

На правах рукописи



Минкенова Кырмызы Сериковна

**ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ В ПОПУЛЯЦИЯХ
KOELERIA GRACILIS PERS. И *STIPA CAPILLATA* L. С
ПЛОЩАДКИ СЕМИПАЛАТИНСКОГО ПОЛИГОНА, ГДЕ
ИСПЫТЫВАЛИ БОЕВЫЕ РАДИОАКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА**

Специальность: 1.5.1. «Радиобиология»

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Обнинск – 2023

Диссертация выполнена в Филиале «Институт радиационной безопасности и экологии» Республиканского государственного предприятия на праве хозяйственного ведения «Национальный ядерный центр Республики Казахстан» (Филиал ИРБЭ РГП НЯЦ РК).

Научный руководитель:

Гераськин Станислав Алексеевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией радиобиологии и экотоксикологии сельскохозяйственных растений Федерального государственного бюджетного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт» — ВНИИРАЭ).

Официальные оппоненты:

Пряхин Евгений Александрович, доктор биологических наук, профессор, ФГБУН «Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства» (г. Челябинск), заведующий экспериментальным отделом.

Антонова Елена Валерьевна, кандидат биологических наук, ФГБУН «Институт экологии растений и животных Уральского отделения Российской академии наук» (г. Екатеринбург), старший научный сотрудник лаборатории популяционной радиобиологии.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, г. Москва.

Защита диссертации состоится «17» января 2024 г. в 10:00 на заседании диссертационного совета 24.1.013.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» по адресу: 249035, Калужская обл., г. Обнинск, Киевское шоссе, д.1, к. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте НИЦ «Курчатовский институт» — ВНИИРАЭ: <http://ds.rirae.ru/>

Автореферат разослан «___» _____ 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



канд. биол. наук Бондаренко
Екатерина Валерьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Среди множества факторов, негативно влияющих на популяции, биоценозы и биоту в целом особое место занимает ионизирующее излучение. Интенсивное развитие атомной энергетики и радиационных технологий увеличивает риск загрязнения окружающей среды долгоживущими радионуклидами и выдвигает задачу анализа возможных последствий хронического воздействия ионизирующих излучений на природные популяции и сообщества. Поскольку первичные радиационные повреждения формируются на молекулярно-клеточном уровне, в значительной мере эта задача должна решаться в рамках радиационной генетики популяций. Для оценки действия ионизирующих излучений в радиобиологических исследованиях широко используют частоту aberrаций хромосом в митотических клетках соматических тканей. Использование этого теста позволяет на объективной основе оценить качество окружающей среды (Geras'kin et al., 2019).

Населяющие в настоящее время территорию Семипалатинского испытательного полигона (СИП) организмы являются потомками растений и животных, испытавших острое радиационное воздействие в период проведения ядерных испытаний и в течение многих поколений подвергавшихся хроническому облучению. Очевидна ценность получаемых в таких условиях данных как для научного обоснования оценок риска радиационного воздействия для человека и живой природы, так и для понимания сложных процессов, происходящих в биосфере в условиях увеличивающегося техногенного воздействия.

На площадках «4» и «4А» в 1953–1957 гг. выполняли испытания боевых радиоактивных веществ (БРВ). БРВ представляют собой жидкие или порошкообразные смеси радионуклидов из отходов радиохимического производства, либо полученные путем облучения специально подобранных веществ нейтронами на атомном реакторе (Назарбаев, 2016). После испытаний БРВ прошло более 60 лет, однако площадки "4" и "4А" до настоящего времени характеризуются высоким уровнем радиоактивного загрязнения. Растения, в отличие от человека и животных, ведут прикрепленной образ жизни и не способны переместиться в более благоприятную среду, поэтому вынуждены были в ходе эволюции выработать эффективные системы защиты от внешнего воздействия. Травянистое растение включено в список референтных видов в современной концепции радиационной защиты биоты (ICRP, 2008). В связи с этим получение новой информации о последствиях облучения растений представляет значительный интерес. Полученных в полевых условиях данных о биологических эффектах хронического облучения крайне мало. Но именно такие данные являются основой для оценки риска хронического облучения растений и создают основу для совершенствования методов и средств радиационной защиты биоты.

Степень разработанности темы. Широкомасштабные исследования по оценке последствий хронического облучения растений проведены на территориях, загрязненных радионуклидами в результате крупных радиационных аварий и в областях с повышенным естественным радиационным фоном. Важное место в этих исследованиях занимали основанные на учете частоты изменений структурных нарушений хромосом в клетках меристем цитогенетические методы. Многолетний опыт использования цитогенетических тестов в целях оценки экологической ситуации в местах произрастания растений свидетельствует об их высокой чувствительности, информативности и надежности.

Исследования влияния ядерных испытаний на окружающую среду СИП проводились и ранее. Однако исследования биологических эффектов хронического

облучения в полевых условиях СИП немногочисленны, в большинстве публикаций отсутствует информация об уровнях радиоактивного и химического загрязнения и величинах поглощенных доз, что не позволяет связать описанные в этих работах биологические эффекты с радиационным воздействием. Большая часть выполненных на СИП исследований посвящена оценке плотности радиоактивного загрязнения природных сред, изучению механизмов миграции радионуклидов, а также оценке доз и медицинских последствий для населения прилегающих к полигону населенных пунктов.

Настоящее исследование, в котором действие ионизирующих излучений на популяции растений исследовалось в естественной среде их обитания, отличается от многочисленных работ других авторов, изучавших радиобиологические эффекты на лабораторных объектах.

Оценки цитогенетических последствий облучения у растений СИП на данный момент представлены работами (Сейсебаев и др. (2004), Кадырова, Жапбасов (2019), Гераськин и др. (2009)), но выбранные площадки ("Дегелен", "Балапан", "Опытное поле") значительно уступали по уровню радиоактивного загрязнения площадке "4А", где проходили испытания боевых радиоактивных веществ. В связи с этим необходимо проведение комплексных исследований с использованием современных методов (полевая радиометрия, цитогенетические методы, гамма-, бета- и масс-спектрометрия), нормативных документов и аппаратуры аккредитованных лабораторий Филиала ИРБЭ РГП НЯЦ РК, достаточного объема материала (163 экспериментальные точки, диапазон мощности доз $0,1-4,5 \times 10^3$ мкГр/час) оценки генетических последствий хронического воздействия ионизирующих излучений на природные популяции растений.

