

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ В ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЕ ПРИ ДЕЙСТВИИ РАДИОНУКЛИДНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ ЗОНЫ ОТЧУЖДЕНИЯ ЧАЭС ЧЕРЕЗ 25 ЛЕТ ПОСЛЕ АВАРИИ

Авария на Чернобыльской АЭС значительно усложнила экологическую ситуацию в Украине и на фоне уже существующего техногенного загрязнения привела к контакту значительной части ее населения с одним из наиболее универсальных мутагенов – ионизирующим излучением. Вследствие естественного распада нуклидов – ^{137}Cs и ^{90}Sr , их миграции и дезактивационных мер радиационный фон в сравнении с 1986 г. уменьшился в сотни раз. Тем не менее, в последнее время обострилось внимание на повышении в 30-км зоне загрязнения ^{241}Am [6], количество которого вследствие относительно быстрого распада ^{239}Pu до 2059 г. увеличится в 40 раз [1]. Учитывая, что в ближней зоне аварии доля ^{239}Pu в суммарной активности трансурановых элементов составляет приблизительно 83% и длительность угрозы радионуклидного загрязнения может измеряться тысячелетиями [3, 9], проблема генетической оценки влияния облучения на биоту для этой территории очень актуальна. Изучение индукции цитогенетических аномалий как прямых биомаркеров облучения [5] в наибольшей мере может приблизить к пониманию эффектов, наблюдаемых в реальных условиях радионуклидного загрязнения среды обитания, и их прогнозирования.

Материалы и методы

С целью определения мутагенной активности радионуклидного загрязнения в зоне отчуждения через 25 лет после аварии на ЧАЭС проведен цитогенетический анализ меристематических клеток первичных корней проростков озимой пшеницы (*T. aestivum* L.) сортов Альбатрос одесский и Зимоярка. Семена в течении 40 ч. выдерживали во влажной загрязненной радионуклидами почве, отобранной вблизи сел Копачи, Чистоголовка, Янов (мощность экспозиционных доз составляла $7,2 \cdot 10^{-1}$ – $0,5 \cdot 10^{-6}$ А/кг).

Контролем служила почва с территории опытного хозяйства Института физиологии растений и генетики НАН Украины (пгт Глеваха Васильковского р-на Киевской обл.), где на протяжении многих лет изучается спонтанный уровень мутационной изменчивости растений озимой пшеницы. Пробы почвы отбирали по стандартным методикам [2].

Семена проращивали при температуре 24–26 °С. Первичные корни длиной 0,8–1,0 см фиксировали в «уксусном алкоголе» и подвергали мацерации действием 1 н раствором соляной кислоты. С апикальной меристемы корней, окрашенных ацетоорсеином, изготавливали временные давленные препараты. Во время определения частоты нарушений митоза и хромосомных aberrаций во внимание принимали клетки, находящиеся в анафазе и ранней телофазе. Выборка составляла не менее 1000 клеток для каждого варианта.

Результаты и обсуждение

Уровень нарушений целостности хромосом и аномалий митоза, обусловленных радионуклидным загрязнением почвы исследуемых территорий зоны отчуждения, значительно превышает контрольные показатели. Частота aberrантных клеток в зависимости от сорта пшеницы и плотности загрязнения почвы выше спонтанного уровня в 2,0–7,6 раза (табл.). Максимальное количество цитогенетических нарушений – $2,89 \pm 0,52$ и $2,21 \pm 0,41\%$ соответственно у сортов Альбатрос одесский и Зимоярка плотностями радионуклидного загрязнения (села Чистоголовка, Янов). Значительно возрастает частота aberrантных клеток и в условиях влияния на семена радионуклидов почвы с наименьшей плотностью загрязнения (с. Копачи) – превышает контрольные показатели сортов Альбатрос одесский и Зимоярка соответственно в 1,9 и 3,6 раза.

Таблица. Частота и спектр хромосомных aberrаций в озимой пшенице в условиях пролонгированного влияния радионуклидов зоны отчуждения ЧАЭС (2011 г.)

