

УДК [(575.+574.64):581.526.3](285)

МОНІТОРИНГ ЦИТОГЕНЕТИЧНОГО СТАНУ ВИЩИХ ВОДЯНИХ РОСЛИН У ВОДОЙМАХ ЗОНИ ВІДЧУЖЕННЯ ЧАЕС

Н. Шевцова

Інститут гідробіології НАН України
просп. Героїв Сталінграда, 12, Київ 03210, Україна
e-mail: shevtsovanl@rambler.ru

Проведено цитогенетичний моніторинг вищих водяних рослин Зони відчуження Чорнобильської АЕС. Аналіз проводили за допомогою анафазного експрес-методу на апікальних клітинах меристемних тканин коренів рослин, які є домінантами чи субдомінантами в літоральних угрупованнях повітряно-водяних рослин водойм Зони відчуження. Найвищий рівень цитогенетичних порушень зареєстрований у рослин із водойм лівобережної частини заплави р. Прип'ять, які є найбільш радіоактивно забрудненими водоймами української частини Зони відчуження ЧАЕС. Розподіл різних типів аберацій у рослин із водойм лівобережної частини заплави вказує на рівноцінну значущість як радіоактивного, так і хімічного факторів.

Ключові слова: хромосомні аберації, вищі водяні рослини, Зона відчуження ЧАЕС.

Цитогенетичний моніторинг є одним із найефективних способів контролю за зростанням мутагенного потенціалу навколишнього середовища. Збільшення ступеня цитогенетичних пошкоджень в апікальних клітинах меристемних тканин коренів рослин, які відрізняються швидким клітинним поділом, є дуже чутливим показником у реєстрації та кількісній оцінці дії іонізуючої радіації на рослини. Забруднені внаслідок Чорнобильської катастрофи території надають унікальний шанс для вивчення та визначення найбільш чутливих до дії радіаційних джерел різного типу біологічних показників індикаторів радіоекологічного стану довкілля.

Головною метою даних досліджень є експрес-оцінка за цитогенетичними показниками стану вищих водяних рослин в умовах хронічної дії малих доз радіаційного опромінення *in vivo*.

Дослідження проводили у 2008 р. на водоймах 30-кілометрової Зони відчуження Чорнобильської АЕС. Проби вищих водяних рослин для цитогенетичного аналізу та вимірювання вмісту радіонуклідів відбирали у літоральній зоні оз. Азбучин, Янівському затоні, водоймі-охолоджувачі ЧАЕС (ВО ЧАЕС) та на озерах лівобережної заплави ріки Прип'ять – озерах Глибоке і Далеке-1 та р. Прип'ять (біля м. Чорнобиль). Для порівняння відбирали проби на Київській водоймі біля с. Лютіж, де потужність поглинутої рослинами дози іонізуючого опромінення відповідає значенню природного радіаційного фону.

Зовнішні дозові рівні вимірювали за допомогою радіометрів ДКС-01 та СРП-68-03. Внутрішні дози опромінювання розраховували за вмістом радіонуклідів ^{90}Sr , ^{137}Cs , ^{238}Pu , $^{239+240}\text{Pu}$ та ^{241}Am за допомогою перерахункових коефіцієнтів [12]. Дозові навантаження на вищі водяні рослини в літоральній зоні полігонних водойм перебувають на рівні середніх значень 0,0525–0,1195 Гр/рік [11]. У порядку зменшення потужності поглинутої дози для гідробіонтів літоралі, досліджувані водойми можна розташувати у такій послідовності: оз. Глибоке > оз. Далеке > оз. Азбучин > Янівський затон > ВО ЧАЕС > р. Прип'ять. Поглинута доза для вищих водяних рослин у Київському водоймищі біля с. Лютіж не перевищує 0,003 Гр/рік.

Для аналізу відбирали види рослин, які домінують або субдомінують у літоральних угрупованнях повітряно-водяних чи водяних рослин в полігонних водоймах – очерет звичайний (*Phragmites australis*), сусак зонтичний (*Butomus umbellatus* L.), лепешняк великий (*Glyceria maxima* (C.Hartm.) Holmb.), тілоріз звичайний (*Stratiotes Aloides* L.), стрілолист стрілолистий (*Sagittaria sagittifolia* L.). Рівень хромосомних аберацій визначали за модифікованим для макрофітів анафазним методом [9]. Показники хромосомних порушень обробляли стандартними статистичними методами [8].