Цель исследования – анализ цитогенетических эффектов в популяциях тонконога тонкого (*Koeleria gracilis* Pers.) и ковыля волосовидного (*Stipa capillata* L.) с площадки Семипалатинского испытательного полигона, где испытывали боевые радиоактивные вещества.

Задачи исследования:

1. Выполнить радиоэкологическую оценку участков, включающую определение радиометрических параметров (мощности эквивалентной дозы γ -излучения и плотности потока β -частиц) в местах отбора проб, удельных активностей радионуклидов и концентраций химических элементов в растениях.

2. Оценить частоту и спектр цитогенетических нарушений в популяциях тонконога тонкого (*Koeleria gracilis* Pers.) и ковыля волосовидного (*Stipa capillata* L.) с экспериментальных участков.

3. Оценить зависимость частоты цитогенетических нарушений в популяциях тонконога тонкого (*Koeleria gracilis* Pers.) и ковыля волосовидного (*Stipa capillata* L.) от поглощенной растениями дозы.

Научная новизна работы. Впервые проведено цитогенетическое исследование природных популяций дикорастущих растений, произрастающих на площадке "4А" СИП, где проводили испытания БРВ. Оценены поглощенные растениями дозы, установлена форма зависимости частоты цитогенетических эффектов от логарифма мощности дозы. Определены спектр и частота цитогенетических нарушений в апикальной меристеме корешков проростков. Установлена связь цитогенетических нарушений в меристеме тонконога тонкого и ковыля волосовидного с поглощенной критическими органами растений дозой и доказана радиационная природа наблюдаемых эффектов.

Теоретическая и практическая значимость работы. Впервые, на основе полученного в полевых условиях большого экспериментального материала (163 экспериментальные точки, диапазон мощностей доз $0,1-4,5 \times 10^3$ мкГр/ч), установлено, что зависимость частоты цитогенетических нарушений от логарифма мощности дозы носит нелинейный и пороговый характер.

Исследованные виды злаковых растений могут быть использованы в качестве видов-индикаторов при проведении радиоэкологического мониторинга окружающей среды.

Методология и методы исследования. В качестве объекта исследования были выбраны типичные для Семипалатинского испытательного полигона многолетние дикорастущие злаки тонконог тонкий и ковыль волосовидный.

Исследования проведены на площадке "4А", где ранее проводили испытания боевых радиоактивных веществ. На основании данных о распределении плотности потока β -частиц и мощности эквивалентной дозы (МЭД) по β - и γ -излучению на поверхности почвы на площадке "4А" было выбрано три участка (№ 13, № 18 и № 20), в пределах которых отобраны пробы растений в 163 экспериментальных точках.

Для измерения удельных активностей радионуклидов и концентраций химических элементов в образцах растений применяли общепринятые аттестованные гамма-, бета- и масс-спектрометрические методы.

Для исследования структурных нарушений хромосом выбраны клетки корневой меристемы проростков. Препараты для изучения хромосом готовили с помощью стандартной методики. Семена проращивали в термостате MIR-253 (Sanyo, Япония) при температуре $+24$ °С в течение 7 ± 2 сут. Цитогенетический анализ препаратов выполнен с использованием микроскопа Axio Imager M2 при увеличении объектива $\times 100$ (масляная иммерсия), $\times 60$, $\times 40$ и $\times 10$. На препаратах определяли общее число ана-телофазных клеток, частоту и спектр хромосомных перестроек.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Впервые на площадке «4А» СИП, где проходили испытания боевых радиоактивных веществ, выполнено комплексное исследование цитогенетических эффектов в популяциях типичных видов дикорастущих злаковых растений (тонконог тонкий и ковыль волосовидный), включающее оценку радиоэкологической обстановки, оценку поглощенных растениями доз и установление связи цитогенетических эффектов с поглощенной дозой.

2. Мощности поглощенных исследованными видами растений доз на площадке «4А» менялись в широких пределах ($0,1-4,5 \times 10^3$ мкГр/ч). Основную часть дозы растения получали от внутреннего облучения радионуклидом ^{90}Sr . Вклад внешнего облучения и внутреннего облучения от других радионуклидов в поглощенные растениями дозы незначителен.

3. На основе большого фактического материала (163 экспериментальные точки и широкого диапазона изменения мощности дозы ($0,1-4,5 \times 10^3$ мкГр/ч)) исследована форма зависимости частоты цитогенетических нарушений от логарифма мощности дозы в популяциях растений с площадки «4А», где проходили испытания боевых радиоактивных веществ. Основной вклад в формирование цитогенетических эффектов вносят двойные мосты и фрагменты.

4. Впервые установлена пороговая величина поглощенной дозы для тонконога тонкого и ковыля волосовидного, ниже которой частота цитогенетических эффектов в природных популяциях растений не превышает спонтанный уровень, а выше

возрастает с увеличением поглощенной дозы. Значения пороговых доз отличаются у разных видов растений и цитогенетических нарушений.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. В диссертационном исследовании представлена оценка цитогенетических эффектов в популяциях злаковых растений, произрастающих на загрязненной радионуклидами площадке «4А» СИП, определено содержание химических элементов и радионуклидов, проведена оценка дозовых нагрузок, что соответствует паспорту научной специальности 1.5.1. «Радиобиология», охватывающему такие области исследований, как «Фундаментальные и прикладные проблемы дозиметрии радиобиологических эффектов. Количественная оценка биологического действия излучения. Биологическая дозиметрия. Особенности биологического действия малых доз облучения» (п. 7), «Радиобиология растений. Влияние ионизирующих излучений на растения. Применение ионизирующих излучений в селекции растений» (п. 12), «Радиационная экология: изучение закономерностей поведения радиоактивных веществ в окружающей среде и действия ионизирующего излучения на растения и животных, разработка защитных мероприятий. Последствия ядерных аварий и катастроф, чрезвычайных ситуаций. Принципы и методы радиационного мониторинга. Миграция радионуклидов. Действие ионизирующего излучения на организмы, популяции и экосистемы. Радиоэкологические и радиобиологические последствия радиоактивного загрязнения, в том числе в результате радиационных аварий» (п. 13).