Место отбора образцов	Изучено		Митозы с нарушениями и хромосомными aberrациями		Спектр нарушений митоза и хромосомных aberrаций					
	корней, шт.	ана-телофаз митозов, шт.	шт.	%	фрагменты, шт.	мости, шт.	мости + фрагменты, шт.	микроядра, шт.	отстающие хромосомы, шт.	
										Альбатрос одесский
пгт Глеваха	18	1063	4	0,38±0,12	1	3	0	0	0	0
с. Копачи	18	1084	8	0,74±0,26	3	4	0	1	0	0
с. Чистоголовка	26	1038	30	2,89±0,52*	11	17	1	0	1	1
с. Янов	24	1218	32	2,63±0,46*	10	21	0	0	1	1
Зимоярка										
пгт Глеваха	13	1006	4	0,40±0,20	2	2	0	0	0	0
с. Копачи	18	1053	15	1,43±0,37*	8	6	0	1	0	0
с. Чистоголовка	15	1257	18	1,43±0,34*	9	7	0	0	2	2
с. Янов	21	1265	28	2,21±0,41*	13	10	0	1	4	4

Примечание: * различия по сравнению с контролем достоверные при $P < 0,05$.

Радионуклидное загрязнение почвы с. Чистогаловка, которое в 1,6 раза выше суммарной плотности загрязнения почвы с. Копачи, индуцирует в сорта Альбатрос одесский аномалии митоза и хромосомные aberrации в 7,6 раза чаще, чем в контроле и в 3,9 раза превышает их частоту в условиях влияния радионуклидов почвы с. Копачи.

Несмотря на более высокую удельную радиоактивность почвы с. Чистогаловка, по сравнению с почвой с. Копачи, частота aberrантных клеток в сорта Зимоярка остается на уровне 1,43%. Отсутствие прямой зависимости частоты aberrантных клеток от плотности радионуклидного загрязнения и мощности экспозиционной дозы подтверждается результатами исследований, проведенных на других биологических объектах, а именно на *Arabidopsis thaliana* Henh. (L.), *Crepis tectorum* L., *Pinus sylvestris* L. [13, 14].

Спектр хромосомных нарушений, обнаруженных во время цитогенетического анализа вследствие действия радионуклидных загрязнений всех исследуемых территорий, включает наиболее характерные в условиях влияния ионизирующего излучения парные фрагменты и дицентрические мосты. Возрастание по сравнению с контролем частоты хроматидных aberrаций (одиночных фрагментов и хроматидных мостов) обусловлено пролонгированным облучением клеток корневой меристемы на репликативной и пострепликативной стадиях клеточного цикла [8]. Радионуклидное загрязнение почвы сел Копачи, Янов сопровождается индукцией в обоих сортах пшеницы микроядер, множественных нарушений митоза и мультиaberrантных клеток. Несмотря на то, что микроядра при действии радиации образуются преимущественно с ацентрических

фрагментов [10], количественной зависимости между числом aberrантных метафаз и клеток с микроядрами не выявлено.

Среди цитогенетических нарушений выявлено аномалии клеточного деления – трехполосные митозы и отстающие хромосомы. Отстающие хромосомы появлялись только при влиянии более высоких фоновых значений радиационного загрязнения почвы сел Чистогаловка и Янов, что свидетельствует об анеугенном действии ионизирующего излучения, связанного с повреждением внутриклеточных механизмов контроля сегрегации хромосом и нормального протекания отдельных этапов клеточного цикла [4, 7, 11, 12].

