

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 й зони безумовного (обов'язкового) відселення. Виявлено, що навіть 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 абераційних 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 свідчить 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 — іонізуючим 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 стали унікальним полігоном для багаторічних досліджень з вивчення генетичних наслідків хронічної дії іонізуючого випромінювання.

Унаслідок природного розпаду довгоіснуючих нуклідів —  $^{137}\text{Cs}$ ,  $^{90}\text{Sr}$ , 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-кілометровій зоні забруднення  $^{241}\text{Am}$  [14], кількість якого в результаті відносно швидкого розпаду  $^{239}\text{Pu}$  до 2059 р. збільшиться в 40 разів [2]. Зважаючи на те що в ближній зоні аварії частка  $^{239}\text{Pu}$  в сумарній активності трансуранових елементів становить близько 83 % і тривалість загрози радіонуклідного забруднення може вимірюватись ти-

сячоліттями [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 (ЗВ і ЗБ(О)В) через 25 років після аварії на ЧАЕС проведено цитогенетичний аналіз меристематичних клітин первинних коренів проростків озимій пшениці (*Triticum aestivum* L.) сортів Альбатрос одеський та Зимоярка. Насіння впродовж 40 год витримували у вологому забрудненому радіонуклідами ґрунті, відібраному на околицях сіл Копачі, Чистоголівка, Янів (потужність експозиційних доз становила  $7,2 \cdot 10^{-12}$ — $5,0 \cdot 10^{-7}$  А/кг) (табл. 1), а також у пробах води з рідких талих стоків території заболоченого притерасного зниження с. Чистоголівка.

За контроль взято ґрунт із території Дослідного сільськогосподарського виробництва Інституту фізіології рослин і генетики НАН України (смт Глеваха Васильківського р-ну Київської обл.), де протягом багатьох років вивчається спонтанний рівень мутаційної мінливості у рослин озимій пшениці. Проби ґрунту й води відбирали відповідно до стандартних методик [3].

Насіння пророщували за температури 24—26 °С. 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 і хромосомних аберацій до уваги брали клітини, які перебували в анафазі та ранній телофазі. Вибірка становила не менш як 1000 клітин для кожного варіанта.

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

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

Примітка. Контроль — сумарна питома радіоактивність ґрунту смт Глеваха Київської області: 290 Бк/кг (21,8 кБк/м<sup>2</sup>).

## 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 оцінюванні 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 аберантних клітин залежно від сорту пшениці та щільності забруднення ґрунту вища за спонтанний рівень у 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 Чистогалівка, Янів). Значно зростає частота аберантних 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. Чистогалівка, яке в 1,6 рази вище за сумарну щільність забруднення ґрунту с. Копачі, індукує в сорту Альбатрос одеський клітини з аномаліями мітозу й хромосомними аберациями 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. Чистогалівка 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: 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].

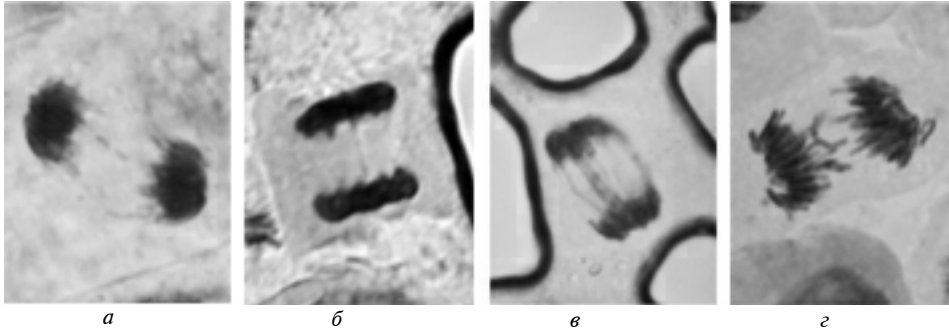
Отже, відсутність прямої залежності частоти аберантних клітин від щільності радіонуклідного забруднення ґрунту ставить під сумнів можливість використання в умовах радіонуклідного забруднення показників питомої радіоактивності й потужності експозиційної дози для прогнозування тяжкості генетичних порушень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

Забруднені території залишаються відкритим джерелом поширення радіонуклідів, які надходять з поверхневими й ґрунтовими водами в річкові системи і виносяться за межі ЗВ і ЗБ(О)В — в Дніпро та 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. Чистогалівка виявлено зростання рівня хромосомних перебудов. Частота аберантних клітин перевищує їх частоту в контролі в 1,8 рази для сорту пшениці Альбатрос одеський та в 2,7 рази для сорту Зимоярка.