Степень достоверность результатов. Достоверность полученных результатов основывается на достаточном объеме экспериментального материала, применении современной измерительной базы аккредитованных лабораторий, использовании стандартных и специально разработанных методических приемов. Всего было изучено 138905 клеток на 3942 постоянных препаратах. Применяли параметрические методы статистики. Для оценки формы зависимости цитогенетических эффектов от мощности дозы использовали кусочно-линейную модель. Принята гипотеза H_0 о предполагаемой точке перегиба (T_p), разделяющей зависимость на два линейных участка, скорость изменения частоты цитогенетических нарушений в пределах которых существенно различается. Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета компьютерных программ Microsoft Office Excel 2007 и Statistica 6.0.

Личный вклад диссертанта в работу. Соискателем сформулированы цель и задачи исследования, проведен в полевых условиях сбор образцов растений из природных популяций, в лабораторных условиях приготовлены и проанализированы все цитогенетические препараты, выполнена статистическая обработка результатов. Проведено обобщение и анализ полученных данных. Подготовлены научные публикации.

Апробация результатов. Основные положения работы и результаты исследований докладывались и обсуждались на следующих международных и региональных конференциях, конкурсах: XII конференции-конкурсе НИОКР молодых ученых и специалистов НЯЦ РК (Курчатов, 2013); Международной конференции «Современные проблемы радиологии и агроэкологии, пути реабилитации техногенно-загрязненных угодий» (Обнинск, 2016); «4th International Conference on Radioecology & Environmental Radioactivity» (Берлин, 2017); II Международной конференции «Техногенные системы и экологический риск» (Обнинск, 2018); VII и VIII международных научно-практических конференциях «Семипалатинский испытательный полигон: наследие и перспективы развития научно-технического потенциала» (Курчатов, 2016, 2018); Международной научно-практической

конференции «Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности: состояние и перспективы» (Обнинск, 2018); Международном симпозиуме «Экология и эволюция: новые горизонты», посвященном 100-летию академика С.С. Шварца (Екатеринбург, 2019); Международной молодежной конференции «Современные проблемы радиобиологии, радиоэкологии и агроэкологии» (Обнинск, 2019); IX международной конференции «Семипалатинский испытательный полигон: наследие и перспективы развития научно-технического потенциала» (Курчатов, 2021); IX Республиканской научно-практической конференции с международным участием «Медико-биологические и экологические проблемы в уранодобывающих регионах» (Нур-Султан, 2022).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 17 работ, из них 5 статей в рецензируемых научных изданиях из перечня ВАК и/или индексируемые в международных базах данных Web of Science, Scopus.

Структура и объем диссертационной работы. Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений и списка использованных источников, который состоит из 178 наименований. Работа изложена на 136 страницах текста, включает 11 рисунков, 13 таблиц, а также 4 приложения.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обосновывается актуальность темы исследования, сформулированы цель и задачи работы, обсуждается научная новизна, теоретическая и практическая значимость полученных результатов.

Глава 1. Обзор литературы

На основе изучения отечественной и зарубежной литературы проведен анализ имеющихся материалов по теме исследования, в том числе описаны ранее полученные данные по отдаленным последствиям хронического радиационного воздействия на биоту на разных уровнях биологической организации — от клеточного до экосистемного.

Глава 2. Материалы и методы исследований

Тонконог тонкий и ковыль волосовидный — типичные представители растительности Казахстана, широко распространены на территории СИП, что позволяет исследовать их ответные реакции в широком диапазоне уровней радиоактивного загрязнения.

Экспериментальные участки № 13, № 18 и № 20 были выбраны как наиболее загрязненные участки площадки "4А" (рис. 1). Участки для исследований выбирали на основе данных о распределении плотности потока β -частиц и мощности эквивалентной дозы по β - и γ -излучению на поверхности почвы, которые измеряли дозиметром-радиометром МКС-АТ6130 (ОАО МНИПИ, Беларусь). В пределах трех участков отобраны пробы растений в 163 экспериментальных точках. Оценка цитогенетических эффектов в популяциях тонконога тонкого выполнена на 100 экспериментальных точках, а ковыля волосовидного на 63 экспериментальных точках площадки «4А»

В каждой точке отбирали надземную часть растений для определения содержания тяжелых металлов и радионуклидов, а также семена для цитогенетического анализа.

Определение содержания радионуклидов в растениях. Пробы растений взвешивали, промывали и ополаскивали дистиллированной водой, сушили при температуре 100 °С, затем перемалывали до состояния травяной муки. Температура озоления проб растительного происхождения для определения ^{137}Cs составляла 400 °С, ^{90}Sr — 550 °С, ^{241}Am — 650 °С. После получения золы чашки с золой охлаждали в

эксикаторе. Готовую золу просеивали через сито для удаления незольного остатка. Остывший зольный остаток взвешивали и определяли коэффициент озолнения.