Выводы

Таким образом, радионуклидное загрязнение почвы зоны отчуждения даже через 25 лет после аварии на ЧАЭС вызывает возрастание частоты хромосомных aberrаций в озимой пшеницы, что в 2,0–7,6 раза превышает их уровень в контроле. Спектр хромосомных нарушений преимущественно включает парные фрагменты и дицентрические мосты, что является характерным в условиях влияния ионизирующего излучения. Отстающие хромосомы появляются только в условиях влияния более высоких фоновых значений радиационного загрязнения почвы, что свидетельствует об анеугенном действии ионизирующего излучения. Отсутствие прямой зависимости частоты aberrантных клеток от плотности радионуклидного загрязнения почвы ставит под сомнение возможность использования в условиях радионуклидного загрязнения показателей удельной радиоактивности и мощности экспозиционной дозы для прогнозирования генетических нарушений организмов.

Литература

1. 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.
2. Беккер А.А., Агаев Т.Б. Охрана и контроль загрязнения природной среды. – Ленинград: Гидрометеоздат, 1989. – 286 с.
3. Гудков И.Н. Современные задачи и проблемы сельскохозяйственной радиоэкологии // Агроекологічний журнал. – 2005. – № 3. – С. 22–26.
4. Инге-Вечтомов С.Г. Фундаментальная и прикладная экологическая генетика // Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. пр. – К.: Логос, 2011. – 10. – С. 33–37.
5. 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.

6. Куцоконь Н.К., Рашидов Н.М., Гродзинский Д.М. Цитогенетические эффекты ^{241}Am в Allium-тесте // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2002. – 42, № 6. – С. 675–677.
7. Лазюк Г.И., Зацепин И.О., Верже П. и др. Синдром Дауна и ионизирующая радиация: причинно-следственная связь или случайная зависимость // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2002. – 42, № 6. – С. 678–683.
8. 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.
9. Моргун В.В., Якимчук Р.А. Генетичні наслідки аварії на Чорнобильській АЕС. – К.: Логос, 2010. – 400 с.
10. 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. – Р. 480–487.
11. Bentley K.S., Kirkland D., Murphy M. et al. Evaluation of thresholds for benomyland carbendazim-induced aneuploidy in cultured human lymphocytes using fluorescence in situ hybridization // Mutat. Res. – 2000. – 464. – Р. 41–51.
12. Duesberg P., Rasnick D. Aneuploidy, the somatic mutation that makes cancer a species of its own // Cell Motility and Cytoskeleton. – 2000. – 47. – Р. 81–107.
13. 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. – Р. 155–169.
14. Kovalchuk O., Dubrova Y.E., Arkhipov A. et al. Wheat DNA mutation rate after Chernobyl // Nature. – 2000. – 407. – Р. 583–584.

YAKIMCHUK R.A.

Pavlo Tychyna Uman State Pedagogical University,

Ukraine, 20300, Uman, Sadova str., 2, e-mail: peoplenature@rambler.ru

CYTOGENETIC DISORDERS OF WINTER WHEAT UNDER THE EFFECT OF RADIO NUCLIDE CONTEMINATION IN THE ChNPP ALIENATION ZONE 25 YEARS AFTER THE ACCIDENT

Aims. To make a cytogenetic analysis of meristematic cells of primary roots of winter wheat rootlets and to identify the frequency and specter of chromosome disorders induced by radio nuclide contamination of the alienation zone 25 years after the accident at ChNPP. **Methods.** To make crushed preparations of primary winter wheat roots and their cytogenetic analysis. **Results.** The frequency of variable cells depending on the winter wheat variety and the soil contamination density is 2.0–7.6 times higher than a spontaneous level. A maximum quantity of cytogenetic disorders was identified when seeds were kept in moist soil with the highest total densities of radio nuclide contamination. The specter of chromosome disorders, found during a cytogenetic analysis as a result of the effect of radio nuclide contamination of all the areas studied, includes the most typical paired fragments and dicentric bridges when ionizing radiation occurs. **Conclusions.** As there is no correlation between the frequency of variable cells and soil radio nuclide contamination, it questions the possibility of using the indicators of specific radio activity and exposure doze power, in the conditions of radio nuclide contamination, to predict genetic disorders of organisms.

Key words: radio nuclide contamination, *T. aestivum* L., the ChNPP alienation zone.