



УДК [594.38:575.2](28)(477.41)

© 2009

Е. В. Дзюбенко, Д. И. Гудков

Частота хромосомных аберраций и гематологические показатели у прудовика обыкновенного (*Lymnaea stagnalis* L.) в водоемах Зоны отчуждения Чернобыльской АЭС

(Представлено членом-корреспондентом НАН Украины Н. Ю. Евтушенком)

*Оцінено дозові навантаження, а також частоту хромосомних аберацій та зміни складу гемолімфи у червоного моллюска (*Lymnaea stagnalis* L.) у водоймах Зони відчуження Чорнобильської АЕС у 1998–2007 рр. Потужність поглинутої дози було зареєстровано у діапазоні 0,3–85,0 мкГр/год. У замкнених водоймах Зони відчуження відзначено підвищену частоту хромосомних аберацій у тканинах ембріонів (до 27%), а також істотну зміну гематологічних показників у дорослих особин моллюсків у порівнянні з контрольними водоймами.*

Одной из основных радиоэкологических проблем, связанных с аварией на Чернобыльской АЭС (ЧАЭС), остается оценка нарушений в биосистемах в результате интенсивного радионуклидного загрязнения и обусловленного этим радиационного воздействия, которое в Зоне отчуждения ЧАЭС (далее Зона отчуждения) приобрело хронический характер. За минувшие 23 года исследователями из различных стран и научных учреждений проведен значительный объем работ, посвященных медико-биологическим последствиям аварии. По вполне понятным и в какой-то мере оправданным причинам, основным объектом данных исследований был человек. При этом происходило существенное развитие и совершенствование методов оценки дозовых нагрузок, а также эффектов радиационного воздействия у лиц, подвергшихся облучению. В значительно меньшей степени внимание радиобиологов и радиоэкологов было уделено другим, как предполагалось, менее радиочувствительным представителям животного и растительного мира, в частности водным организмам. Гидробионты Зоны отчуждения, обитающие в разнообразных условиях формирования повышенных доз облучения, как и прежде остаются недостаточно изученным в этом отношении объектом. Во всяком случае, немногочисленные исследования, которые существуют в данной области, в большинстве не подкреплены результатами дозиметрии, что осложняет

научно обоснованное сопоставление наблюдаемых (или отсутствующих) эффектов, с величиной мощности поглощенной дозы.

Пресноводные моллюски являются важным объектом радиоэкологических и радиобиологических исследований акваторий, испытывающих влияние предприятий ядерного топливного цикла. Благодаря способности накапливать практически все радионуклиды, регистрируемые в воде, и высокой биомассе, моллюскам принадлежит доминирующая роль в процессах перераспределения и биоаккумуляции радионуклидов в пресноводных экосистемах, что позволяет рассматривать этих беспозвоночных как виды-индикаторы загрязнения водных объектов радиоактивными веществами.

Несмотря на годы, минувшие после аварии, водные экосистемы Зоны отчуждения по-прежнему характеризуются высокими уровнями радионуклидного загрязнения со сложной структурой распределения и динамичностью физико-химических форм, влияющих на скорость миграции, повышающих биологическую доступность и концентрирование радионуклидов компонентами экосистем [1–4]. Это в свою очередь обуславливает повышенные дозовые нагрузки на организмы с высокими коэффициентами накопления радионуклидов, обитающие в экологических зонах со значительными уровнями внешнего γ -излучения [5, 6]. Основным дозообразующим радионуклидом для моллюсков Зоны отчуждения в настоящее время является ^{90}Sr — химический аналог кальция, накапливающийся в раковинах и в значительных количествах присутствующий в донных отложениях водоемов.

Цель настоящих исследований — оценка дозовых нагрузок за счет внешних источников облучения и радионуклидов (^{90}Sr , ^{137}Cs , ^{238}Pu , $^{239+240}\text{Pu}$ и ^{241}Am), инкорпорированных в тканях, а также анализ частоты хромосомных aberrаций в период эмбрионального развития и изменение состава гемолимфы взрослых особей пресноводного брюхоногого моллюска прудовика обыкновенного (*Lymnaea stagnalis* L.). Основные исследования проводили на территории Зоны отчуждения в 1998–2007 гг. в реках Припять и Уж, озерах Глубокое, Далекое-1, Азбучин и в Яновском (Припятском) затоне. В качестве контрольных водоемов для сравнительных цитогенетических и гематологических исследований использовали ряд озер, расположенных в г. Киев и его окрестностях.

