

УДК 575.224.4 : 633.111

ЦИТОГЕНЕТИЧНІ НАСЛІДКИ РАДІОНУКЛІДНОГО ЗАБРУДНЕННЯ
30-КІЛОМЕТРОВОЇ ЗОНИ ЧЕРЕЗ 25 РОКІВ ПІСЛЯ АВАРІЇ НА
ЧОРНОБИЛЬСЬКІЙ АЕС

Р.А. ЯКИМЧУК

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України,
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17
e-mail: peoplenature@rambler.ru*

Проведено цитогенетичний аналіз клітин меристеми первинних коренів озимої пшениці, насіння якої зазнало впливу радіонуклідів ґрунту та стоків талих вод зони відчуження і зони безумовного (обов'язкового) відселення. Виявлено, що навчій через 25 років після аварії на ЧАЕС частота хромосомних аберацій у 2,0-7,6 рази перевищує контрольний рівень. Радіонукліди рідких стоків талих вод спричинюють зростання рівня аберантних клітин в 1,8-2,7 рази і в результаті міграції можуть призводити до утворення нових плям з підвищеним радіаційним фоном. Спектр хромосомних аберацій переважно включає парні фрагменти й дицентричні мости. Вищі фонові значення радіаційного забруднення ґрунту зумовлюють появу клітин з відстаючими хромосомами, що свідчать про анеугенну дію іонізуючого випромінювання.

Ключові слова: Triticum aestivum L., цитогенетичні наслідки, хромосомні аберації, порушення мітозу, радіонуклідне забруднення.

Аварія на Чорнобильській АЕС значно ускладнила екологічну ситуацію в Україні й на фоні вже існуючого техногенного забруднення призвела до

контакту значної частини її населення (близько 3 млн. осіб) з одним із найпотужніших універсальних мутагенів – іонізувальним випромінюванням.

У результаті цієї наймасштабнішої техногенної катастрофи в навколишнє середовище було викинуто 50-340 МКі радіоактивних речовин, радіонуклідне забруднення потрапило на території майже всіх країн Європи [4, 19, 21]. Понад 250 тис. га земель були виведені з господарчого використання з обов'язковим відселенням мешканців [10, 12]. Зона відчуження і зона безумовного (обов'язкового) відселення стала унікальним полігоном для багаторічних досліджень з вивчення генетичних наслідків хронічної дії іонізувального випромінювання.

Унаслідок природного розпаду довгоіснуючих нуклідів – ^{137}Cs і ^{90}Sr , їх міграції та заходів щодо дезактивації радіаційний фон порівняно з 1986 р. зменшився в сотні разів. Однак останнім часом загострилась увага на зростанні в 30-км зоні забруднення ^{241}Am [14], кількість якого в результаті відносно швидкого розпаду ^{239}Pu до 2059 р. збільшиться в 40 разів [2]. Зважаючи на те, що в ближній зоні аварії частка ^{239}Pu в сумарній активності трансуранових елементів становить близько 83% і тривалість загрози радіонуклідного забруднення може вимірюватися тисячоліттями [8, 17], проблема генетичної оцінки впливу опромінення на біоту для цієї території дуже актуальна. Вивчення індукції цитогенетичних аномалій як прямих біомаркерів опромінення [13] найбільшою мірою може наблизити до розуміння ефектів, що спостерігаються в реальних умовах радіонуклідного забруднення середовища існування, та їх прогнозування.

Метою роботи було встановлення частоти і спектра цитогенетичних порушень в озимій пшениці, індукованих радіонуклідним забрудненням зони відчуження і зони безумовного (обов'язкового) відселення через 25 років після аварії на ЧАЕС.