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

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

\*Різниця порівняно з контролем статистично вірогідна за  $p < 0,05$ .



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

*a* — парні фрагменти; *б* — хроматидний міст; *в* — мультиаберагантна клітина; *г* — відстаюча хромосома

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 (рисунок, *a, 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, *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 спостерігались аномалії клітинного поділу — триполюсні мітози та відстаючі хромосоми (див. рисунок, *г*). Відстаючі хромосоми з'являлись лише за впливу вищих фонових значень радіаційного забруднення ґрунту сіл Чистоголівка 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].

Таким чином, радіонуклідне забруднення ґрунту ЗВ і ЗБ(О)В навіть через 25 років після аварії на ЧАЕС спричинює зростання частоти хромосомних аберацій в озимої пшениці, що в 2,0—7,6 раза перевищує їх рівень у контролі. Радіонуклідне забруднення рідких стоків талих вод території заболоченого притерасного зниження с. Чистоголівка викликає зростання в 1,8 і 2,7 раза рівня аберагантних клітин відповідно у сортів озимої пшениці Альбатрос одеський та Зимоярка. 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 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. — Л.: Гидрометеиздат, 1989. — 286 с.
4. Гайченко В.А., Титар В.М., Стовбчатий В.М. та ін. Особливості біологічного різноманіття тварин в умовах радіоактивного забруднення біогеоценозів // Агроекол. журн. — 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 // Там же. — 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 // Там же. — 2009. — **49**, № 2. — С. 192—202.
8. Гудков И.Н. Современные задачи и проблемы сельскохозяйственной радиоэкологии // Агроекол. журн. — 2005. — № 3. — С. 22—26.
9. Елисова Т.В. Стабильные и нестабильные абберрации 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 // Агроекол. журн. — 2005. — № 3. — С. 26—31.
11. Инге-Вечтомов С.Г. Фундаментальная и прикладная экологическая генетика // Факторы экспериментальной эволюции организмов: 36. науч. праць. 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 // Там же. — 2008. — **48**, № 3. — С. 313—317.
14. Куцоконь Н.К., Рашидов Н.М., Гродзинский Д.М. Цитогенетические эффекты  $^{241}\text{Am}$  в Allium-тесте // Там же. — 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 // Там же. — 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. Моргунов 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. Радиоэкология. — 2007. — **47**, № 2. — С. 196—203.
20. Цыбулька Н.Н., Черныш А.Ф., Тишук Л.А., Жукова И.И. Горизонтальная миграция  $^{137}\text{Cs}$  при водной эрозии почв // Там же. — 2004. — **44**, № 4. — С. 473—477.
21. Чешко В.Ф. Глобальные трансформации адаптивной стратегии техногенной цивилизации: Чернобыль как проблема практической философии // Агроекол. журн. — 2005. — № 3. — С. 76—86.
22. Шевченко В.А., Снигирева Г.П. Значимость цитогенетического обследования для оценки последствий чернобыльской катастрофы // Радиационная биология. Радиоэкология. — 2006. — **46**, № 2. — С. 133—139.
23. Шмакова Н.Л., Насонова Е.А., Красавин Е.А. и др. Индукция хромосомных аббераций и микроядер в лимфоцитах периферической крови человека при действии малых доз облучения // Там же. — 2006. — **46**, № 4. — С. 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.

Отримано 29.11.2012

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

Р.А. Якимчук

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Проведен цитогенетический анализ клеток меристемы первичных корней озимой пшеницы, семена которой подверглись влиянию радионуклидов почвы и стоков талых вод 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 в результате миграции могут приводить к образованию новых пятен с повышенным радиационным фоном. Спектр хромосомных aberrаций преимущественно включает парные фрагменты и дицентрические мосты. Более высокие фоновые значения радиационного загрязнения почвы обуславливают появление клеток с отстающими хромосомами, что свидетельствует об анеугенном действии ионизирующего излучения.

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

R.A. Yakymchuk

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine  
31/17 Vasylykivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

A cytogenetic analysis of primary root meristem cells of winter wheat which seeds were influenced by soil radionuclides and liquid melt wastes of the Zone of exclusion and Zone of compulsory (absolute) resettlement was carried out. 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 then control level. Radionuclides of meltwater liquid drains cause the increase 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 dysentheric bridges. The impact of higher background soil radioactive pollution leads to the appearance of cells with lagging chromosomes which indicates the aneugenic effect of ionizing radiation.

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