

УДК 546.296:575:576.315.45

БИОИНДИКАЦИЯ МУТАГЕННОГО ЭФФЕКТА РАДОНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЯДРЫШКОВОГО ТЕСТА В КЛЕТКАХ КОРНЕЙ ТРАДЕСКАНЦИИ

© 2004 г. А.И. Федорова, В.Н. Калаев, А.Ю. Плахотина

Воронежский государственный университет

Проведена биоиндикация состояния среды и мутагенного эффекта газа радона и продуктов его распада в производственных и жилых помещениях санатория, расположенного в зоне источников радоновых вод, с использованием ядрышкового теста, проведенного на клетках апикальной меристемы корней зеленых черенков одного из видов традесканции – *Zebrina pendula Schnizl*. Наибольшая активность радона, определенная по возрастанию количества ядрышек, число которых достигало 8–9 штук, наблюдалась в столовой, что объясняется близостью к почвогрунту (1 этаж), откуда поступает радон, плохой проветриваемостью помещений. Относительно высокая активность и увеличение количества ядрышек до 5–6 отмечено в свето- и водолечебницах, что объясняется использованием ультрафиолетовых ламп и поступлением в помещение радона, растворенного в воде. Объясняется механизм проникновения радона и продуктов его распада (α -распад) к корням. Эффект его действия связан с ионизацией воды и образованием сильных окислителей – H_2O_2 и $HO_2\cdot$.

ВВЕДЕНИЕ

Выявление мутагенного эффекта различных “загрязнителей” среды, в том числе и природных, актуально в связи с нарастанием в настоящее время тератогенных и онкогенных изменений у всех типов организмов. Известно, что наиболее сильным мутагенным фактором является радиация и некоторые химические вещества. При этом мутагенный эффект как в соматических клетках, так и в репродуктивных, вызывают все типы ионизирующих излучений (α -, β -, γ -излучения), ультрафиолетовые лучи и др. [1–3]. Среди мутагенных факторов радиационной природы наибольшее значение имеет газ радон, который дает 54,3% суммарной дозовой нагрузки от естественных источников облучения [1, 3, 4], накапливается в закрытых помещениях, особенно стоящих на грунте, содержащем радиоактивные предшественники радона. Его влияние проявляется через жесткое внутреннее облучение (α -распад), где заряженные частицы, состоящие из двух протонов и двух нейтронов, обладают чрезвычайно сильной контактной активностью, вызывая повреждения клеток биообъектов и являясь одной из причин рака легких.

Радон – природный газ, бесцветный, не имеющий запаха, в 7,5 раз тяжелее воздуха, химически инертный. Наиболее распространен радон-222 с периодом полураспада 3,8 суток, производное урана-238 [1, 5].

Радон может соединяться с очень мелкими частицами, находящимися в воздухе, образуя аэрозоли.

Он растворим в воде и может передвигаться с водными растворами на значительные расстояния, перемещаться в кровяном русле животных и человека. Есть доказательства, что наиболее сильное влияние на организм оказывают продукты распада радона – полоний-218, свинец-214, полоний-214, имеющие период полураспада от долей секунды до 20 мин, представляющие собой твердые частицы [1, 3, 4], способные оседать на поверхностях. Среди промежуточных продуктов распада встречаются и β -излучатели, однако они относятся к короткоживущим изотопам, но также обладают контактным действием. В общем же потоке излучения от радона и продуктов его распада преобладают α -частицы. Конечными продуктами распада являются сначала стабильные изотопы свинца-210 (период полураспада 22,3 года), а затем (через короткоживущие висмут-210 и полоний-210) образуется стабильный изотоп свинца-206. Все вышеуказанные продукты – α -излучатели, т.е. действуют на живую ткань контактно. Таким образом, в закрытых помещениях действует как сам газ радон, так и продукты его распада, в основном свинец, который появляется в среде через 4 суток. Активность радона внутри зданий обычно определяется геологическими особенностями местности, типом строительных материалов и качеством вентиляции. Внутри зданий радон проникает, главным образом, из почвы (через щели в фундаменте). Источником радона может также быть артезианская радиоактивная вода, газо- и нефтепродукты. Обыч-

но радон скапливается на нижних этажах закрытых помещений, где его количество в десятки раз превышает его содержание в атмосфере [1, 3, 4].