Методика

З метою визначення мутагенної активності радіонуклідного забруднення в зоні відчуження і зоні безумовного (обов'язкового) відселення (ЗВіЗБ(О)В) через 25 років після аварії на ЧАЕС проведено цитогенетичний аналіз меристематичних клітин первинних коренів проростків озимої пшениці (*T. aestivum* L.) сортів Альбатрос одеський та Зимоярка. Насіння впродовж 40 год витримували у вологому забрудненому радіонуклідами ґрунті, відібраному на околицях сіл Копачі, Чистогалівка, Янів (потужність експозиційних доз становила $7,2 \cdot 10^{-12}$ – $0,5 \cdot 10^{-6}$ А/кг) (табл. 1), а також у пробах води з рідких талих стоків території заболоченого притерасного зниження с. Чистогалівка.

За контроль взято ґрунт із території дослідного господарства Інституту фізіології рослин і генетики НАН України (сmt Глеваха Васильківського району Київської області), де протягом багатьох років вивчається спонтанний рівень мутаційної мінливості у рослин озимої пшениці. Проби ґрунту і води відбирали відповідно до стандартних методик [3].

ТАБЛИЦЯ 1. Щільність забруднення ґрунту радіонуклідами (2011 р.)

Радіонукліди	Місце відбору проб					
	с. Чистогалівка		с. Копачі		с. Янів	
	Бк/кг	кБк/м ²	Бк/кг	кБк/м ²	Бк/кг	кБк/м ²
¹³⁷ Cs	7013	526	3557	267	28000	2100
⁹⁰ Sr	789	59,20	1275	95,60	1067	80
²⁴¹ Am	129	9,64	46	3,44	147	11
^{239,240} Pu	108	8,10	53	3,99	88	6,6
²³⁸ Pu	45	3,38	23	1,78	36	2,7

Примітка. Контроль – сумарна питома радіоактивність ґрунту сmt Глеваха Київської області: 290 Бк/кг (21,8 кБк/м²)

Насіння пророщували за температури 24-26⁰С. Первинні корені завдовжки 0,8-1,0 см фіксували в «оцтовому алкоголі» й піддавали мацерації дією 1 н розчину соляної кислоти. З апікальної меристеми коренів,

пофарбованих ацетоорсеїном, виготовляли тимчасові давлені препарати. Під час визначення частоти порушень мітозу та хромосомних аберацій до уваги брали клітини, які перебували в анафазі та ранній телофазі. Вибірка становила не менше як 1000 клітин для кожного варіанту.

Результати та обговорення

Прогнозування генетичних наслідків впливу іонізуючого випромінювання на організм та оцінювання ризику розвитку різних патологічних станів – вкрай важливі завдання, що вирішуються дослідженням забруднених радіонуклідами територій. Одним із найефективніших методів ідентифікації хромосомної природи спадкових порушень є цитогенетичний. На думку деяких дослідників, результати цитогенетичного аналізу при оцінці мутаційного процесу зіставні з результатами, отриманими методом електрофоретичного аналізу ізоферментів [18].

Рівень порушень цілісності хромосом та аномалій мітозу, зумовлених радіонуклідним забрудненням ґрунту досліджуваних територій ЗВ і ЗБ(О)В, значно перевищує контрольні показники. Частота абераційних клітин залежно від сорту пшениці та щільності забруднення ґрунту вища за спонтанний рівень в 2,0-7,6 рази (табл. 2). Максимальну кількість цитогенетичних порушень – $2,89 \pm 0,52$ і $2,21 \pm 0,41$ % відповідно у сортів Альбатрос одеський і Зимоярка виявлено за умов витримування насіння у вологому ґрунті з найвищими сумарними щільностями радіонуклідного забруднення (села Чистогогалівка, Янів). Значно зростає частота абераційних клітин і за дії на насіння радіонуклідів ґрунту з найменшою щільністю забруднення (с. Копачі) – перевищує контрольні показники сортів Альбатрос одеський і Зимоярка відповідно в 1,9 та 3,6 рази. Радіонуклідне забруднення ґрунту с. Чистогогалівка, яке в 1,6 рази вище за сумарну щільність забруднення ґрунту с. Копачі, індукує в сорту Альбатрос одеський клітини з аномаліями мітозу й хромосомними абераціями в 7,6 рази частіше порівняно з контрольним рівнем і в 3,9 рази перевищує їх частоту за умов впливу радіонуклідів ґрунту