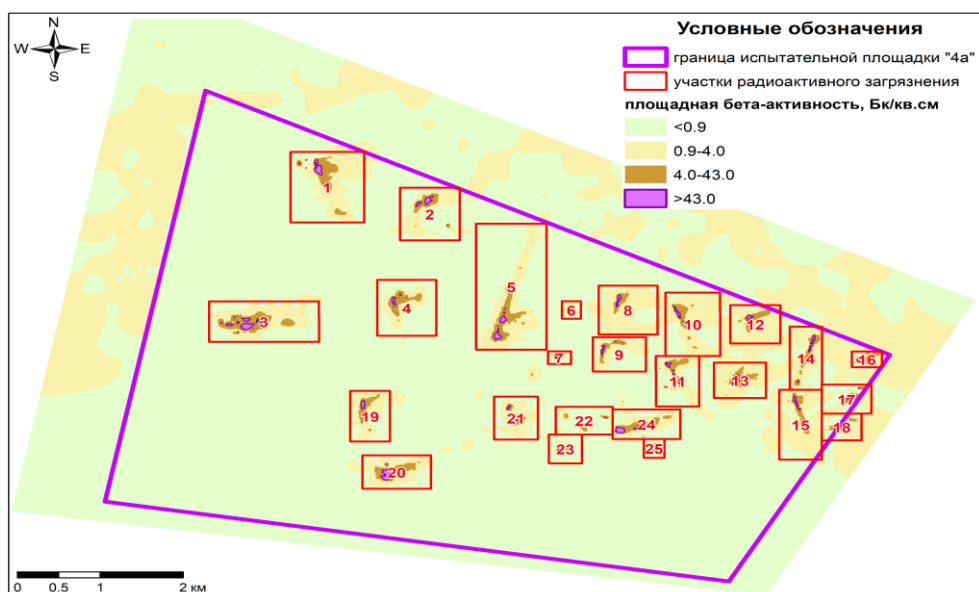


Рисунок 1 – Карта-схема площадки «4А» СИП (цифрами обозначены номера участков)

В растениях определяли содержание следующих радионуклидов: ^{137}Cs , ^{241}Am , ^{90}Sr , ^{40}K , ^{232}Th , ^{60}Co , ^{152}Eu , ^{154}Eu , ^{155}Eu , ^{235}U , ^{238}U и ^{214}Pb . Гамма-спектрометрическое измерение (^{137}Cs , ^{241}Am , ^{40}K , ^{232}Th , ^{60}Co , ^{152}Eu , ^{154}Eu , ^{155}Eu , ^{235}U , ^{238}U и ^{214}Pb) проб растений проводили в сухом и измельченном виде. Определение удельной активности гамма-излучающих радионуклидов проводили на γ -спектрометре Canberra (США) с германиевым детектором (BE 2020), предел обнаружения 0,7-20 Бк/кг.

Погрешность измерений для гамма-излучающих радионуклидов не превышала 10-20%. Определение ^{90}Sr в пробах растений проводили на β -спектрометре "Прогресс" (Доза, Россия). Предел обнаружения составил 100 Бк/кг. Погрешность измерений в основном не превышала 15-25%.

Определение содержания тяжелых металлов в растениях

В растениях определяли содержание V, Cr, Mn, Co, Cu, Zn, As, Sr (стабильный), Cd, Cs (стабильный), Pb, U (стабильный). Подготовку проб растений проводили методом автоклавного разложения по стандартной методике. Определение концентраций элементов проводили методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой на приборе "Elan 9000" (Perkin Elmer SCIEX, США).

Расчет поглощенной дозы. Поглощенные растениями дозы рассчитывали как сумму доз от α -, β - и γ -излучений ^{137}Cs , ^{241}Am , ^{90}Sr , ^{60}Co , ^{152}Eu , ^{154}Eu , ^{155}Eu – радионуклидов, содержащихся в поверхностном слое почвы и в наземной части растений. Согласно основным допущениям и положениям дозиметрической модели (публикация МКРЗ 136), оба типа излучения распространяются в однородной воздушно-растительной среде.

Поглощенную дозу внешнего облучения растений определяли по β - и γ -излучениям радионуклидов, находящихся в поверхностном слое почвы. Поглощенную дозу от γ -излучения за вегетационный сезон рассчитывали по формуле:

$$D_{\gamma} = \frac{\text{МЭД} \cdot t}{1,09} \quad (1)$$

где: МЭД – мощность эквивалентной дозы, измеренной на поверхности почвы, мкЗв/ч; t – время от прорастания семян до их созревания, час; 1,09 – пересчетный коэффициент

для перехода от МЭД к мощности поглощенной дозы. Время от прорастания семян (начало апреля) до их созревания (конец июля) составляет порядка 120 суток. Соответственно, поглощенную дозу рассчитывали исходя из промежутка времени $t = 2880$ час ($t=120 \times 24=2880$).

Величину поглощенной дозы от внешнего β -излучения радионуклидов, содержащихся на поверхности почвы, рассчитывали описанным в (Cross, 1997). Активность бесконечного слоя почвы толщиной 1 см оценивали по измеренной плотности потока β -частиц. Плотность воздушно-растительной среды ($1,5 \times 10^{-3}$ г/см³) рассчитывали исходя из биомассы растений и их высоты.

Величину поглощенной дозы от внутреннего облучения растений для i -го радионуклида рассчитывали согласно основной дозиметрической модели:

$$D_i = K_{ДП}_{внутр,i}^{раст} \cdot C_{раст,i} \quad (2)$$

где $K_{ДП}_{внутр,i}^{раст}$ – дозовый коэффициент облучения от i -го радионуклида, находящегося в растениях (мкГр/сут)/(Бк/кг); $C_{раст,i}$ – активность i -го радионуклида в растениях, Бк/кг.

Анализ цитогенетических эффектов. Цитогенетический анализ частоты хромосомных нарушений в апикальной меристеме корешков проростков изучаемых видов растений проведен по общепринятой методике с использованием микроскопа AxioImager M2 (Zeiss, Германия) при увеличении объектива $\times 100$ (масляная иммерсия) $\times 40 \times 10$.

Процент аберрантных клеток или частоту хромосомных aberrаций (Ч в %) определяли по формуле:

$$Ч(\%) = \frac{A \times 100}{N} \quad (3)$$

где A – число клеток с нарушениями, N – общее число просмотренных клеток.

Спектр aberrаций (К в %) определяли по формуле:

$$К(\%) = \frac{D \times 100}{N} \quad (4)$$

где D – число aberrаций определенного типа, N – общее число просмотренных клеток.

Долю aberrаций каждого типа (В в %) от общего числа всех aberrаций устанавливали по формуле:

$$В(\%) = \frac{D \times 100}{C} \quad (5)$$

где D – число aberrаций определенного типа, C – общее число aberrаций.