В настоящее время для выявления пороговых концентраций химических мутагенов и низких доз радиации применяется ядрышковый тест (изменение числа, площади поверхности, типа ядрышек, что является цитологическим проявлением экспрессии рибосомальных генов и обусловлено сдвигами метаболических процессов в клетке) [5 – 7]. Этот тест является простым в воспроизведении, относительно дешевым по применяемым реактивам, малотрудоемким, хотя для подтверждения мутагенного эффекта желательны проведение и других тестов, что обусловлено различной чувствительностью используемых объектов к мутагенным факторам.

В настоящее время для оценки загрязнения окружающей среды широко применяются растительные тест-системы [8 – 14 и др.]. Удобным объектом для проведения подобных исследований являются зеленые черенки растений семейства каммелиновых, к которому относят все виды традесканций, в том числе и зебрину повислую (*Zebrina pendula Schnizl.*). Она очень хорошо размножается черенками, образует через 7 – 8 дней после начала опыта молодые корни.

Ранее нами были проведены эксперименты по облучению растений *Zebrina pendula* различными активностями радона (от 100 до 27500 Бк/м³) с целью выявления цитогенетических эффектов от облучения этим газом и создания шкалы для биодозиметрии радонового загрязнения жилых помещений по цитогенетическим показателям с использованием в качестве тест-объекта зебрины повислой [6, 15 – 17]. В результате проведенных экспериментов было показано, что при воздействии низких активностей радона (от 200 Бк/м³) в первую очередь происходит изменение ядрышковых характеристик (растет число ядрышек в клетке, изменяется их тип, возрастает площадь поверхности), изменение других цитогенетических показателей (рост доли нарушений митоза, изменение его спектра, появление микроядер, депрессия митотической активности) происходит при воздействии более высоких активностей радона (от 1800 Бк/м³). После проведения подобных исследований была предпринята апробация созданной шкалы на потенциально радоноопасной территории: проведено исследование радонового загрязнения жилых и рабочих помещений санатория, расположенного в зоне источников радоновых вод, с использованием ядрышкового теста (изменение числа ядрышек в клетке). Предпочтение ядрышковому тесту было отдано потому, что он является наиболее чувствительным к низким активностям радона.

МЕТОДИКА

Объектом исследования служили помещения санатория “Радон” (столовая, светолечебница, водолечебница, кабинет медсестры) и прилегающих к нему жилых корпусов и домов медперсонала. Объект расположен в зоне радоновой геохимической аномалии вблизи озера “Богатое” недалеко от г. Лиски Воронежской области. Санаторий функционирует с 1984 г.

В экспериментах использовали вегетативное потомство одного растения зебрины повислой (*Zebrina pendula Schnizl.*), выращенное в лаборатории. В тестируемых домах помещали банки (0,75 л) с зелеными черенками зебрины повислой длиной 10 – 12 см (4 – 5 отростков на сосуд). Дистиллированную воду в банке отделяли от окружающего воздуха двумя плотно подогнанными слоями полиэтиленовой пленки, что исключало подсос воздуха через отверстия для черенков. Эксперименты проводили на рассеянном свете. Время экспозиции составляло 14 суток, после чего в 15 часов по летнему времени проводили фиксацию появившихся придаточных корней длиной 3 – 4 см в ацеталкоголе (3 части 96 % этилового спирта и 1 часть ледяной уксусной кислоты); в нем материал хранили при температуре +4 °С. Для фиксации использовались плоскодонные емкости диаметром 1 – 1,5 см и полезным объемом 7 – 10 мл. Для получения контрольных результатов проводили параллельно такой же эксперимент в лаборатории, где в контролируемых условиях (активность радона не превышала 24 Бк/м³) находились зеленые черенки зебрины повислой.