с. Копачі. Незважаючи на вищу питому радіоактивність ґрунту с. Чистоголівка порівняно з ґрунтом с. Копачі, частота аберантних клітин у сорту Зимоярка залишається на рівні 1,43 % (див. табл. 2). Відсутність прямої залежності частоти аберантних клітин від щільності радіонуклідного забруднення й потужності експозиційної дози підтверджують результати досліджень, проведених на інших біологічних об'єктах, а саме на: арабідопсисі (*Arabidopsis thaliana* Henh. (L.)), скереді покрівельній (*Crepis tectorum* L.) [27], сосні звичайній (*Pinus sylvestris* L.) [26], бурій жабі (*Rana temporaria*) [5], ссавцях (Mammalia) [6].

Отже, відсутність прямої залежності частоти аберантних клітин від щільності радіонуклідного забруднення ґрунту ставить під сумнів можливість використання в умовах радіонуклідного забруднення показників питомої радіоактивності й потужності експозиційної дози для прогнозування тяжкості генетичних порушень організмів.

Забруднені території залишаються відкритим джерелом поширення радіонуклідів, які надходять з поверхневими й ґрунтовими водами в річкові системи та виносяться за межі ЗВ і ЗБ(О)В – в Дніпро, його водосховища. Основним дозоутворювальним елементом здебільшого є стронцій-90, на частку якого припадає до 90-95% дози внутрішнього опромінення гідробіонтів [7]. Цитогенетичним аналізом впливу на насіння пшениці рідких стоків талих вод із території заболоченого притерасного зниження с. Чистоголівка виявлено зростання рівня хромосомних перебудов. Частота аберантних клітин перевищує їх частоту в контролі в 1,8 раза для сорту пшениці Альбатрос одеський та в 2,7 раза для сорту Зимоярка.

Оскільки з рідкими талими стоками й завислими в них часточками ґрунту радіонукліди можуть мігрувати до підніжжя схилів, у балки і заплави річок [20], з часом слід очікувати утворення нових плям підвищеного радіаційного забруднення й потрапляння під дію хронічного опромінення нових популяцій організмів.

Спектр хромосомних порушень, що виявлені під час цитогенетичного аналізу наслідків дії радіонуклідних забруднень усіх досліджуваних територій, включає найхарактерніші для умов впливу іонізуючого випромінювання парні фрагменти й дицентричні мости (рис. 1, а, б) [1, 9, 17, 22]. Зростання порівняно з контролем частоти хроматидних аберацій (одиночних фрагментів і хроматидних мостів) зумовлено пролонгованим опроміненням клітин кореневої меристеми на реплікативній і постреплікативній стадіях клітинного циклу [16]. Радіонуклідне забруднення ґрунту сіл Копачі, Янів супроводжується індукцією в обох сортів пшениці мікроядер, численних порушень мітозу й мультиаберагантних клітин (див. рисунок 1, в). Незважаючи на те, що мікроядра за дії радіації утворюються переважно з ацентричних фрагментів [23], кількісної залежності між числом аберагантних метафаз і клітин з мікроядрами не виявлено.

Серед цитогенетичних порушень виявлено аномалії клітинного поділу – триполюсні мітози та відстаючі хромосоми (див. рисунок 1, г). Відстаючі хромосоми з'являлись лише за впливу вищих фонових значень радіаційного забруднення ґрунту сіл Чистогалівка і Янів, що свідчить про анеугенну дію іонізуючого випромінювання, пов'язану з пошкодженням внутрішньоклітинних механізмів контролю сегрегації хромосом і нормального перебігу окремих етапів клітинного циклу [11, 15, 24, 25].