Методы анализа экспериментальных данных. Для оценки формы зависимости цитогенетических эффектов от логарифма мощности дозы использовали кусочно-линейную модель. Принята гипотеза H_0 о предполагаемой точке перегиба (Tr), разделяющей зависимость на два линейных участка, скорость изменения частоты цитогенетических нарушений в пределах которых существенно различается. Статистическую оценку данных, расположенных по разные стороны от точки перегиба (Tr), проводили с использованием двух моделей линейной регрессии (для $X < Tr$ и для $X > Tr$):

$$Y = a + b \cdot X \quad (6)$$

где Y – частота цитогенетических нарушений, %; X – десятичный логарифм мощности поглощенной дозы в растениях, мкГр/вегетационный сезон. a , b – параметры регрессионной модели. Порог существует, если коэффициенты модели (a , b) значимо изменяются в точке перегиба.

Оценка расположения точек перегиба основана на определении максимальной разницы в коэффициентах корреляции между группами парных данных, расположенных на противоположной стороне предполагаемой точки перегиба. Таким образом, расположение Tr определяется максимальным значением $C(\log(D))$, рассчитанным по формуле:

$$C(\log(D)) = |r_1| \cdot |r_1 - r_r| \cdot \sqrt{n_1 \cdot n_r} \quad (7)$$

где r_1 - коэффициент корреляции между частотой цитогенетических нарушений и мощностью поглощенной дозы слева от точки перегиба; r_r - коэффициент корреляции между исследуемыми значениями справа от точки перегиба; n_1 и n_r - это соответственно число наблюдений слева и справа от точки перегиба.

Глава 3. Результаты исследования

3.1. Удельная активность радионуклидов в растениях

Основной вклад в загрязнение растений вносит ^{90}Sr , удельная активность которого в растениях наименее загрязненных участков ниже предела обнаружения β -спектрометра, в то время как на загрязненных участках, где растет тонконог тонкий удельная активность достигает значений $4,5 \times 10^2 - 6,3 \times 10^7$ Бк/кг, а на участках, где растет ковыль волосовидный $7,9 \times 10^2 - 2,6 \times 10^7$ Бк/кг и формирует более 95% β -спектра. (табл. 1):

Таблица 1 – Удельная активность радионуклидов в растениях

Тонконог (<i>Koeleria gracilis</i> Pers.), n-100		Ковыль (<i>Stipa capillata</i> L.), n-63	
Радионуклиды	min-max	Радионуклиды	min-max
^{90}Sr	$1,0 \times 10^2 - 6,3 \times 10^7$ Бк/кг	^{90}Sr	$1,0 \times 10^2 - 2,6 \times 10^7$ Бк/кг
^{137}Cs	$0,7 - 4,4 \times 10^2$ Бк/кг	^{137}Cs	$0,9 - 4,0 \times 10^2$ Бк/кг
^{241}Am	$0,2 - 4,4 \times 10^2$ Бк/кг	^{241}Am	$0,3 - 1,5 \times 10^2$ Бк/кг
^{60}Co	0,4-90 Бк/кг	^{60}Co	$0,3 - 3,0 \times 10^2$ Бк/кг
^{152}Eu	$0,5 - 1,7 \times 10^2$ Бк/кг	^{152}Eu	$0,8 - 4,0 \times 10^2$ Бк/кг
^{154}Eu	$2,1 - 8,1 \times 10^2$ Бк/кг	^{154}Eu	$1,9 - 8,1 \times 10^2$ Бк/кг
^{155}Eu	$0,7 - 9,9 \times 10^2$ Бк/кг	^{155}Eu	$0,5 - 4,8 \times 10^2$ Бк/кг
^{40}K	$14 - 3,3 \times 10^3$ Бк/кг	^{40}K	$24 - 2,3 \times 10^3$ Бк/кг
^{214}Pb	$1,4 - 2,7 \times 10^2$ Бк/кг	^{214}Pb	$1,4 - 6,3 \times 10^2$ Бк/кг
^{226}Ra	$1,8 - 5,3 \times 10^2$ Бк/кг	^{226}Ra	$1,7 - 6,2 \times 10^2$ Бк/кг
^{232}Th	$3,0 - 2,5 \times 10^3$ Бк/кг	^{232}Th	$3,0 - 1,5 \times 10^3$ Бк/кг
^{235}U	$1,1 - 3,6 \times 10^2$ Бк/кг	^{235}U	$1,1 - 2,4 \times 10^2$ Бк/кг
^{238}U	$3,0 - 2,5 \times 10^3$ Бк/кг	^{238}U	$2,7 - 1,9 \times 10^3$ Бк/кг

3.2. Содержание тяжелых металлов в растениях

Анализ представленной в таблицах 2 и 3 информации свидетельствует о том, что во всех случаях концентрации исследуемых элементов в пробах растений с экспериментальных участков существенно ниже средней концентрации элементов в золе растительности суши (Добровольский, 2003). Таким образом, содержание тяжелых металлов не должно оказывать токсическое воздействие на исследуемые растения.

3.3. Дозовые нагрузки на растения

Согласно расчетам, поглощенные растениями мощности дозы изменялись в широком диапазоне $4,3 \times 10^{-4} - 13$ Гр за вегетационный сезон ($0,1 - 4,5 \times 10^3$ мкГр/ч) у тонконога тонкого и у ковыля волосовидного $3,6 \times 10^{-4} - 11$ Гр за вегетационный сезон ($0,1 - 3,8 \times 10^3$ мкГр/ч) охватывающий почти пять порядков величины. Основную часть

дозы растения получали от внутреннего облучения ^{90}Sr . Вклад внешнего облучения и других радионуклидов в поглощенные растениями дозы был незначителен.