Изготовление микропрепаратов осуществляли по следующей схеме: 1) для мацерации тканей кончики корешков традесканции помещали в 18 %-ную соляную кислоту и подогревали (несколько раз) до температуры 60 °С; 2) материал ополаскивали 45 %-ной уксусной кислотой; 3) заливали красителем ацетогематоксилином корни традесканции на 25 минут при комнатной температуре. Для приготовления красителя 4 г гематоксилина и 1 г железо-аммонийных квасцов, тщательно размельченных в ступке, растворяли в 100 мл 45 %-ной уксусной кислоты. Раствор закрывали ватным тампоном, чтобы обеспечить доступ кислорода, выдерживали в термостате при температуре + 36 °С в течение 7 – 14 суток при обязательном взбалтывании. Это необходимо для “созревания” красителя. После фильтрации краситель готов к употреблению и хранится в холодильнике продолжительное время. 4) отдифференцировывали от избыточного красителя дистиллированной водой; 5) отрезали кончик корешка и помещали его на предметное стекло в каплю жидкости Гойера. В состав жидкости Гойера входят 50 мл воды, 30 мг гуммиарабика, 16 мл глицерина, 200 г хлоральгидрата. При

отсутствии гуммиарабика его можно заменить камедью вишни. Просушенную камедь тщательно растирают в ступке, заливают дистиллированной водой на 30 мин, кипятят на водяной бане 5 мин. После добавления в нее глицерина и хлоральгидрата смесь фильтруют несколько раз через батист, затем ее помещают в темный, плотно закрытый сосуд и хранят в холодильнике. Слегка раздавливали корешок препаратальной иглой и накрывали покровным стеклом. Препарат подогревали (но не сильно!) над пламенем горелки и раздавливали спичкой поверх покровного стекла, добиваясь равномерного распределения клеток на микропрепарате. Изготовленный постоянный давленный микропрепарат можно хранить в закрытой коробке в течение 2–3 лет.

Просмотр микропрепаратов осуществляли на микроскопе PZO SP14, при общем увеличении 40x2,5x12. При анализе вели подсчет общего количества просмотренных клеток (не менее 200 с каждого микропрепарата), учитывали количество клеток с 1, 2, 3... n ядрышками в ядре и считали среднее число ядрышек на клетку (сумма всех обнаруженных на микропрепарате ядрышек к общему числу проанализированных клеток). На основании полученных данных определяли ядрышковую активность, под которой понимали долю клеток (%) с 1, 2, 3... n ядрышками в ядре. Под термином “увеличение ядрышковой активности” подразумевали возрастание доли клеток с большим количеством ядрышек, а под термином “уменьшение ядрышковой активности” – возрастание количества клеток с меньшим числом ядрышек по сравнению с контролем. Для каждой опытной точки изготавливали не менее 7 микропрепаратов (1 микропрепарат – 1 корень). Статистическую обработку результатов проводили с использованием статистического пакета программ “Stadia”. Процедура группировки данных и их обработка изложены в работе Кулаичева [18]. Сравнение контрольной и опытной выборок по показателю “ядрышковая активность” проводили по t-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследований представлены в таблице и на рисунках 1, 2. Как видно из таблицы, на всех опытных точках (производственные помещения, жилые корпуса и дома медперсонала) отмечается возрастание среднего числа ядрышек в клетках апикальной меристемы корней зебрины повислой. Это превышение в жилых домах составляло от 25 до 77% по сравнению с контролем. Наибольшее количество ядрышек в клетках тест-объекта обнаружено на опытных точках, расположенных в нижних этажах зданий (1–3 этажи), что согласуется с данными литературы