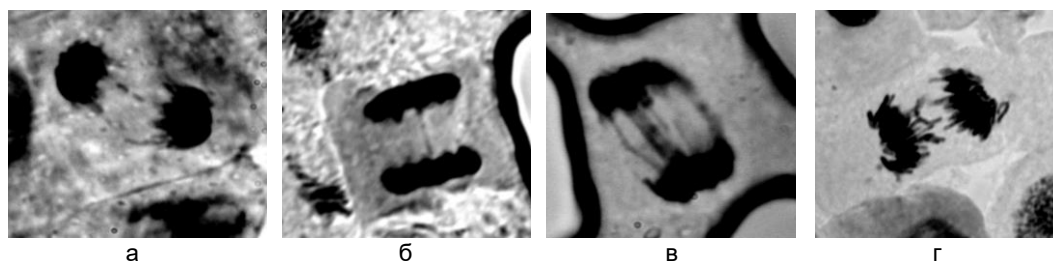


Рис. 1. Хромосомні аберації та аномалії мітозу в клітинах кореневої меристеми озимої пшениці:

а – парні фрагменти; б – хроматидний міст; в – мультиаберагантна клітина; г - відстаюча хромосома

ТАБЛИЦЯ 2. Частота і спектр хромосомних аберацій в озимій пшениці за умов пролонгованого впливу радіонуклідів зони відчуження ЧАЕС (2011 р.)

Місце відбору зразків	Вивчено		Мітози з порушеннями і хромосомними абераціями		Спектр порушень мітозу та хромосомних аберацій				
	коренів, шт.	ана-телофаз мітозів, шт.	шт.	%	Фрагменти, шт.	Мости, шт.	Мости + фрагменти, шт.	Мікроядра, шт.	Відстаючі хромосоми, шт.
Альбатрос одеський									
с.мт Глеваха	18	1063	4	0,38±0,12	1	3	0	0	0
с. Копачі	18	1084	8	0,74±0,26	3	4	0	1	0
с. Чистоголівка	26	1038	30	2,89±0,52*	11	17	1	0	1
с. Янів	24	1218	32	2,63±0,46*	10	21	0	0	1
с. Чистоголівка (талі стоки)	21	1160	8	0,69±0,24	5	3	0	0	0
Зимоярка									
с.мт Глеваха	13	1006	4	0,40±0,20	2	2	0	0	0
с. Копачі	18	1053	15	1,43±0,37*	8	6	0	1	0
с. Чистоголівка	15	1257	18	1,43±0,34*	9	7	0	0	2
с. Янів	21	1265	28	2,21±0,41*	13	10	0	1	4
с. Чистоголівка (талі стоки)	21	1120	12	1,07±0,31	2	10	0	0	0

*Різниця з контролем статистично вірогідна за $P < 0,05$

Таким чином, радіонуклідне забруднення ґрунту ЗВ і ЗБ(О)В навіть через 25 років після аварії на ЧАЕС спричиняє зростання частоти хромосомних аберацій в озимій пшениці, що в 2,0-7,6 рази перевищує їх рівень у контролі. Радіонуклідне забруднення рідких стоків талих вод території заболоченого притерасного зниження с. Чистогалівка спричиняє зростання в 1,8 та 2,7 рази рівня абераційних клітин у сортів озимій пшениці Альбатрос одеський та Зимоярка, відповідно. Спектр хромосомних аберацій переважно включає парні фрагменти й дицентричні мости, що є характерним для умов впливу іонізуючого випромінювання. Відстаючі хромосоми з'являються лише за умов впливу вищих фонових значень радіаційного забруднення ґрунту, що свідчить про анеугенну дію іонізуючого випромінювання.

1. *Бариляк І.Р., Дьоміна Е.А.* Біологічна індикація та дозиметрія за частотою нестабільних аберацій хромосом у лімфоцитах людини // Цитология и генетика . – 2004. – **38**, № 1. – С. 72-85.

2. *Бездробная Л.К., Цыганок Т.В., Романова Е.П. и др.* Динамическое исследование цитогенетических эффектов в лимфоцитах крови людей, несанкционированно проживающих в зоне отчуждения Чернобыльской АЭС // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2002. – **42**, № 6. – С. 727-730.

3. *Беккер А.А., Агаев Т.Б.* Охрана и контроль загрязнения природной среды. – Ленинград: Гидрометеиздат, 1989. – 286 с.