У табл. 1 наведено отримані за допомогою анафазного експрес-методу дані хромосомних порушень в апікальних клітинах корневих меристем очерету звичайного, який є домінантом у прибережно-водяних угрупованнях повітряно-водяних (гелофітів) рослин практично в усіх полігонних водоймах. Наведені середні сезонні та середньорічні показники частоти хромосомних аберацій у клітинах коренів очерету звичайного та коефіцієнт варіювання.

За період дослідження – вегетаційний сезон 2008 р. – відпрацьовано 153 корені, 44 272 клітини на стадії анафази та ранній стадії телофази. Проаналізовано 1835 абераційних клітин і 2652 хромосомних аберацій.

Найвищі показники частоти хромосомних порушень зареєстровані у рослин водойм, які розташовані у лівобережній частині заплави р. Прип'ять – озерах Глибоке та Далеке й оз. Азбучин.

Найнижчі показники хромосомних порушень, які перебувають на рівні спонтанного мутагенезу, були зареєстровані у рослин р. Прип'ять та у Київському водоймищі (с. Лютіж). Загалом рівень мутагенезу у рослин замкнутих водойм Зони відчуження ЧАЕС у 1,5–4 рази перевищує 2% рівень, що є встановленим рівнем спонтанного (природного) мутагенезу для гідробіонтів [14].

Звертає на себе увагу той факт, що протягом вегетаційного періоду показник частоти хромосомних порушень в апікальних клітинах кореня очерету звичайного майже з усіх полігонних замкнутих чи слабопроточних водойм достовірно збільшується. Винятком є рослини з проточною водоймою – р. Прип'ять. Можна припустити, що ця тенденція пов'язана: по-перше з накопиченням у клітинах коренів рослин сублетальних ушкоджень, які примножуються з кожним наступним поділом; по-друге – зі зростанням під час вегетаційного сезону внутрішньої дози у коренях рослин внаслідок інтенсивного накопичення радіонуклідів під час прискореного обміну речовинами, який притаманний апікальним частинам молодих коренів рослин.

Найширший діапазон коливань показника частоти хромосомних порушень притаманний рослинам з оз. Далеке. Мінімальне та максимальне значення частоти хромосомних порушень відрізняються більш ніж утричі. Цікаво, що саме на цьому озері було вперше для України зареєстровано таке досить рідкісне явище, як ураження очерету звичайного кліщами *Stenotarsonemus phragmitidis* (у певні роки ураження сягало 100% популяції водойми). Припускається, що однією з можливих причин масового ураження рослин є зниження паразитарної стійкості очерету в умовах хронічного радіаційного впливу.

Ураження кліщами призводить до значного зниження темпів росту рослин, зменшує їхню насінневу продуктивність і біомасу [10, 11, 13], що призводить до зниження чисельності рослин у популяції. При зниженні чисельності популяції зменшуються і можливості обміну генетичною інформацією, що призводить, знову ж таки, до зниження життєздатності [6]. Таким чином, можна спрогнозувати значне скорочення популяції очерету звичайного в угрупованнях прибережно-водяних рослин конкретної полігонної

Таблиця 1

Середні за вегетаційний сезон показники хромосомних порушень в апікальних клітинах очерету звичайного в полігонних водоймах Зони відчуження ЧАЕС, % ($M \pm m$; $n = \text{варіанс}$)