Таблица 2 – Содержание тяжелых металлов в тонконоге тонком

Элемент	Содержание элементов, мг/кг (зола)			
	m*	g*	Me(Q1/2– Q3/4)	Средняя концентрация элементов в золе растительности суши (Добровольский В.С., 2003)
V, n=34	2,2	1,7	1,2 (1-2)	30
Cr, n=34	4,2	2,7	3,2 (1-6,3)	35
Mn, n=34	89,0	78,2	84,5 (60-109)	4100
Co, n=34	0,52	0,34	0,3 (0,2-0,4)	10
Cu, n=34	3,3	3,2	3,2 (2,4-4)	160
Zn, n=34	14,5	13,3	13,5 (10-17)	600
As, n=34	0,32	0,25	0,2 (0,2-0,4)	3
Sr, n=34	45,0	42,6	43 (34-54)	700
Cd, n=34	0,13	0,12	0,1 (0,1-0,2)	0,7
Cs, n=34	0,064	0,053	0,04 (0,03-0,1)	3
Pb, n=34	3,0	2,7	2,4 (2-3)	25
U, n=34	0,11	0,09	0,1 (0,1-0,1)	0,4
Ni, n=34	2,2	1,8	2,0 (1,0-3,0)	40

Таблица 3 – Содержание тяжелых металлов в ковыле волосовидном

Элемент	Содержание элементов, мг/кг (зола)			
	m*	g*	Me(Q1/2– Q3/4)	Средняя концентрация элементов в золе растительности суши (Добровольский В.С., 2003)
V, n=30	5,6	5,3	5,2 (4-7)	30
Cr, n=30	12,9	12,0	12,5 (10-17)	35
Mn, n=30	473	462	460 (430-520)	4100
Co, n=30	1,2	1,2	1 (1-1,3)	10
Cu, n=30	19,4	19,0	20 (17-22)	160
Zn, n=30	71	70	71 (65-77)	600
As, n=30	1,1	1,1	1,1 (1-1,3)	3
Sr, n=30	710	693	705 (580-840)	700
Cd, n=30	0,42	0,36	0,3 (0,3-0,4)	0,7
Cs, n=30	0,23	0,22	0,2 (0,2-0,3)	3
Pb, n=30	15,0	14,0	15,5 (12-19)	25
U, n=30	0,23	0,21	0,2 (0,2-0,3)	0,4

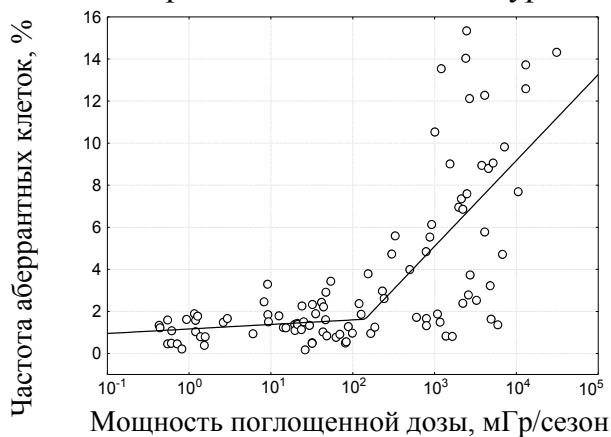
3.4. Цитогенетические эффекты в популяциях растений

3.4.1. Цитогенетические эффекты в популяциях тонконога тонкого

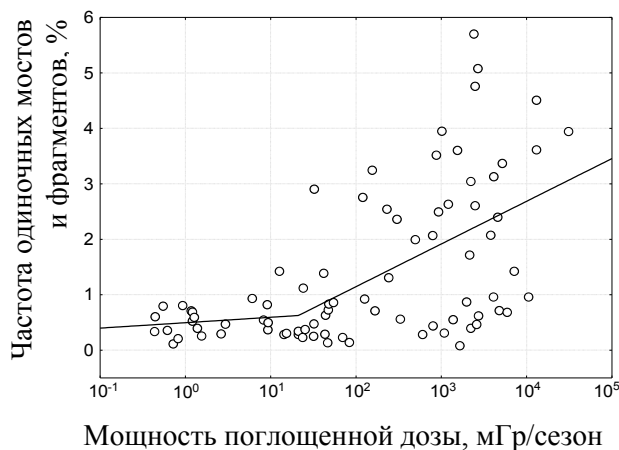
Частота аберрантных клеток. Частота аберрантных клеток в менее загрязненных точках (диапазон поглощенных доз $4,3 \times 10^{-4}$ – $9,3 \times 10^{-4}$ Гр/сезон) находилась в диапазоне 0,21-1,6%, что близко к типичной частоте аберрантных клеток для многих диких и культурных злаков (0,5-1,0%). Анализ представленных на рис. 2 данных позволяет предположить существование двух участков, в пределах которых скорость изменения частоты цитогенетических нарушений принципиально отличается. Из представленных данных следует, что частота аберрантных клеток возрастает с 0,5-2% при $\log(D)=10^{-1}$ - 10^0 (что соответствует мощности поглощенной дозы 0,4-1,0

мГр/сезон) до 16% при $\log(D)=10^4-10^5$ (13 Гр/сезон). При этом зависимость частоты цитогенетических нарушений от мощности дозы имеет нелинейный характер. В диапазоне $\log(D)$ от 10^{-1} до 10^2 увеличение дозы практически не влияет на частоту нарушений. При значениях $\log(D) > 10^2$ частота практически всех видов цитогенетических нарушений возрастает пропорционально мощности дозы (для одиночных фрагментов и мостов возрастание начинается при $\log(D) > 10^1$). Как правило, при значениях $\log(D) \sim 10^4$ частота всех видов цитогенетических нарушений достигает максимальных значений.