4. *Гайченко В.А., Тутар В.М., Стовбчатий В.М. та ін.* Особливості біологічного різноманіття тварин в умовах радіоактивного забруднення біогеоценозів // Агроекологічний журнал. – 2008. – № 1. – С. 67-73.

5. *Гераськин С.А., Фесенко С.В., Алексахин Р.М.* Воздействие аварийного выброса Чернобыльской АЭС на биоту // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2006. – **46**, № 2. – С. 178-188.

6. *Гончарова Р.И., Смолич И.И.* Генетическая эффективность малых доз ионизирующей радиации при хроническом облучении мелких млекопитающих // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2002. – **42**, № 6. – С. 654-660.

7. *Гудков Д.И., Кузьменко М.И., Киреев С.И. и др.* Радиоэкологические проблемы водных экосистем в Чернобыльской зоне отчуждения // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2009. – **49**, № 2. – С. 192-202.

8. *Гудков И.Н.* Современные задачи и проблемы сельскохозяйственной радиоэкологии // Агроекологічний журнал. – 2005. – № 3. – С. 22-26.

9. *Елисова Т.В.* Стабильные и нестабильные аберрации хромосом у человека и других млекопитающих в связи с вопросами биологической дозиметрии // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2008. – **48**, № 1. – С. 14-27.

10. *Иванов Ю.А., Паскевич С.А.* Некоторые нерешенные радиоэкологические проблемы зоны отчуждения ЧАЭС // Агроекологічний журнал. – 2005. - № 3. – С. 26-31.

11. *Инге-Вечтомов С.Г.* Фундаментальная и прикладная экологическая генетика // Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. пр. – Т. 10. – К.: Логос, 2011. – С. 33-37.

12. *Йощенко В.И., Бондарь Ю.О.* Дозовая зависимость частоты морфологических изменений у сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris L.*) в Чернобыльской зоне отчуждения // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2009. – **49**, № 1. – С. 117-126.

13. *Кравец А.П., Гатилова Г.Д., Гродзинский Д.М.* Динамика образования цитогенетических аномалий в меристеме проростков при хроническом облучении семян // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2008. – **48**, № 3. – С. 313-317.

14. *Куцоконь Н.К., Рашидов Н.М., Гродзинский Д.М.* Цитогенетические эффекты ^{241}Am в *Allium*-тесте // Радиационная биология. Радиозэкология. – 2002. – **42**, № 6. – С. 675-677.
15. *Лазюк Г.И., Зацепин И.О., Верже П. и др.* Синдром Дауна и ионизирующая радиация: причинно-следственная связь или случайная зависимость // Радиационная биология. Радиозэкология. – 2002. – **42**, № 6. – С. 678-683.
16. *Мазник Н.А.* Роль факторов нерадиационной природы в формировании цитогенетических эффектов у эвакуантов из 30-км зоны Чернобыльской АЭС // Цитология и генетика. – 2004. – 38, № 6. – С. 33-44.
17. *Моргун В.В., Якимчук Р.А.* Генетичні наслідки аварії на Чорнобильській АЕС. – К.: Логос, 2010. – 400 с.
18. *Офицеров М.В., Игонина Е.В.* Генетические последствия радиационного воздействия на популяцию сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris L.*) // Генетика. – 2009. – **45**, № 2. – С. 209-214.
19. *Спиридонов С.И., Алексахин Р.М., Фесенко С.В. и др.* Чернобыль и окружающая среда // Радиационная биология. Радиозэкология. – 2007. – **47**, № 2. – С. 196-203.
20. *Цыбулька Н.Н., Черныш А.Ф., Тищук Л.А., Жукова И.И.* Горизонтальная миграция ^{137}Cs при водной эрозии почв // Радиационная биология. Радиозэкология. – 2004. – **44**, № 4. – С. 473-477.
21. *Чешко В.Ф.* Глобальные трансформации адаптивной стратегии техногенной цивилизации: Чернобыль как проблема практической философии // Агроекологічний журнал. – 2005. – № 3. – С. 76-86.
22. *Шевченко В.А., Снигирева Г.П.* Значимость цитогенетического обследования для оценки последствий чернобыльской катастрофы // Радиационная биология. Радиозэкология. – 2006. – **46**, № 2. – С. 133-139.
23. *Шмакова Н.Л., Насонова Е.А., Красавин Е.А. и др.* Индукция хромосомных aberrаций и микроядер в лимфоцитах периферической крови

человека при действии малых доз облучения // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2006. – **46**, № 4. – 480-487.