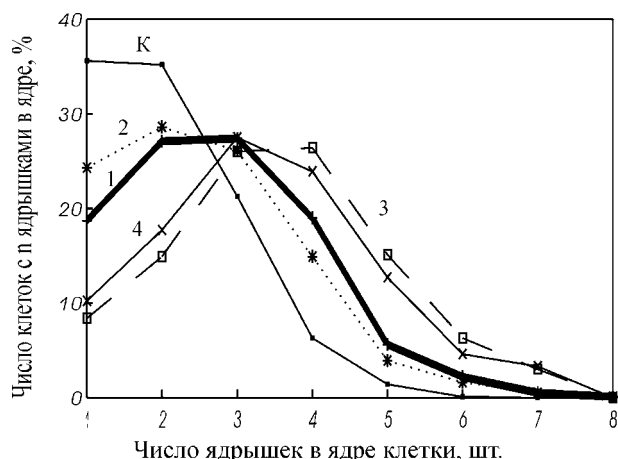


Рис. 1. Частота встречаемости клеток с различным числом ядрышек в ядре в клетках апикальной меристемы корней черенков *Zebrina pendula* Schnizl. в жилых помещениях. Обозначения: К – контроль; 1, 2–4 этажи зданий, 3–3 этаж зданий; 4 – 1 этаж.

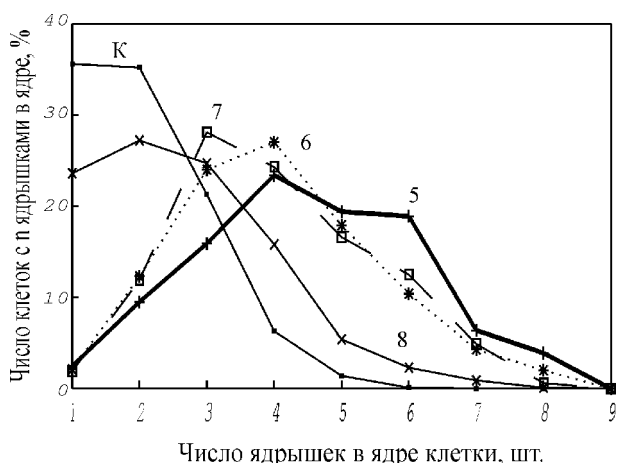


Рис. 2. Частота встречаемости клеток с различным числом ядрышек в ядре в клетках апикальной меристемы корней черенков *Zebrina pendula* Schnizl. в жилых помещениях. Обозначения: К – контроль; 5 – столовая, 6 – светолечебница; 7 – водолечебница, 8 – кабинет медсестры.

по изменению содержания радона в помещениях, определенному при помощи измерительных приборов [1, 4]. При этом увеличение по сравнению с контрольными образцами среднего числа ядрышек на клетку достигает 67–77%. Особенно сильное превышение по встречаемости клеток с повышенным количеством ядрышек обнаружено среди фракций клеток с 2–4 ядрышками, количество клеток с большим и меньшим числом ядрышек уменьшается.

В рабочих помещениях (опытные точки 5, 6, 7, 8) наибольшая ядрышковая активность обнаружена в столовой. Несколько меньшая величина этого показателя обнаружена в светолечебнице (точка 6), где превышение исследуемого показателя над контро-

Ядрышковая активность в клетках апикальной меристемы корней *Zebrina pendula* Schnizl.

