — аддитивность ($K_w = 0,70$; $p > 0,05$).

Следовательно, сохраняется вторая закономерность, характерная для раздельного действия ионов металлов: повреждающий эффект в случае их хронического поступления выше, чем для 30-часового (табл. 1 и 2). Однако при сочетанном действии ^{232}Th и Cd время, прошедшее от начала воздействия (рис. 1 и 2, табл. 1), в большей мере сказывается на величинах регистрируемых эффектов, чем длительность экспозиции в растворе токсикантов (табл. 1 и 2).

Преимущественно антагонистические и аддитивные эффекты в отношении индукции цитогенетических повреждений обнаружены при изучении сочетанного действия внесенных в почву высоких концентраций кадмия с внешним гамма-облучением на интеркалярные меристемы ячменя [8]. Низкие концентрации этого металла совместно с облучением в том же диапазоне доз вызывали достоверный синергизм.

Эти результаты свидетельствуют, что независимо от объекта исследования (традесканция, ячмень) и условий эксперимента (водные, почвенные культуры) наблюдается снижение, иногда до выраженного антагонизма, генотоксического эффекта совместного действия Cd с другими агентами (внешнее гамма-излучение, инкорпорированный ^{232}Th) при повышении интенсивности нагрузки от кадмия (концентрационной или временной).

Совокупность полученных нами данных [4, 8] позволяет констатировать, что синергическое усиление генетических эффектов действия фак-

торов разной природы наблюдается при низкой суммарной интенсивности их воздействия, когда ресурсы надежности биологических систем еще не исчерпаны. В случае увеличения времени действия агентов и/или концентраций (доз) чаще возникают аддитивные, либо антагонистические, эффекты. Наблюдаемые в наших экспериментах феномены являются не частным случаем, а общей закономерностью реакции растений на действие стрессирующих агентов, которая выражается в способности биологических систем осуществлять выбор между определенными стратегиями адаптации в зависимости от интенсивности внешнего воздействия. При этом важно отличать процессы компенсаторные от ведущих к патологическим сдвигам и гибели клеток. Настоящее исследование показывает, что в обоих указанных случаях может быть зарегистрирован антагонизм по цитогенетическим параметрам. Однако антагонистический характер отдаленных эффектов кратковременного сочетанного действия Cd и ^{232}Th является следствием внутриклеточных адаптивных реакций растений, тогда как хроническое совместное поступление ионов металлов в исследуемых концентрациях вызывает массовую гибель бутонов в соцветиях и прекращение цветения традесканции. Таким образом, отделяя антагонистические эффекты, являющиеся следствием развития компенсаторных процессов, от необратимых негативных изменений, вызванных сочетанным действием повреждающих агентов, важно учитывать реакцию систем разного уровня биологической иерархии.

Выводы. Ранняя реакция как соматических, так и генеративных клеток растений на сочетанное действие ^{232}Th и Cd выражается в синергическом увеличении частоты цитогенетических повреждений.

Регистрируемый уровень отдаленных генетических эффектов при кратковременном совместном поступлении ионов металлов в растения традесканции оказался ниже ожидаемого аддитивного, что объясняется развитием внутриклеточных компенсаторных процессов. В случае хронического одновременного воздействия ^{232}Th и Cd также наблюдается антагонизм как в отношении их генотоксического, так и цитотоксического эффектов, но обусловленный массовой гибелью наиболее поврежденных бутонов в соцветиях.

При одновременном влиянии на растения ^{232}Th и Cd сохраняются общие тенденции реакции соматических и генеративных клеток, характерные для раздельного действия ионов металлов: уровень токсичности в случае их хронического поступления выше, чем для 30-часового, а индуцируемые ранние эффекты превышают отдаленные. Однако при раздельном поступлении ионов металлов в растения условия реализации первично возникающих повреждений в клетках определяются в основном интенсивностью (концентрационной или временной) действия агента. В случае сочетанного поступления наиболее важное значение имеет функциональное состояние самой системы, о чем свидетельствует существенная зависимость величины сочетанного эффекта ^{232}Th и Cd от времени, прошедшего с начала воздействия.

SUMMARY. The short-time (30 hours) and chronic (30 days) ^{232}Th and Cd combined effects on *Tradescantia* and *Allium cepa* plants were investigated. The ^{232}Th ion concentration was equal to 0.18 mg/l and Cd ion — to 60 mg/l. The early response of both somatic and generative plant cells on Th and Cd combined action was shown to appear in synergic increase of cytogenetic damage frequency. The level of genotoxic and cytotoxic long-term effects turned out to be lower than of the additive one both under the chronic as under the short-time action. These similar in result responses occur on different biological organization levels: in the case of short-time action the effects observed are detected by the intracellular compensatory processes, and in the case of chronic action by the mass death of the most damaged buds in the inflorescence.