24. *Bentley K.S., Kirkland D., Murphy M. et al.* Evaluation of thresholds for benomyl and carbendazim-induced aneuploidy in cultured human lymphocytes using fluorescence in situ hybridization // *Mutat. Res.* – 2000. – **464**. – P. 41-51.

25. *Duesberg P., Rasnick D.* Aneuploidy, the somatic mutation that makes cancer a species of its own // *Cell Motility and Cytoskeleton.* – 2000. – **47**. – P. 81-107.

26. *Geras'kin S.A., Dikarev V.G., Zyablitskaya Ye.Ya. et al.* Genetic consequences of radioactive contamination by the Chernobyl fallout to agricultural crops // *J. Environ. Radioact.* – 2003. – **66**. – P. 155-169.

27. *Kovalchuk O., Dubrova Y.E., Arkhipov A. et al.* Wheat DNA mutation rate after Chernobyl // *Nature.* – 2000. – **407**. – P. 583-584.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ РАДИОНУКЛИДНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ 30-КИЛОМЕТРОВОЙ ЗОНЫ ЧЕРЕЗ 25 ЛЕТ ПОСЛЕ АВАРИИ НА ЧАЭС

В.В. Моргун, Р.А. Якимчук

*Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук
Украины, Киев*

Проведен цитогенетический анализ клеток меристемы первичных корней озимой пшеницы, семена которой подвергли влиянию радионуклидов почвы и жидких талых стоков зоны отчуждения и зоны безусловного (обязательного) отселения. Выявлено, что даже через 25 лет после аварии на ЧАЭС частота хромосомных aberrаций в 2,0-7,6 раза превышает контрольный уровень. Радионуклиды жидких стоков талых вод вызывают возрастание уровня aberrантных клеток в 1,8-2,7 раза и могут приводить, в результате миграции, к образованию новых территорий с повышенным радиационным фоном. Спектр хромосомных aberrаций преимущественно включает парные фрагменты и дицентрические мосты. Влияние более высоких фоновых значений радиационного загрязнения почвы приводит к появлению клеток с отстающими хромосомами, что свидетельствует о анеугенном действии ионизирующих излучений.

CYTOGENETIC EFFECTS OF RADIONUCLIDE POLLUTION OF 30-KM ZONE 25 YEARS AFTER THE CHERNOBYL CATASTROPHE

V.V. Morgun, R.A. Yakymchuk

*Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of
Ukraine*

A cytogenetic analysis of meristem's primary root cells of winter wheat seeds which were exposed by influence of soil radionuclides and liquid melt wastes of the Zone of resettlement and Zone of compulsory resettlement was held. It was found that even after 25 years of the Chernobyl catastrophe the frequency of chromosomal aberrations was in 2,0-7,6 times higher than control level. Radionuclides of meltwater liquid drains cause the growth of aberrant cells in 1,8-2,7 times and as a result of migration can lead to the formation of new spots of high radiation background. The spectrum of chromosomal aberrations mainly includes paired fragments and dytsentriic bridges. The appearance of lagging chromosomes while influence of higher background level of radioactive soil pollution indicates the aneugenic effect of ionizing radiation.

Key words: *Triticum aestivum* L., cytogenetic effects, chromosomal aberrations, mitosis violations, radionuclide pollution.

Вельмишановний Володимире Васильовичу.

Прошу дозволити опублікувати в журналі «Физиология и биохимия культурных растений» результати цитогенетичного аналізу меристематичних клітин первинних коренів озимої пшениці, насіння якої зазнало пролонгованого впливу радіонуклідного забруднення ґрунту зони відчуження ЧАЕС.

З повагою, Р. Якимчук.