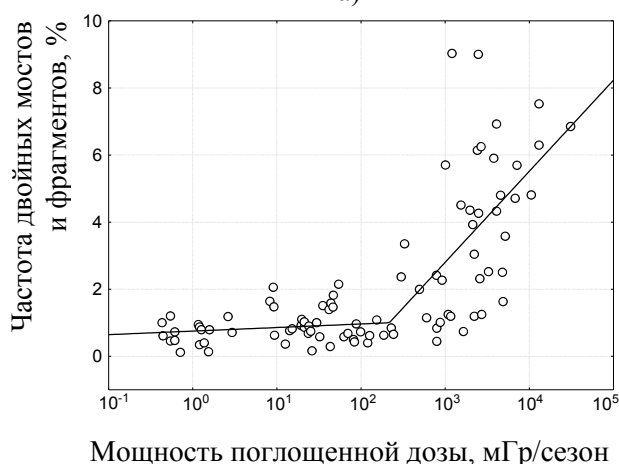
В диапазоне 0,43-141 мГр частота aberrантных клеток статистически значимо не отличается от контрольного уровня. Точка перегиба для частоты aberrантных клеток составляет 141 мГр/сезон (49 мкГр/ч) (табл. 4). Из результатов регрессионного анализа данных, расположенных слева от точки перегиба, следует, что частота aberrантных клеток статистически значимо не изменяется в этом диапазоне мощностей доз (табл. 5). Качественно иная ситуация характерна для данных, расположенных справа от точки перегиба (табл. 6). Таким образом, нами, впервые с использованием полученных в полевых условиях данных, установлена пороговая величина мощности дозы, ниже которой частота цитогенетических эффектов в природных популяциях тонконога тонкого не превышает спонтанный уровень.



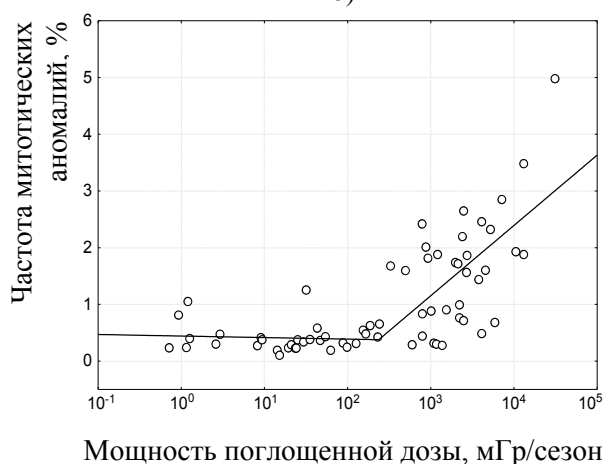
а)



б)



в)



г)

Рисунок 2 – Зависимость частоты цитогенетических нарушений в популяциях тонконога тонкого от логарифма мощности поглощенной дозы: а) частота aberrантных клеток; б) одиночные фрагменты и мосты; в) двойные фрагменты и мосты; г) митотические аномалии

Таблица 4 – Оценка положения точки перегиба (Тп) в популяциях тонконога тонкого, для разных типов цитогенетических нарушений

Точка разрыва для показателя	Мощность поглощенной дозы, мГр/сезон.	Доверительный интервал для Тп	
		Нижний	Верхний
Частота аберрантных клеток	141,3	37,2	524,8
Частота одиночных фрагментов и мостов	20,9	0,4	1047,1
Частота двойных фрагментов и мостов	213,8	72,4	631,0
Частота трехполосных митозов, забеганий и отставаний хромосом	234,4	72,4	776,2

Таблица 5 – Результаты регрессионного анализа зависимости доза-эффект в популяциях тонконога тонкого для группы данных, расположенных слева от точки перегиба

Параметр	Оценка параметра и его стандартная ошибка	t-критерий Стьюдента	Уровень значимости, p	Доверительный интервал параметра	
				Нижний	Верхний
Частота аберрантных клеток					
a	0,518±0,523	0,99	0,323	-0,531	1,57
b	0,216±0,129	1,68	0,099	-0,043	0,474
Частота одиночных мостов и фрагментов					
a	0,143±0,399	0,357	0,724	-0,688	0,974
b	0,117±0,118	0,997	0,330	-0,127	0,362
Частота двойных мостов и фрагментов					
a	0,432±0,344	1,25	0,216	-0,261	1,13
b	0,106±0,084	1,27	0,208	-0,061	0,274
Частота трехполосных митозов, забеганий и отставаний хромосом					
a	0,523±0,269	1,94	0,062	-0,028	1,07
b	-0,027±0,063	-0,43	0,666	-0,154	0,100

Таблица 6 – Результаты регрессионного анализа зависимости доза-эффект в популяциях тонконога тонкого для группы данных, расположенных справа от точки перегиба

Параметр	Оценка параметра и его стандартная ошибка	t-критерий Стьюдента	Уровень значимости, p	Доверительный интервал параметра	
				Нижний	Верхний
Частота аберрантных клеток					
a	-19,4±6,61	-2,93	0,005	-32,7	-6,07
b	4,08±1,05	3,87	<0,001	1,95	6,20
Частота одиночных мостов и фрагментов					
a	-2,71±1,16	-2,33	0,023	-5,03	-0,389
b	0,771±0,198	3,88	<0,001	0,373	1,17
Частота двойных мостов и фрагментов					
a	-13,5±4,16	-3,24	0,002	-21,9	-5,07
b	2,71±0,657	4,13	<0,001	1,38	4,04
Частота трехполосных митозов, забеганий и отставаний хромосом					
a	-6,28±1,95	-3,22	0,003	-10,3	-2,31
b	1,24±0,308	4,02	<0,001	0,613	1,86

Спектр цитогенетических нарушений. В ходе цитогенетического анализа были обнаружены следующие типы нарушений: абберрации хромосом (одиночные и двойные

мосты, одиночные и двойные фрагменты), митотические нарушения (забегания, отставания хромосом, трехполюсные митозы) (рис. 3). В некоторых клетках было обнаружено присутствие сразу нескольких типов нарушений.