РЕЗЮМЕ. Вивчено короткочасну (30 год) і хронічну (30 днів) сполучну дію ^{232}Th (0,18 мг/л) і Cd (60 мг/л) на традесканцію (клон 02) і цибулю ріпчасту. Рання реакція як соматичних, так і генеративних клітин рослин на сполучну дію ^{232}Th і Cd виражається в синергічному збільшенні частоти цитогенетичних порушень. Знайдений експериментально рівень генотоксичних і цитотоксичних віддалених ефектів виявився нижчим адитивного як у випадку короткочасної, так і хронічної дії. Проте формування цих схожих за результатом відповідних реакцій відбувається на різних рівнях біологічної організації: якщо у випадку короткочасної взаємодії, що спостерігається, ефект визначають внутріклітинні компенсаторні процеси, то у випадку хронічної — масова загибель найбільш вражених бутонів у суцвітті.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рябова С.В., Петин В.Г. Возможность прогнозирования синергических эффектов комбинированных воздействий на организменном уровне // Радиационная биология. Радиоэкология. — 1999. — 39, № 1. — С. 113–126.

2. Petin V.G., Berdnikova I.P. Effect of elevated temperatures on the radiation sensitivity of yeast cells of different species // Radiat. Environ. Biophys. — 1979. — 16, № 1. — P. 49–61.
3. Петин В.Г., Рябенко Н.И., Суринов Б.П. Концепция синергизма в радиобиологии // Радиационная биология. Радиоэкология. — 1997. — 37, вып. 4. — С. 482–487.
4. Евсеева Т.И., Гераськин С.А. Сочетанное действие факторов радиационной и нерадиационной природы на традесканцию. — Екатеринбург: УрО РАН, 2001. — 156 с.
5. Евсеева Т.И., Гераськин С.А., Храмова Е.С. Цитогенетические эффекты раздельного и совместного действия нитратов ^{232}Th и Cd на клетки корневой меристемы *Allium cepa* // Цитология. — 2001. — 43, № 8. — С. 803–808.
6. Ma T.H., Cabrera G.L., Chen R., Gill B.S., Sandhu S.S., Vandenberg A.L., Salamone M.F. *Tradescantia* micronucleus bioassay // Mutat. Res. — 1994. — 310, № 2. — P. 22–230.
7. Лакин Г.Ф. Биометрия. — М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.
8. Гераськин С.А., Дикарев В.Г., Удалова А.А., Дикарева Н.С. Влияние комбинированного действия ионизирующего излучения и солей тяжелых металлов на частоту хромосомных aberrаций в листовой меристеме ярового ячменя // Генетика. — 1996. — 32, № 2. — С. 279–288.
9. Steinkellner H., Mun-Sik K., Helma C., Echer S., Ma T.H., Horaka S., Kundi M., Knasmüller S. Genotoxic effects of heavy metals: comparative investigation with plant bioassays // Environ. Mol. Mutagen. — 1998. — 31, № 2. — P. 183–191.
10. Hart J.J., Welch R.M., Norvell W.A., Sullivan L.A., Kochian L.V. Characterisation of Cadmium binding, uptake and translocation in intact seedlings of bread and durum wheat cultivars // Plant Phys. — 1998. — 116. — P. 1413–1420.
11. Gupta S., Athar M., Behari J.R., Srivastava R.C. Cadmium-mediated induction of cellular defence mechanism: a novel example for the development of adaptive response against a toxicant // Ind. Health. — 1991. — 29, № 1. — P. 1–9.
12. Romero-Puertas M.C., McCarthy I., Sandalio L.M., Palma J.M., Corpas F.J., Gomez M., del Rio L.A. Cadmium toxicity and oxidative metabolism of pea leaf peroxisomes // Free Radic. Res. — 1999. — 31. — P. 25–31.
13. Cobbett C.S. Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification // Plant Phys. — 2000. — 123. — P. 825–832.
14. Лебедева А.Ф., Саванина Я.В., Барский Е.Л., Гусев М.В. Устойчивость цианобактерий и микроводорослей к действию тяжелых металлов: роль металлсвязывающих белков // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология. — 1998. — № 2. — С. 42–49.

Поступила 28.11.02