

ГЕНОТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ В ПОПУЛЯЦИЯХ ГИДРОБИОНТОВ В РАЙОНАХ С ПОВЫШЕННЫМ ЕСТЕСТВЕННЫМ РАДИАЦИОННЫМ ФОНОМ

В. Г. Цыцугина¹, Х. Флору², Г. Г. Поликарпов¹

¹ *Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского НАН Украины, Севастополь*

² *Национальный центр научных исследований "Демокритос", Афины, Греция*

Исследованы аберрации хромосом в клетках гидробионтов в местах с повышенным содержанием естественных радионуклидов (районы гидротермальных источников на о. Икаррия в Эгейском море и Карадаг в Крыму). У ракообразных и червей на о. Икаррия обнаружены наиболее высокий уровень хромосомного мутагенеза, мультиабберрантные клетки и пикноз ядер. Предполагается, что генотоксические эффекты индуцированы комплексным влиянием низкой величины рН, высокой температуры воды и повышенного содержания естественных радионуклидов.

Участки биосферы с повышенным содержанием естественных радионуклидов представляют большой интерес для изучения хронического действия малых доз ионизирующей радиации на живые организмы. Такие районы известны в России, Бразилии, Индии, Франции, Италии, Австрии. В исследованиях, проведенных на популяциях наземных животных и растений, обитающих в местах с повышенным уровнем естественной радиоактивности, обнаружены, в основном, повреждающие эффекты, а также, в некоторых случаях, увеличение радиорезистентности при провокационном облучении [1 - 8].

Цель нашей работы - изучение хромосомного мутагенеза в популяциях гидробионтов из двух районов с повышенным содержанием естественных радионуклидов. Это район потухшего вулкана Карадаг в Крыму и о. Икаррия в восточной части Эгейского моря. У побережья Карадага имеются большие залежи бентонитовой глины (кила), которая, по данным [9], обладает повышенной радиоактивностью. В литоральной и сублиторальной зонах о. Икаррия находится несколько гидротермальных источников. Показано [10], что их вода, а также морская вода, почва, донные отложения и водоросли вблизи источников характеризуются повышенным содержанием естественных радионуклидов по сравнению с другими районами Греции.

В Черном море в районе Карадага в августе 1981 г. были собраны ракообразные *Gammarus olivii* (Amphipoda). Эти рачки живут под камнями и галькой у уреза воды. Их собирали, смывая с камней, извлеченных из воды. В качестве контроля исследовали этот же вид рачков, собранных также в августе 1981 г. у побережья Севастополя, в районе бухты Круглая. Температура воды в местах отбора проб была 23 °С. На о. Икаррия отбор проб гидробионтов был проведен в июле 2002 и 2003 г. в его юго-восточной части, в Эгейском море, в районах гидротермальных источников (Терма и Лефкада), а также в маленьком пресноводном водоеме, образованном гидротермальным источником в горах в южной части острова. Пробы собирали, промывая в ведре с водой водоросли и камни, взятые вблизи уреза воды. Смывы фильтровали через мельничный газ № 12. Для контроля пробы были собраны таким же способом на противоположной стороне острова в Эгейском море (Арменистис) с нормальным естественным радиационным фоном. Температура воды в районе Термы была 26 °С, в районе Лефкады - 35 °С, в районе Арменистис - 27 °С, в пресноводном водоеме - 33 °С. Во всех случаях материал фиксировали смесью этилового спирта и ледяной уксусной кислоты (3:1). В морских пробах с о. Икаррия для исследования были выбраны ракообразные *Melita palmata* (Amphipoda) и черви *Platynereis dumerilii* (Nereidae) которые были представлены в трех районах (Терма, Лефкада и Арменистис), а также молодые особи (длиной 5 - 6 мм) полихет *Lycastopsis* sp. (Nereidae) в районе Термы. В пресноводном водоеме исследовали червей *Nais communis* (Oligochaeta).

Для цитогенетического анализа эмбрионов рачков *G. olivii* и *M. palmata* на стадии поздней гастролы извлекали из марсупиальных сумок самок, окрашивали 1 %-ным ацетоор-

сеином и готовили давленные препараты в 60 %-ной молочной кислоте. Исследовали по 3 - 4 эмбриона от каждой из 5 - 6 самок. Учет aberrаций хромосом проводили на стадиях анафазы и телофазы митоза. Червей окрашивали, измельчали и готовили давленные препараты аналогичным способом. На давленных препаратах червей *Lycastopsis* sp. имелись клетки на разных стадиях митоза и мейоза. Среди митотически делящихся клеток были как развивающиеся половые клетки, так и соматические, обеспечивающие рост молодых особей. Анализ aberrаций хромосом проводили во всех митотически делящихся клетках на стадиях анафазы и телофазы, а также в мейотических клетках на стадии анафазы I. У ювенильных *P. dumerilii* aberrации хромосом анализировали в анафазе-телофазе митоза. У *N. communis* aberrации хромосом исследовали в соматических клетках паратомически делящихся особей на стадиях анафазы и телофазы митоза.