№ точки	% клеток с п ядрышками в ядре								Среднее число ядрышек на клетку
	n = 1	n = 2	n = 3	n = 4	n = 5	n = 6	n = 7	n = 8	
Контроль	35,6±2,6*	35,2±2,9*	21,3±0,6*	6,3±1,1*	1,4±0,3*	0,1±0,1*			2,03±0,04*
№ 1 (4 этаж)	18,7±1,6*	27,1±1,6***	27,4±1,0*	19,0±0,8*	5,6±0,5*	2,2±0,6	0,5±0,1	0,1±0,1	2,73±0,05*
№ 2 (4 этаж)	24,3±1,0**	28,6±0,9***	26,1±0,9*	14,9±0,7*	3,9±0,5**	1,6±0,1*	0,5±0,1	0,1±0,1	2,54±0,03*
№3 (3 этаж)	8,4±0,4*	14,9±1,2*	26,0±1,2*	26,4±1,0*	15,1±0,9*	6,3±0,7*	3,0±0,3		3,59±0,08*
№ 4 (1 этаж)	10,2±0,6*	17,7±0,5*	27,5±0,9*	23,9±0,8*	12,7±0,5*	4,6±0,4*	3,3±0,3		3,40±0,03*
№ 5 (столовая)	2,4±0,3*	9,5±0,4*	15,9±0,6*	23,4±0,7*	19,4±0,6*	18,9±0,7*	6,4±0,4	3,9±0,3	4,50±0,04*
№ 6 (светолечебница)	2,1±0,2*	12,3±0,4*	24,0±0,4*	27,0±0,6*	17,9±0,4*	10,4±0,7*	4,3±0,3	2,0±0,3	4,16±0,07*
№7 (водолечебница)	1,9±0,2*	11,0±0,7*	28,1±0,6*	24,3±0,5*	16,6±1,4*	12,5±0,6*	4,9±0,4	0,6±0,2	4,01±0,02*
№ 8 (кабинет медсестры)	23,6±1,1*	27,2±1,2***	24,7±0,9*	15,8±0,7*	5,4±0,7*	2,3±0,4*	0,9±0,3	0,1±0,1	2,64±0,04*

Обозначения: * – различия с контролем достоверны ($P < 0,05$); ** – различия с контролем достоверны ($P < 0,01$); * – различия с контролем достоверны ($P < 0,001$).

лем составило 104 % (в 2,04 раза). Близкие результаты получены в водолечебнице (точка 7), где превышение над контролем составляло 94 % (также почти в 2 раза). Менее “загрязнен” кабинет медсестры (точка 8), где превышение над контролем составляло всего 30 % (в 1,3 раза). Анализ результатов ядрышкового теста показал, что довольно информативным является нарастание доли клеток с большим количеством ядрышек в ядре в разных помещениях. Как видно на рисунке 1, 2 и из таблицы, частота встречаемости одно- и двухядрышковых клеток наибольшая в контроле и на 4 этаже жилых корпусов, расположенных вблизи санатория “Радон”, и она колеблется от 19 до 37 % от общего числа просмотренных клеток. Из производственных помещений наибольший процент клеток с небольшим числом ядрышек в ядре отмечался в кабинете медсестры. В то же время в столовой, свето- и водолечебницах процент одно- и двухядрышковых клеток был наименьшим, здесь преобладают 3-4-5-ядрышковые клетки. И, если в контроле совсем не обнаружены 7 – 8-ядрышковые клетки, то в рабочих помещениях они присутствуют, хотя и в малых количествах (от 2 до 6,4 %). Особенно это характерно для столовой, где даже обнаружены клетки с 9 ядрышками в ядре, хотя процент их встречаемости невелик. Подобное явление может происходить только при сильном воздействии фактора (возможно, стресс) на тест-объект.

ОБСУЖДЕНИЕ

На основании проведенных исследований впервые произведена биоиндикация состояния среды и

выявлены мутагенные эффекты радона в производственных и жилых помещениях, расположенных в зоне источников радоновых вод, с применением ядрышкового теста в корнях традесканции *Zebrina pendula* Schnizl. Показано, что наибольшие биологические эффекты у тест-объекта наблюдаются в столовой санатория “Радон”, что, очевидно, вызвано не только близостью помещения к почвогрунту (1 этаж), но и употреблением газа для приготовления пищи, недостаточной работой вытяжных устройств и малой проветриваемостью. Относительно высокая ядрышковая активность отмечена в свето- и водолечебницах: в первой значительный биологический эффект обусловлен использованием ультрафиолета, который сам по себе является мутагенным фактором, во второй – выделением радона, растворенного в воде. Последнее предположение подтверждается данными “Научного комитета по действию атомной радиации при ООН”, согласно которым уровень радона и его дочерних продуктов (при измерении приборами) в 20 обследованных домах Финляндии был наибольшим в ваннных комнатах. Так, радиоактивность в ваннных была выше, чем в кухнях в 3 раза, а по сравнению с жилыми комнатами это превышение было в 42 раза [1].