Місце відбору	Час відбору	Кількість проаналізованих коренів	Кількість проаналізованих анафаз і ранніх телофаз	Частота аберантних анафаз, %		
				$M \pm m$	Інтервал Min-max	C_v
Оз. Глибоке	Весна	8	2024	6,93±0,67	5,38–8,48	7,53
	Літо	8	3210	7,8±0,58	6,44–9,12	10,62
	Осінь	10	2814	8,16±0,59	7,38–10,32	6,73
<i>Всього/Середнє</i>		26	8048	7,62±0,61		8,29
Оз. Далеке	Весна	8	1996	4,36±0,66	2,83–5,89	15,20
	Літо	12	4506	5,47±0,64	3,98–6,96	11,77
	Осінь	10	2758	7,14±0,61	5,89–8,15	12,37
<i>Всього/Середнє</i>		30	9260	5,66±0,64		13,11
Оз. Азбучин	Весна	10	1848	4,47±0,44	3,49–5,46	9,85
	Літо	11	3864	5,00±0,71	3,44–6,56	14,20
	Осінь	8	1908	7,67±0,56	6,34–8,75	11,34
<i>Всього/Середнє</i>		29	7620	5,71±0,57		11,80
Янівський затон	Весна	7	2178	3,75±0,34	2,95–4,56	9,01
	Літо	10	2802	3,92±0,22	3,43–4,4	5,55
	Осінь	7	3100	4,17±0,23	3,63–4,70	5,45
<i>Всього/Середнє</i>		24	8080	3,95±0,26		6,67
ВО ЧАЕС	Весна	15	3558	2,99±0,21	2,42–3,55	8,85
	Осінь	8	2931	3,19±0,21	2,53–3,86	9,78
<i>Всього/Середнє</i>		23	6489	3,09±0,21		9,32
Р. Прип'ять	Весна	11	3794	1,97±0,21	1,34–2,6	15,23
	Літо	10	2104	2,15±0,21	1,67–2,62	10,06
	Осінь	7	1977	1,34±0,21	0,82–1,82	15,23
<i>Всього/Середнє</i>		28	7875	1,82±0,21		13,51
Київське водоймище (біля с. Лютіж)	Літо	12	4251	2,03±0,217	1,54–2,21	16,89

водойми та витіснення його більш радіостійкою і стійкою до паразитарного ураження рослиною.

Дані досліджень частоти аберантних клітин у субдомінуючих видах літоральних угруповань водойм Зони відчуження ЧАЕС представлені у табл. 2. Рівень аберантних клітин у цих рослинах повсюдно перевищував спонтанний рівень у 1,5–6 разів.

При проведенні цитогенетичного моніторингу дуже важливим є контроль за співвідношенням генетичних порушень різного типу [1]. Як правило, підвищена частота порушень хромосомного типу, зазвичай, пов'язана з дією радіаційного фактора [3, 7]. Тип розподілу аберацій хромосом у спектрі вищих водяних рослин із водойм лівобережної заплави свідчить про практично еквівалентний вплив на рослини радіаційного та інших факторів – 28–30% мостів, 29–31 одиничних фрагментів і 40–42% множинних аберацій.

Спектр розподілу різних типів аберацій хромосом у клітинах рослин водойм, де потужність поглинутої дози на рослини лежить у межах 0,0525–0,0817 Гр/рік, вказує на

Таблиця 2

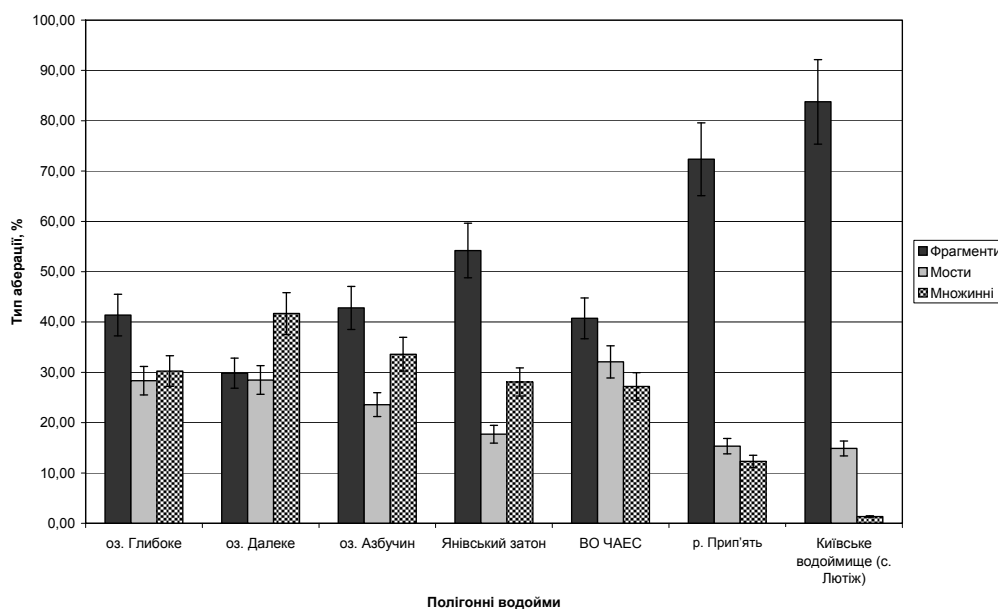
Частота хромосомних аберацій в апікальних клітинах кореневих меристем субдомінуючих видів прибережно-водяних рослинних угруповань водойм Зони відчуження ЧАЕС