В табл. 1 приведены обобщенные данные о содержании естественных радионуклидов в абиотических и биотических компонентах биогеоценозов на о. Икарія вблизи гидротермальных источников и, для сравнения, в других районах Греции, а также в районе Карадага. Из таблицы видно, что наиболее высокие концентрации естественных радионуклидов наблюдаются на о. Икарія вблизи гидротермальных источников.

В табл. 2 представлены результаты цитогенетического анализа гидробионтов. Можно видеть, что наибольшее количество клеток с aberrациями хромосом имеют гидробионты из районов Термы, Лефкады и в пресноводном водоеме. У ракообразных и червей из районов Карадага, Севастополя и Армениястис на о. Икарія число клеток с aberrациями не выходит за пределы спонтанного уровня, который, по нашим данным [13], не превышает 2 %, независимо от таксономической принадлежности гидробионтов.

По данным гамма-радиометрии [10], мощности доз внешнего гамма-излучения на о. Икарія лежат в диапазоне 0,05 - 0,21 мкГр/ч, причем наиболее высокие мощности доз отмечаются вблизи гидротермальных источников. Так, в донных отложениях пресноводного водоема мощность дозы составляла 1,08 мкГр/ч. В остальных районах острова они соизмеримы с таковыми в других районах Греции (в среднем 0,08 мкГр/ч). Рассчитанные на основе концентраций естественных радионуклидов в почве и донных отложениях наибольшие мощности доз гамма-излучения на о. Икарія в районах гидротермальных источников [10] находятся, согласно концептуальной модели зависимости мощностей доз и наблюдаемых эффектов на клеточном, организменном, популяционном и экосистемном уровнях [14], близко к нижней границе зоны физиологической маскировки, где возможны функциональные и морфологические нарушения и повышенная восприимчивость к болезням. Однако мощности доз внутреннего альфа-излучения могут быть значительно больше. Возможно и генотоксическое влияние естественных радионуклидов как тяжелых металлов при их накоплении в организме. В связи с изложенным необходимо отметить, что у гидробионтов из районов Термы, Лефкады и в пресноводном водоеме нами обнаружены мультиабберрантные клетки. У трех особей *Lycastopsis* sp. имелось по одной клетке с множественными aberrациями хромосом: клетка, содержащая три одиночных и один парный фрагмент; клетка с одним одиночным и двумя парными фрагментами и клетка, содержащая четыре одиночных и один парный фрагмент. У одного эмбриона *M. palmata* обнаружена клетка с одним одиночным и двумя парными фрагментами. У *P. dumerilii* две особи имели мультиабберрантные клетки: клетка с тремя одиночными фрагментами, клетка с двумя одиночными фрагментами и мостом с фрагментом, клетка с тремя одиночными мостами и мостом с фрагментом. У одной особи *N. communis* обнаружена клетка с тремя фрагментами. Остальные клетки этих гидробионтов, как и у гидробионтов из других исследованных районов, содержали по одной aberrации, реже - две.

У двух червей *P. dumerilii* из Лефкады и у пяти особей *N. communis* из пресноводного водоема обнаружены также локальные участки с пикнозом ядер. Известно, что пикнотические ядра свидетельствуют о гибели клеток. Ранее мы наблюдали пикноз ядер в клетках эмбрионов ракообразных и рыб при действии высоких доз ионизирующей радиации,

некоторых химических мутагенов (ДДТ), а также в клетках гидробионтов в районах сильного антропогенного загрязнения. Какова причина происхождения мультиабберрантных клеток и пикноза ядер? В работах [9, 15] было показано, что атомы урана и других тяжелых радиоэлементов способны образовывать в живых организмах микроскопления размером до 200 мкм, где концентрация этих элементов может превышать их среднее содержание в тканях в сотни и тысячи раз. Мощности доз радиации в микроскоплениях также могут быть на несколько порядков больше. Основываясь на этих данных, можно предполагать, что множественные абберрации хромосом и пикноз ядер были индуцированы действием агрегатов естественных радионуклидов, лежащих в непосредственной близости от ядерных структур.