Измерение удельной активности ^{137}Cs в пробах проводили при помощи γ -спектрометрического комплекса в составе детектора PGT IGC-25 (Франция), анализатора “Nokia LP 4900 B” (“Nokia”, Финляндия), источника низковольтного питания — крейт NIM BIN, усилителя NU 8210 (“Elektronikus Merokeszulekek Gyara”, Венгрия) и свинцовой защиты толщиной 100 мм. Для определения удельной активности ^{90}Sr использовали низкофоновый β -радиометр NRR-610 (“Tesla”, Чехия). Содержания ^{238}Pu и $^{239+240}\text{Pu}$ в электролитически приготовленных препаратах определяли с использованием α -спектрометрического тракта в составе камеры с детектором, системы электропитания, вакуумной системы и анализатора импульсов NUC-8192 (“Elektronikus Merokeszulekek Gyara”, Венгрия), собранного из электронных блоков в составе “NIM”. Для измерения содержания ^{241}Am использовали рентгеноспектрометрический тракт в составе рентгеновского детектора EG&G Ortec LOAX-51 370/20 CFG-SU-GMX (“EG&G Ortec”, США) и анализатора “Nokia LP 4900 B”.

Мощность внешней дозы γ -излучения устанавливали при помощи дозиметров ДКС-01 и СРП-68-03 (модель для измерения дозы излучения в жидких средах). Оценку мощности поглощенной дозы от инкорпорированных ^{90}Sr , ^{137}Cs , $^{238,239,240}\text{Pu}$, и ^{241}Am проводили по методике [7] с использованием дозовых пересчетных коэффициентов (dose conversion coefficients) для брюхоногих моллюсков. Погрешность оценки дозовых нагрузок не превышала 30%.

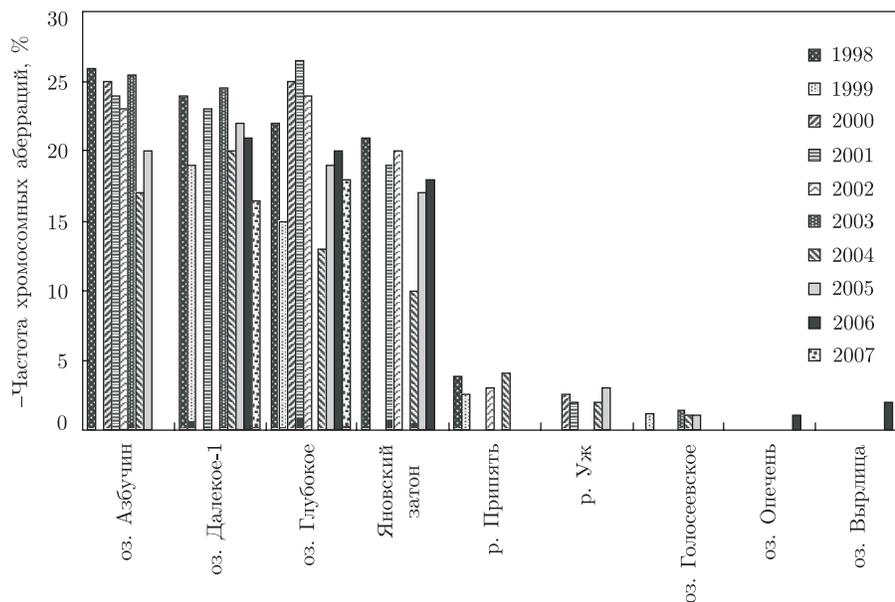


Рис. 1. Частота хромосомных aberrаций у эмбрионов прудовика обыкновенного в водоемах Зоны отчуждения и в условно “чистых” водоемах Киева на протяжении 1998–2007 гг.