Місце відбору	Частота аберацій хромосом, % (M±m)			
	<i>Butomus umbellatus</i>	<i>Glyceria maxima</i>	<i>Stratiotes Aloides</i>	<i>Sagittaria sagittifolia</i>
Оз. Глибоке	–	7,57±0,63	11,83±1,41	11,76±1,11
Оз. Далеке	–	5,18±0,71	*	–
Оз. Азбучин	5,85±0,36	–	10,29±1,58	–
Янівський затон	3,18±0,41	5,18±0,23	6,72±0,86	5,70±0,64

Примітка. Вид у рослинному угрупованні відсутній; * – вид не відбирали.

те, що виникнення генетичних пошкоджень пов'язано не тільки з радіаційним, але й із хімічним забрудненням водойм – важкими металами, скидами поверхнево-активних речовин із пралень комбінату ЧАЕС тощо. Про це свідчить досить високий відсоток одиничних фрагментів – від 42% у клітинах рослин з оз. Азбучин до 72% з р. Прип'ять. Спектр розподілу типів аберацій у рослинах Київського водоймища (біля с. Лютіж) демонструє типовий розподіл для водойм із природним радіаційним фоном.

Ще одним дуже важливим показником при проведенні цитогенетичного моніторингу є кількість клітин із множинними абераціями, чи показник кількості аберацій на одну аберагентну клітину. За класичною теорією мішені розподіл пошкоджень у клітинах при дії іонізуючих випромінювань має підлягати пуассоновому закону [5], але від пер-



Спектр розподілу різних типів аберацій хромосом у рослинах очерету звичайного водойм Зони відчуження ЧАЕС.

винного розриву ДНК до формування видимої хромосомної аберації проходить багато етапів, які можуть модифікувати первинну картину пошкоджень. Тому, як показали роботи численних дослідників [2, 4], не завжди розподіл хромосомних аберацій в опромінених клітинах відповідає розподілу Пуассона, що може обумовлюватися порушенням репараційних процесів у клітинах, які зазнали значних пошкоджень. Це приводить до появи великої кількості клітин із множинними хромосомними пошкодженнями, про що і свідчить показник середньої кількості аберацій на одну аберагентну клітину. Результати нашого дослідження представлені у табл. 3.

Результати дослідження вказують на те, що при збільшенні величини поглинутої дози, яку отримує рослина, помітно збільшуються показники кількості аберацій на одну аберагентну клітину. Збільшення часового періоду активного росту рослини під час вегетаційного періоду та пов'язане з цим збільшення поглинутої дози на корені рослини призводить

Таблиця 3

Показники кількості клітин із множинними абераціями на аберагентну клітину в апікальних клітинах очерету звичайного з водойм Зони відчуження ЧАЕС