В проведенных нами исследованиях было установлено, что наименьшие эффекты наблюдаются в кабинете медсестры, что связано с его большей проветриваемостью, а также на четвертых этажах жилых корпусов и зданий в виду их значительной удаленности от почвогрунта. Повышенная ядрышковая активность, обнаруженная нами также в нижних

этажах зданий, скорее всего, обусловлена поступлением радона из почвогрунта, косвенным подтверждением этого предположения могут служить литературные данные по прямому измерению радона приборами в частных одноэтажных домах [1, 3, 4].

В обследованных помещениях отмечена также встречаемость клеток с очень большим (для этого вида) количеством ядрышек в ядре (до 8 – 9 штук), чего не наблюдалось в контроле и других местах исследования. Это может, в определенной мере, свидетельствовать о большем загрязнении радоном производственных помещений, которое обусловило активацию латентных ядрышкообразующих районов и появление дополнительных ядрышек в ядре. Вполне очевидно, что в этих условиях клетки апикальных меристем корней *Zebrina pendula* испытывали стресс. В связи с существующими данными о близости цитогенетических изменений у различных живых существ под влиянием мутагенных факторов, можно предположить осуществимость диагностики угрозы загрязнения радоном различных помещений для здоровья человека с использованием ядрышкового теста в клетках апикальной меристемы одного из видов традесканции. Радоновое “загрязнение” представляет определенную опасность для медперсонала, что отмечается и в литературе [1]. Для устранения указанной проблемы требуется изоляция пола от почвогрунта и дополнительное проветривание помещений.

В методическом плане требует объяснения механизм проникновения радона и продуктов его распада в зону корнеобразования традесканции, т.к. происходит облучение только листьев, а эффекты наблюдаются в корнях, и α -излучение не проникает через стекло опытных сосудов и полиэтиленовую пленку, отгораживающую воду от атмосферного воздуха. В связи с этим вполне очевидно, что есть другие пути проникновения ионизирующей радиации к образующимся меристематическим зонам. Радон (газ) и дочерние продукты его распада (твердые частицы) могут проникать в лист двумя путями: через прямое поглощение в процессе газообмена и путем пиноцитоза. Согласно обзору и концепции А.Л. Курсанова об аттрагирующих зонах, изложенных в монографии “Транспорт ассимилятов в растениях” [19, стр. 527] очевидно, что питательные и радиоактивные вещества направляются к зонам деления клеток (меристемы апексов корней). При этом зона деления посылает “запрос”, который обусловлен аттрагирующей ролью ауксинов, образующихся в листьях и движущихся с флоэмным транспортом к зоне деления клеток.

Общий механизм биологического действия радиации на живые организмы освещен в литературе [3]. Отправной посылкой является то, что все виды ра-

диации вызывают ионизацию и возбуждение атомов и молекул живого организма. При прямом облучении образуются свободные радикалы, т.е. заряженные молекулы, которые ввиду своей химической неопределенности часто называют “радиотоксинами”. При косвенном облучении эффект ионизации проявляется через воду, которая в организмах составляет 60 – 70 % и более и является основным компонентом флоэмного транспорта у растений. Очевидно, что при попадании радона и продуктов его распада в лист через газообмен и пиноцитоз возможно влияние обоих механизмов. Вода под действием радиации (в том числе и растворенного в ней радона) расщепляется на протон (H^+) и гидроксильный радикал (OH^{\bullet}), которые в результате цепи превращений образуют продукты с высокой химической активностью: гидропероксид (HO_2^{\bullet}) и перекись водорода (H_2O_2). Образовавшиеся сильные окислители (HO_2^{\bullet} и H_2O_2) взаимодействуют с молекулами живого вещества. Окисляя их, они приводят к нарушению биохимических процессов в организмах и отдельных тканях, вызывая усиление (при низких дозах) выработки белковых молекул (возможно, стрессовых белков), при высоких дозах облучения происходит подавление указанных процессов. В связи с этим происходит усиление транскрипции рибосомальных генов и, соответственно, изменение ядрышковых характеристик (увеличение числа ядрышек в ядре, что обусловлено активацией латентных ядрышкообразующих районов, рост площади поверхности ядрышек и переход умеренноактивных ядрышек в высокоактивные, связанный с усилением работы уже активных ядрышкообразующих районов), являющихся цитологическим “репером” активности рибосомальных генов. При этом видимых морфологических повреждений листьев и стеблей традесканции не отмечается. Однако согласно литературным данным, изменения морфологических признаков у растений происходят при поступлении радиоактивных веществ из почвы. Так, описаны случаи увеличения рассеченности, числа лепестков (махровость) у мака крупнокоробчатого, изменение формы соцветий у солероса и полыни в результате действия радиоактивных веществ в стронциевой провинции Таджикистана [20], появление хлорофильных мутаций у мышиного горошка под действием природного радона в республике Коми [21].