Для цитогенетических исследований брали эмбрионы моллюсков преимущественно на стадии трахофоры и велигера. Фиксацию материала осуществляли на месте отбора проб смесью этилового спирта и ледяной уксусной кислоты (3 : 1). Окраску цитологических препаратов выполняли 1%-м ацетоорсеином. Частоту aberrаций хромосом в препаратах регистрировали в клетках на стадиях анафазы и телофазы митоза [8]. Гематологические исследования проводили с использованием мантийной жидкости моллюсков, фиксированной раствором Карнуа. Препараты окрашивали азур-эозином по Романовскому–Гимза [9]. Анализ соотношения различных групп гемоцитов и их классификацию проводили по методике [10].

Выполненные исследования цитогенетических нарушений в тканях эмбрионов моллюска свидетельствуют о повышенном уровне aberrаций хромосом у беспозвоночных из замкнутых водоемов Зоны отчуждения (озера Азбучин, Далекое-1, Глубокое и Яновский затон) по сравнению с моллюсками условно “чистых” водных объектов (озера Голосеевское, Опечень и Вырлица, расположенные в окрестностях Киева). За период исследований наибольшие значения зарегистрированы для беспозвоночных оз. Глубокое, в клетках которых частота aberrаций в 2001 г. достигала 27 %, что более чем в 10 раз превышает уровень спонтанного мутагенеза для водных организмов. Средние значения для моллюсков из наиболее загрязненных озер Зоны отчуждения составляли около 23, 21, 20 и 18% соответственно для озер Азбучин, Далекое-1, Глубокое и Яновского затона. Эмбрионы моллюсков в реках Уж и Припять характеризовались сравнительно невысоким средним уровнем aberrантных клеток, который составлял соответственно 2,5 и 3,5%. Для моллюсков условно “чистых” озер этот показатель составлял в среднем около 1,5% с максимальными значениями до 2,5% (рис. 1).

Следует отметить, что на протяжении исследований 1998–2007 гг. отмечена тенденция незначительного снижения количества aberrантных клеток у эмбрионов прудовиков, отобранных в замкнутых водоемах Зоны отчуждения. На основании полученных данных нами были выполнены прогнозные оценки динамики снижения частоты хромосомных aberrаций

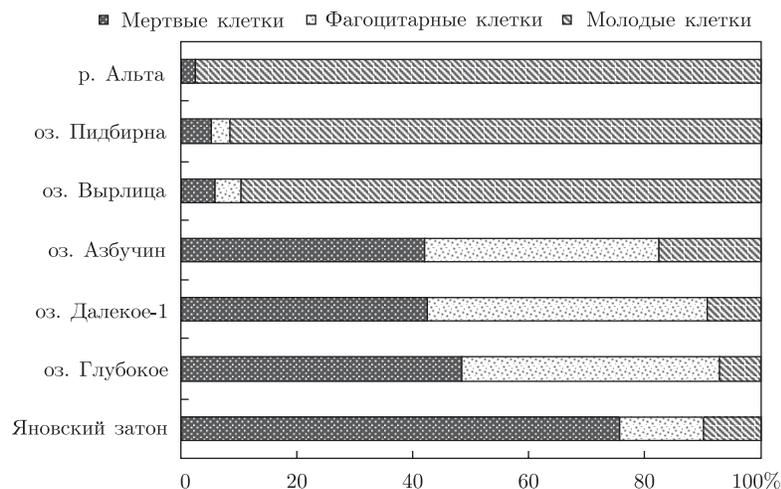


Рис. 2. Состав форменных элементов мантийной жидкости прудовика обыкновенного в водоемах Зоны отчуждения и в условно “чистых” водоемах в 2007 г.

до спонтанного уровня (2,0–2,5) [11], присущего водным организмам в условиях естественного радиационного фона. В озерах, расположенных на территории левобережной поймы р. Припять (озера Глубокое и Далекое-1), наиболее загрязненной радионуклидами, спонтанный уровень частоты aberrаций хромосом может быть достигнут в 60–70-х, а в Яновском затоне и оз. Азбучин — в 20–30-х годах текущего столетия.