Місце відбору	Час відбору	Потужність поглинутої дози, Гр/рік	Кількість проаналізованих аберагентних клітин	Кількість проаналізованих аберацій	Кількість аберацій на аберагентну клітину
Оз. Глибоке	Весна		156	224	1,44
	Літо		203	314	1,55
	Осінь		240	392	1,63
Всього/Середнє		7,9E-02 – 1,6E-01	599	930	1,55±0,10
Оз. Далеке	Весна		80	136	1,70
	Літо		228	346	1,52
	Осінь		136	249	1,83
Всього/Середнє		3,4E-02 – 7,1E-02	444	731	1,65±0,31
Оз. Азбучин	Весна		78	112	1,44
	Літо		178	267	1,50
	Осінь		128	194	1,52
Всього/Середнє		1,7E-02 – 7,2E-02	384	573	1,49±0,01
Янівський затон	Весна		104	133	1,28
	Літо		110	135	1,23
	Осінь		118	158	1,34
Всього/Середнє		1,6E-02 – 5,7E-02	332	426	1,28±0,01
ВО ЧАЕС	Весна		104	133	1,28
	Осінь		88	102	1,16
Всього/Середнє		1,3E-02 – 3,1E-02	192	235	1,22±0,01
Р. Прип'ять	Весна		71	88	1,24
	Літо		42	48	1,14
	Осінь		25	28	1,12
Всього/Середнє		2,4E-03 – 4,1E-03	138	164	1,19±0,03
Київське водоймище (біля с. Лютіж)	Літо	2,6E-04 – 3,9E-04	21	22	1,05

до появи великої кількості клітин із множинними хромосомними пошкодженнями. За винятком деяких випадків, практично в усіх апікальних кореневих клітинах у рослин із водойм лівобережної заплави р. Прип'ять кількість клітин з множинними абераціями збільшувалася з початку до кінця вегетаційного сезону по мірі зростання потужності поглинутої дози.

Процеси автореабілітації замкнутих водойм зони відчуження відбуваються вкрай повільно, унаслідок чого екосистеми більшості замкнутих чи слабопроточних водойм і дотепер характеризуються високим рівнем радіонуклідного забруднення. За умов водойм Зони відчуження в клітинах водяних рослин зареєстровано підвищені рівні хромосомних пошкоджень, які свідчать про значне ураження біологічних систем і можуть призвести до зміни видів в угрупованнях прибережно-водяних рослин та зміни екосистеми водойм загалом. Подальше вивчення цих ефектів є важливою складовою комплексу заходів, пов'язаних із прогнозуванням і мінімізацією наслідків аварії на ЧАЕС для біоти.

1. *Бочков Н. П.* Анализ типов аберрантных клеток – необходимый элемент биологической индикации облучения // Мед. радиология. 1993. Т. 38. 3. С. 32–35.
2. *Гераськин С. А., Зяблицкая Е. Л., Удалова А. А.* Закономерности индукции гамма-излучения структурных мутаций в корневой меристеме проростков семян гексаплоидной пшеницы // Радиационная биология. Радиоэкология. 1995. Т. 35. № 2. С. 137–149.
3. *Гилева Э. А.* Эколого-генетический мониторинг с помощью грызунов (уральский опыт). Екатеринбург: Изд-во Уральского ун-та, 1996. 108 с.
4. *Куцоконь Н. К.* Радіаційна індукція множинних хромосомних пошкоджень у рослин: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. К., 2004. 24 с.
5. *Ли Д. Е.* Действие радиации на живые клетки. М.: Госатомиздат, 1963. 250 с.
6. *Одум Ю.* Основы экологии. М.: Мир, 1975. 742 с.
7. *Полікарпов Г. Г., Цицугіна В. Г.* Порівняльна оцінка біологічного впливу радіоактивного і хімічного забруднення в водоймищах зони відчуження ЧАЕС і водосховищах Дніпровського каскаду // Бюл. екологічного стану зони відчуження та зони безумовного (обов'язкового) відселення. №14, жовтень, 1999. С. 22–25.
8. *Рокицкий П. Ф.* Биологическая статистика. Минск: Вышэйшая школа, 1973. 319 с.
9. *Шевцова Н. Л., Гудков Д. И., Стойка Ю. А.* и др. К методике определения хромосомных нарушений у высших водных растений на примере тростника обыкновенного и стрелолиста стрелолистного // Наук. Зап. Терноп. пед. ун-ту. Сер. біол. 2005. Т. 3. № 26. С. 479–481.
10. *Шевцова Н. Л.* Вплив радіаційного навантаження в замкнутих водоймах зони відчуження ЧАЕС на продуктивні показники очерету звичайного // Озера й штучні водойми України: сучасний стан і антропогенні зміни: Зб. матеріалів наук.-практ. конф. Луцьк: Волинь, 2008. С. 115–122.
11. *Gudkov D., Shevtsova N., Dzyubenko O.* et al. Dose rates and effects of chronic environmental radiation on hydrobionts within the Chernobyl exclusion zone // Radiation risk estimation in normal and emergency situations. Springer, 2006. P. 69–76.
12. *Brown J., Strand P., Hosseini A., Borretzen P.* (Eds) Handbook for assessment of the exposure of biota to ionising radiation from radionuclides in the environment: A project within the EC 5th Framework Programme, Contract # FIGE-CT-2000-00102, Framework for Assessment of Environmental Impact, 2003, 395 p.
13. *Nurgudin M. A., Shevtsova N. L., Gudkov D. I.* Effect of chronic low-dose radiation on the common reed within the Chernobyl Exclusion Zone // Bergen. Norway, Osteras: Norwegian Radiation Protection Authority. 2008. Part I. P. 266–269.