Таким образом, наши исследования показали возможность оценки загрязнения радоном и продуктами его распада различных помещений при его повышенном содержании в среде с использованием ядрышкового теста в апикальной меристеме корней зеленых черенков *Zebrina pendula* Schnizl.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Радиация. Дозы, эффекты, риск. М.: Мир, 1988. 79 с. (Radiation. Doses, Effects, Risk. United Nations Environment Program. UNER: 1985.)
2. Дубинин Н.П., Пашин Ю.В. Мутагенез и окружающая среда. М.: Наука, 1978. 130 с.
3. Усманов С.М. Радиация. Справочные материалы. М.: ВЛАДОС, 2003. 173 с.
4. Уткин В.И. // Соросовский образовательный журнал. 2000. Т. 6. С. 73-80.
5. Архипчук В.В. // Цитология и генетика. 1995. Т. 29, № 3. С. 6-9.
6. Буторина А.К., Калаев В.Н. // Экология. 2000. № 3. С. 206-210.
7. Соболев М.А. // Цитология и генетика. 2001. Т. 35, № 3. С. 72-84.
8. Руководство к краткосрочным тестам для выявления мутагенных и канцерогенных веществ. Совместное издание Программы ООН по окружающей среде, Международной организации труда и Всемирной организации здравоохранения. Женева, 1989. 212 с.
9. De Serres F.J. // Environ. Health Perspect. 1978. V. 27. P. 3-6.
10. Fiskesjo G. // Hereditas. 1985. V. 102. P. 99-102.
11. Sandhu S.S., De Serres F.J., Gopalan H.N.B. et al. // Mutat. Res. 1991. V. 257. P. 19-25.
12. De Serres F.J. // Mutat. Res. 1992. V.270. P. 1-6.
13. Grant W.F., Lee H.G., Logan D.M. et al. // Mutat. Res. 1992. V. 270. P. 53-64.
14. Евсеева Т.И., Зайнулин В.Г. // Экология. 2000. № 5. С. 343-348.
15. Калаев В.Н. // Эколого-физиологические и физико-биохимические основы взаимодействия биосистем с окружающей средой. Воронеж, 1998. С. 43-48.
16. Калаев В.Н. Цитогенетический мониторинг загрязнения окружающей среды с использованием растительных тест-объектов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Воронеж, ВГУ, 2000. 25 с.
17. Калаев В.Н., Буторина А.К., Мильшин А.В., Вахтель В.М., Бабенко А.Г. // Вестник ВГУ. Серия химия, биология. 2001. № 2. С. 109-113.
18. Кулаичев А.П. Методы и средства анализа данных в операционной среде Windows. Stadia 6.0. М.: Информатика и компьютеры, 1996. 257 с.
19. Курсанов А.Л. Транспорт ассимилятов в растениях. М.: Наука, 1976. 646 с.
20. Ковальский В.В. Геохимическая экология. М.: Наука, 1974. 281 с.
21. Шеришнуова В.И. Попова О.Н., Сусликов В.И. К использованию теста "хлорофильная мутация" в радиоэкологических исследованиях природных растительных популяций // Радиоэкология биогеоценозов с повышенным фоном естественной радиоактивности / Тр. Коми филиала АН СССР. Сыктывкар, 1987, № 8. С. 77-82.