Мощность поглощенной дозы для взрослых моллюсков за счет внешних и внутренних источников облучения за период исследований регистрировали в следующих диапазонах: оз. Глубокое 30–85 мкГр/ч; оз. Азбучин 18–27 мкГр/ч; оз. Далекое-1 10–17 мкГр/ч; Яновский затон 6–12 мкГр/ч; р. Припять 0,5–0,7 мкГр/ч; р. Уж 0,3–0,5 мкГр/ч; контрольные водоемы 0,03–0,04 мкГр/ч. Необходимо отметить, что приведенные диапазоны дозовых нагрузок моллюски получали с мая по ноябрь при обитании в приповерхностном слое воды литоральной и сублиторальной зон исследуемых водоемов. Таким образом, нами не рассчитывалась доза, которую получали моллюски в остальной период, находясь на зимовке в донных отложениях водоемов. В связи с этим можно предположить, что среднегодовая мощность поглощенной дозы для прудовика обыкновенного будет, очевидно, в 2–3 раза выше. В первую очередь, это касается замкнутых водоемов Зоны отчуждения, характеризующиеся высокой плотностью загрязнения донных отложений радионуклидами.

Сравнительный анализ состава форменных элементов гемолимфы прудовика обыкновенного свидетельствует, что у моллюсков из водоемов Зоны отчуждения (озера Глубокое, Далекое-1, Азбучин и Яновский затон) доля мертвых агранулоцитов достигает 43,8%, а количество фагоцитов — 45,0%. Аналогичные показатели у моллюсков из условно “чистых” водоемов (озера Вырлица, Пидбирна и р. Альта) были значительно ниже и составили соответственно в среднем около 5,3 и 4,2%. Количество молодых амебоцитов у моллюсков Зоны отчуждения были наоборот невысоким — до 20%, в то время как у моллюсков условно “чистых” водоемов достигало 89,6% (рис. 2). В целом, анализ форменных элементов мантийной жидкости исследованных прудовиков показывает существенное изменение состава гемолимфы моллюсков из наиболее загрязненных озер Зоны отчуждения.

Таким образом, мощность поглощенной дозы для прудовика обыкновенного при обитании в приповерхностном слое литорали и сублиторали водоемов Зоны отчуждения на про-

тяжении 1998–2007 гг. регистрировали в диапазоне 0,3–85,0 мкГр/ч. Максимальные уровни отмечены для озер одамбированного участка левобережной поймы рек Припять — Глубокое и Далекое-1, минимальные — для проточных водных объектов — рек Уж и Припять. Соотношение доз, обусловленных внешним и внутренним облучением моллюсков в различных водоемах, существенно варьирует и зависит от содержания γ -излучающих радионуклидов в донных отложениях литоральной зоны и почвах, прилегающих к береговой линии. При высоком уровне загрязнения последних до 95% дозы может формироваться за счет внешних источников и лишь 5% — за счет радионуклидов, инкорпорированных в тканях. Основным дозообразующим радионуклидом для моллюсков в большинстве замкнутых водоемов Зоны отчуждения в настоящее время является ^{90}Sr , на долю которого приходится до 90–95% внутренней дозы облучения.

Благодаря выполненным цитогенетическим и гематологическим исследованиям моллюсков в Зоне отчуждения можно говорить о высоком уровне aberrаций хромосом в эмбриональных тканях, а также о существенном изменении состава гемолимфы в наиболее загрязненных радионуклидами водоемах. Частота хромосомных aberrаций в тканях моллюсков замкнутых водоемов Зоны отчуждения многократно превышает уровень спонтанного мутагенеза для водных организмов и может быть проявлением радиационно-индуцируемой генетической нестабильности.

Прудовик обыкновенный является широко доступным, удобным и достаточно радиочувствительным объектом для цитогенетического и гематологического мониторинга водных экосистем, испытывающих влияние предприятий ядерной энергетики, и может быть использован в качестве одного из возможных представительных (референтных) гидробионтов при разработке положений охраны окружающей среды от ионизирующего излучения с использованием основанного на биоте стандарта.