14. *Tsytsugina V. G., Polikarpov G. G.* The estimation of Chernobyl accident influence on the natural populations of the Black Sea basin hydrobionts by cytogenetic criteria // 20 Years after the Chernobyl accident. Nova Science Publishers, Inc. 2006. P. 287–302.

MONITORING OF THE CYTOGENETIC STATE OF THE HIGH AQUATIC PLANTS WITHIN CHERNOBYL ACCIDENT EXCLUSIVE ZONE

N. Shevtsova

*Institute of the Hydrobiology of NAS of Ukraine
12, Heroyiv Stalingrada Ave., Kyiv 03210, Ukraine
e-mail: shevtsovanl@rambler.ru*

The cytogenetic monitoring of the higher aquatic plants of the Chernobyl accident exclusive zone was carried out. Analyze was carried out by the anaphase express-method on apical cells of the root meristems tissues of the plants, which are the dominant or subdominant at literal coenosis of air-aquatic plants within the water-bodies Chernobyl Accident Exclusive Zone. The highest level of cytogenetic damages in apical cells of the plants from left-bank flood plain of the Pripyat River – the most radioactive contaminated water-bodies of Ukrainian part of Chernobyl accident exclusive zone – was registered. The distribution of the different aberration types in cells of plants from left-bank dammed flood plain of the Pripyat River points to practically equivalent effects of radiation and chemical factors.

Key words: chromosomal aberrations, higher aquatic plants, Chernobyl Accident Exclusive Zone.

МОНІТОРИНГ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ВЫСШИХ ВОДНЫХ РАСТЕНИЙ В ВОДОЕМАХ ЗОНЫ ОТЧУЖДЕНИЯ ЧАЭС

Н. Шевцова

*Институт гидробиологии НАН Украины
просп. Героев Сталинграда, 12, Киев 03210, Украина
e-mail: shevtsovanl@rambler.ru*

Проведен цитогенетический мониторинг высших водных растений Зоны отчуждения Чернобыльской АЭС. Анализ проводили с помощью анафазного экспресс-метода апикальных клеток меристемных тканей корней растений доминантов или субдоминантов литоральных сообществ воздушно-водных растений водоемов Зоны отчуждения. Самый высокий уровень цитогенетических нарушений зарегистрирован в клетках растений водоемов левобережной части поймы р. Припять – наиболее радиоактивно загрязненных водоемов украинской части Зоны отчуждения ЧАЭС. Распределение разных типов aberrаций в растениях водоемов левобережной части поймы свидетельствует о равноценной значимости как радиоактивного, так и химического факторов.

Ключевые слова: хромосомные aberrации, высшие водные растения, Зона отчуждения ЧАЭС.

Стаття надійшла до редколегії 10.12.09
Надійшла після доопрацювання 02.03.10
Прийнята до друку 11.03.10