Таблица 1. Концентрация естественных радионуклидов в абиотических и биотических компонентах биогеоценозов в районе Карадага (Крым, Украина), на о. Икария и в других районах Греции (Бк/л и Бк/кг)

Район исследования	^{238}U	$^{238}\text{U}+^{235}\text{U}$	^{226}Ra	^{228}Ra	^{222}Rn	^{228}Th	^{232}Th	^{40}K	Лит. ист.
<u>Морская вода</u>									
о.Икария									
Min			<0,1	<0,1	13±2,9			19±7,4	
Max			1,9±0,3	1,1±0,9	35 ±6,7			20±1,9	[10]
Другие районы Греции									
Min			0,00145± ±0,00025	0,0028± ±0,00030				9,8±1,8	
Max			0,00167± ±0,00037	0,00432± ±0,00065				11,9±1,3	[11]
<u>Почва-донные отложения</u>									
о.Икария									
Min	15±9		24±14				18±4,8	258±14	[10]
Max	1049±30		764±10				66±3	2464±70	
Другие районы Греции									
Min	7		6				4	47	[11,
Max	92		80				83	1214	12]
Карадаг (кил)		70,7±11,8	40,3±6,9			40±5,9		681±41	[9]
<u>Водоросли</u>									
о.Икария									
Min			23±6,6	14,9±9		6,1±2,8		258±15	
Max			124±40	33±11		17±3,4		415±36	[10]
Другие районы Греции									
Min			0,5±0,3	0,6±0,4		0,5±0,5		50±27	
Max			2,7±1,1	10±2,5		8,5±2,5		183±15	[11]
Карадаг		1,3±0,1- -16,6±1,0	1, 5 - 6,7			0,9±0,5 - - 6,9±2,8		111±3,3- - 240±5,9	[9]

Таблица 2. Частота клеток с абберациями хромосом у гидробионтов в районах с повышенным содержанием естественных радионуклидов и в контрольных районах

Вид	Местообитание	Число исследованных особей	Число исследованных клеток	Число клеток с абберациями хромосом, %
Gammarus olivii	Черное море, Севастополь, район бухты "Круглая"	17	912	1,7±0,3
Gammarus olivii	Черное море, Карадаг	17	847	1,6±0,4
Melita palmata	Эгейское море, о. Икария, Арменистис	15	760	1,5±0,6
Melita palmata	Эгейское море, о.Икария, Терма	18	952	3,8±0,3
Lycastopsis sp.	Эгейское море, о. Икария, Терма	16	418	3,3±1,4
Platynereis dumerilii	Эгейское море, о.Икария, Арменистис	13	220	1,2±0,9
Platynereis dumerilii	Эгейское море, о. Икария, Лефкада	19	341	4,4±1,2
Nais communis	о. Икария, пресноводный водоем	23	150	8,2±3,1

Кроме того, высокая температура воды и низкая величина рН (5,3 - 6,0) в районах гидротермальных источников также могут оказывать повреждающее или модифицирующее воздействие. В работе [16] показано, что накопление ^{241}Am прудовиком при рН 5 было в несколько раз больше, чем при рН 8. Возможно, что низкая величина рН может интенсифицировать накопление в организме и других актинидов, в частности, урана и тория.

Таким образом, проведенное исследование показало, что на о. Икария вблизи гидротермальных источников в клетках гидробионтов наблюдаются генотоксические эффекты, обусловленные, по-видимому, комплексным влиянием естественных радионуклидов, возможно, в форме микроагрегатов (альфа-излучателей и химических токсикантов - тяжелых металлов) и других природных факторов - рН и температуры воды

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Mewissen D.Y., Damblon J., Bacq Z.M.* Compaative sensitivity to radiation of seeds from wild plant grown on uraniferous and non-uraniferous soils // *Nature*. - 1959. - 183. - № 4673. - P.1449.
2. *Osburn W.S.* Variation in clones of *Penstemon* growing in natural areas of different radioactivity// *Scitnce*. - 1961. – Vol. 34. - No. 3475. – P.342.
3. *Маслова К.И., Материй Л.Д., Груздев В.И.* Изменчивость относительного веса некоторых органов и гематологических показателей у полевок-экономок, обитающих в различных радиоэкологических условиях // *Вопросы радиоэкологии наземных биогеоценозов*. - Сыктывкар, 1974. - С. 120 -135.
4. *Abraham A., Nilan S.A., Ramachandran K., Kuriacham P.J.* Chromosome aberrations in *Spinifax littoruos* from the Monasito Belt // *Cytologia*.- 1976. - Vol. 41. – No. 2. - P. 301 – 311.
5. *Takahashi C.S.* Cytogenetical studies of the effects of high natural radiation levels in *Tityus bahiensis* (Scorpiones, Buthidae) from Moro de Ferro // *Brasil Radiat. Res.* - 1976. - Vol. 67. - No. 2. - P.371 - 381.
6. *Deploux M., Darebroux M.A.* Cenetic effects on the system of tobacco over a uranous outcrop in the Permain Basin of Lodeve (Herault, France) // *Mutat. Res.* - 1981. - Vol. 82. - No. 1. - P. 101 - 110.
7. *Бородкин П.А.* Цитогенетические исследования микропопуляций сибирской красной полевки в различных радиоэкологических условиях // *Экология*.- 1981. - № 5.- С. 44 - 50.
8. *Попова О.В., Шершунова В.И., Коданева Р.П., Таскаев А.И.* Проявление хлорофильной недостаточности в природных популяциях горошка мышиного (*Vicia cracca* L.) в зависимости от радиоэкологических условий произрастания // *Генетика*. - 1985. - Т. 21, № 4. - С. 670 - 672.