Процессы автореабилитации замкнутых водоемов Зоны отчуждения происходят крайне медленно, в результате чего экосистемы большинства озер, стариц и затонов и по сей день характеризуются высоким уровнем радионуклидного загрязнения всех компонентов. В условиях водоемов Зоны отчуждения у пресноводных моллюсков зарегистрированы эффекты, указывающие на уязвимость биологических систем на разных уровнях организации. Комплексное и всестороннее изучение этих эффектов является важной и необходимой составляющей системы мероприятий, связанных с анализом, прогнозированием и минимизацией последствий аварии на ЧАЭС для биоты.

1. Гудков Д. И., Киреев С. И., Обризан С. М. та ін. Радіоекологічні проблеми перезволоження та заболочування одамбованої території Красненської заплави в зоні відчуження // Бюл. екол. стану зони відчуження та зони безумовного (обов'язкового) відселення. – 2005. – № 2. – С. 3–7.
2. Иванов Ю. О. Динамика перераспределения радионуклидов в грунтах и растительности // Чернобыль – Зона отчуждения / Под ред. В. Г. Барьяхтара. – Киев: Наук. думка, 2001. – С. 47–76.
3. Кашипаров В. О. Загрязнение ^{90}Sr территории зоны отчуждения // Бюл. екол. состояния зоны отчуждения и зоны безусловного (обязательного) отселения. – 1998. – № 12. – С. 41–43.
4. Соботович Э. В., Бондаренко Г. Н., Кононенко Л. В. Геохимия техногенных радионуклидов. – Киев: Наук. думка, 2002. – 332 с.
5. Гудков Д. И., Кузьменко М. И., Киреев С. И., Назаров А. Б. Радиоэкологические последствия аварии на Чернобыльской АЭС для водных экосистем зоны отчуждения // Радиоэкологические исследования в зоне отчуждения Чернобыльской АЭС (к 20-летию аварии на Чернобыльской АЭС): Тр. Коми науч. центра УрО РАН, № 180. – Сыктывкар, 2006. – С. 201–223.
6. Gudkov D. I., Kuzmenko M. I., Kireev S. I. Radionuclides in components of aquatic ecosystems of the Chernobyl accident restriction zone // 20 Years after the Chernobyl Accident: Past, Present and Future / Eds. E. V. Burlakova, V. I. Naidich. – New York: Nova Sci. Publ., Inc., 2006. – P. 265–285.

7. *Handbook* for assessment of the exposure of biota to ionising radiation from radionuclides in the environment / Eds. J. Brown, P. Strand, A. Hosseini, P. Børretzen. – Project within the EC 5th Framework Programme, Contract № FIGE-CT – 2000. – 00102. – Stockholm: Framework for Assessment of Environmental Impact, 2003. – 395 p.
8. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений. – Москва: Колос, 1974. – 288 с.
9. Majone F., Brunetti R., Gola I., Levis A. G. Persistence of micronuclei in the marine mussel, *Mytilus galloprovincialis*, after treatment with mitomycin // *Mutat. Res.* – 1987. – **191**, No 3-4. – P. 157–161.
10. Дзюбо С. М., Романова Л. Г. Морфология амебоцитов гемолимфы приморского гребешка // *Цитология.* – 1992. – **34**, № 10. – С. 52–58.
11. Поликарпов Г. Г., Цыцугина В. Г. Закономерности распределения аберраций хромосом по клеткам гидробионтов при действии ионизирующего излучения и химических мутагенов // *Радиобиология.* – 1993. – **33**, № 2. – С. 205–213.

Институт гидробиологии НАН Украины, Киев

Поступило в редакцию 15.12.2008

E. V. Dzyubenko, D. I. Gudkov

Chromosome aberration and hematological rates of gastropod snail (*Lymnaea stagnalis* L.) in water bodies of the Chernobyl NPP exclusion Zone

*The radiation dose, as well as the chromosome aberration rate and a change of the hemolymph structure of the gastropod snail (*Lymnaea stagnalis* L.) in water bodies within the Chernobyl NPP exclusion Zone during 1998–2007, is evaluated. The absorbed dose is registered in range 0.3–85.0 $\mu\text{Gy/h}$. In closed water bodies, the high rate of chromosome aberration in embryo tissues (up to 27%) and essential changes of hematological rates of adult molluscs in comparison with those in control water bodies are determined.*