9. *Цыцугина В.Г., Русик Н.С., Лазоренко Г.Е.* Искусственные и естественные радионуклиды в жизни гидробионтов. – К.: Наук. думка, 1973. - 152 с.
10. *Trabidou G., Florou H., Angelopoulos A., Sakeliou L.* Environmental study of the radioactivity of the spas in the island of Icaria// *Radiat Protection Dosimetry.*- 1996.- Vol. 63.- No. 1. - P. 63 - 67.
11. *Florou H.* Natural and artificial radioactivity in marine ecosystems.Ph. D. Thesis University of Athens. 1990.
12. *Environmental radioactivity Laboratory Environmental Monitoring Program of the Country* (Data available) NCSR “Demokritos”, Athens, 1989.
13. *Tsytsugina V.G.* Chromosome mutagenesis in populations of aquatic biota in the Black Sea, Aegean Sea, and Danube and Dnieper rivers, 1986 - 1989 // *Proc. of seminar on comparative assessment of the environmental impacts of radionuclides released during three major nuclear accidents, Kyshtym, Windscale, Chernobyl.* Luxembourg, 1 - 5 Oct. 1990. - Vol. II. - P. 895 - 904.
14. *Polikarpov G.G.* Conceptual model of responses of organisms, populations and ecosystems to all possible dose rates of ionising radiation in the environment // *Radiat. Protection Dosimetry.* - Vol. 75.- No. 1-4. - P. 181 - 185.
15. *Русик Н.С.* Уран и плутоний в морских организмах // *Морская радиохимическая экология и проблема загрязнений.*- К.: Наук.думка, 1984. - С. 103 - 113.
16. *Thiels G.M., Murray C.N., Vanderborcht O.L.* The effects of water acidity and seasonal variability on the distribution of ²⁴¹Am in the freshwater snail *Lymnaea stagnalis* L. // *Health Phys.* - 1984. - Vol. 47, No. 3. - P. 485 - 487.

Поступила в редакцию 25.10.04,
после доработки – 04.04.05.

6 ГЕНОТОКСИЧНІ ЕФЕКТИ В ПОПУЛЯЦІЯХ ГІДРОБІОНТІВ ІЗ РАЙОНІВ З ПІДВИЩЕНИМ ПРИРОДНИМ РАДІАЦІЙНИМ ФОНОМ

В. Г. Цицугіна, Х. Флору, Г. Г. Полікарпов

Досліджено аберації хромосом у клітинах гідробіонтів у місцях з підвищеним вмістом природних радіонуклідів (райони гідротермальних джерел на о. Ікарія в Егейському морі та Карадазі в Криму). У ракоподібних та червів на о. Ікарія виявлено найбільш високий рівень хромосомного мутагенезу, мультиаберантні клітини та пікноз ядер. Припускається, що генотоксичні ефекти індуковані комплексним впливом низької величини рН, високої температури води та підвищеного вмісту природних радіонуклідів.

6 GENOTOXIC EFFECTS IN HYDROBIONTS POPULATIONS FROM THE AREAS WITH ELEVATED NATURAL RADIATION BACKGROUND

V. G. Tsytsugina, H. Florou, G. G. Polikarpov

Chromosome aberrations in cells of hydrobionts have been studied at sites with high natural radioactivity level (areas around the hydrothermal spas in the Ikaria island in the Aegean Sea and Karadag in the Crimea). Higher level of chromosome mutagenesis, multiaberrant cells and pyknotic nuclei were found in crustaceans and worms in the Ikaria island. The assumption may be made that observed genotoxic effects could be attributed to the combined action of low pH, high water temperature and heavy natural radionuclides.