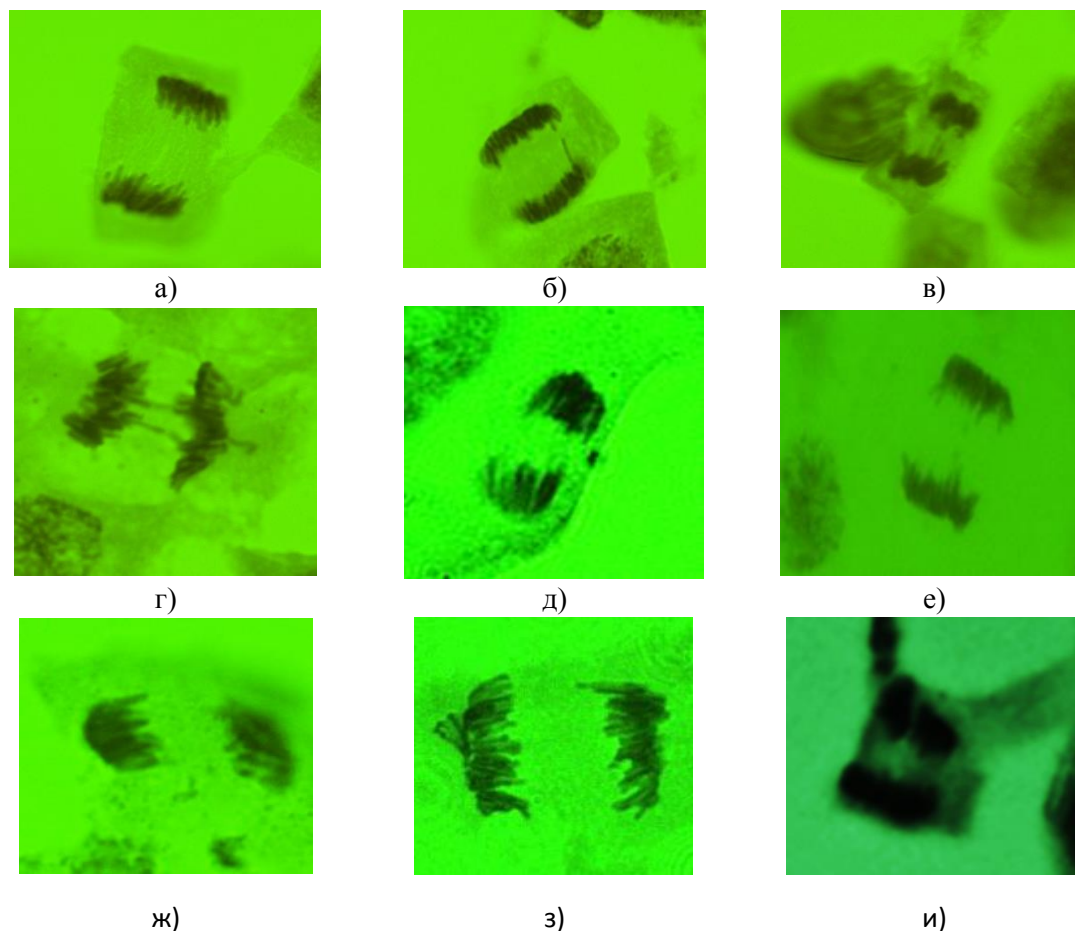


Рисунок 3 – Цитогенетические аномалии в ана-телофазных клетках тонконога с площадки "4А": а) нормальная ана-телофаза; б) одиночный мост; в) двойной мост; г) двойной мост и забегание хромосом; д) одиночный фрагмент; е) двойной фрагмент; ж) отставания хромосом; з) забегания хромосом; и) трехполюсный митоз.

Основной вклад в спектр структурных мутаций в популяциях тонконога вносят двойные мосты и фрагменты (52%). Вклад одиночных мостов и фрагментов (29%), а также митотических аномалий (19%) гораздо меньше.

Частота одиночных фрагментов и мостов начинает расти с мощности дозы 21 мГр/сезон (7 мкГр/ч) (рис. 2, б). Большая мощность дозы необходима для увеличения частоты митотических аномалий (234 мГр/сезон (81 мкГр/ч)) (рис. 2, г). Важно, что частота двойных мостов и фрагментов существенно превышает частоту других видов нарушений. Поскольку являющиеся маркерами радиационного воздействия двойные мосты и фрагменты (Streffler et al., 2004) вносят основной вклад в наблюдаемую частоту цитогенетических нарушений, можно сделать вывод о том, что наблюдаемые в популяциях тонконога тонкого цитогенетические эффекты являются результатом радиационного воздействия. Наиболее сильная связь с логарифмом мощности дозы обнаружена для двойных мостов и фрагментов (рис. 2, в), дозовая зависимость для которых фактически повторяет зависимость для частоты аберрантных клеток.

3.4.2. Цитогенетические эффекты в популяциях ковыля волосовидного

Частота аберрантных клеток. Как и в случае тонконога тонкого, частота аберрантных клеток в менее загрязненных точках (диапазон поглощенных доз $3,6 \times 10^4$

$4-8,3 \times 10^{-4}$ Гр/сезон) находилась в диапазоне 0,06–0,69%, что близко к типичному диапазону спонтанной частоты аберрантных клеток для многих дикорастущих и культурных злаков (0,5–1,0%).

Анализ представленных на рис. 4 данных показал, что у ковыля волосовидного частота аберрантных клеток возрастает с 0,2–0,8% при $\log(D)=10^{-1}-10^0$ (что соответствует мощности поглощенной дозы 0,3–1,0 мГр/сезон) до 5% при $\log(D)=10^4-10^5$ (11 Гр/сезон). В диапазоне $\log(D)$ от 10^{-1} до 10^2 увеличение дозы не влияет на частоту цитогенетических нарушений. Как и у тонконога тонкого при значениях $\log(D) > 10^2$ частота почти всех типов цитогенетических нарушений возрастает пропорционально мощности дозы. В диапазоне 0,36–162 мГр/сезон частота аберрантных клеток статистически значимо не отличается от контрольного уровня. Точка перегиба для частоты аберрантных клеток составляет 162 мГр/сезон (56,3 мкГр/ч) (табл. 7). Из результатов статистической оценки групп данных, расположенных слева от точки перегиба, следует, что частота аберрантных клеток статистически значимо не изменяется в этом диапазоне мощностей доз (табл. 8). Справа от точки перегиба установлена линейная зависимость частоты всех исследованных видов цитогенетических нарушений от мощности поглощенной дозы в ковыле волосовидном (табл. 9).

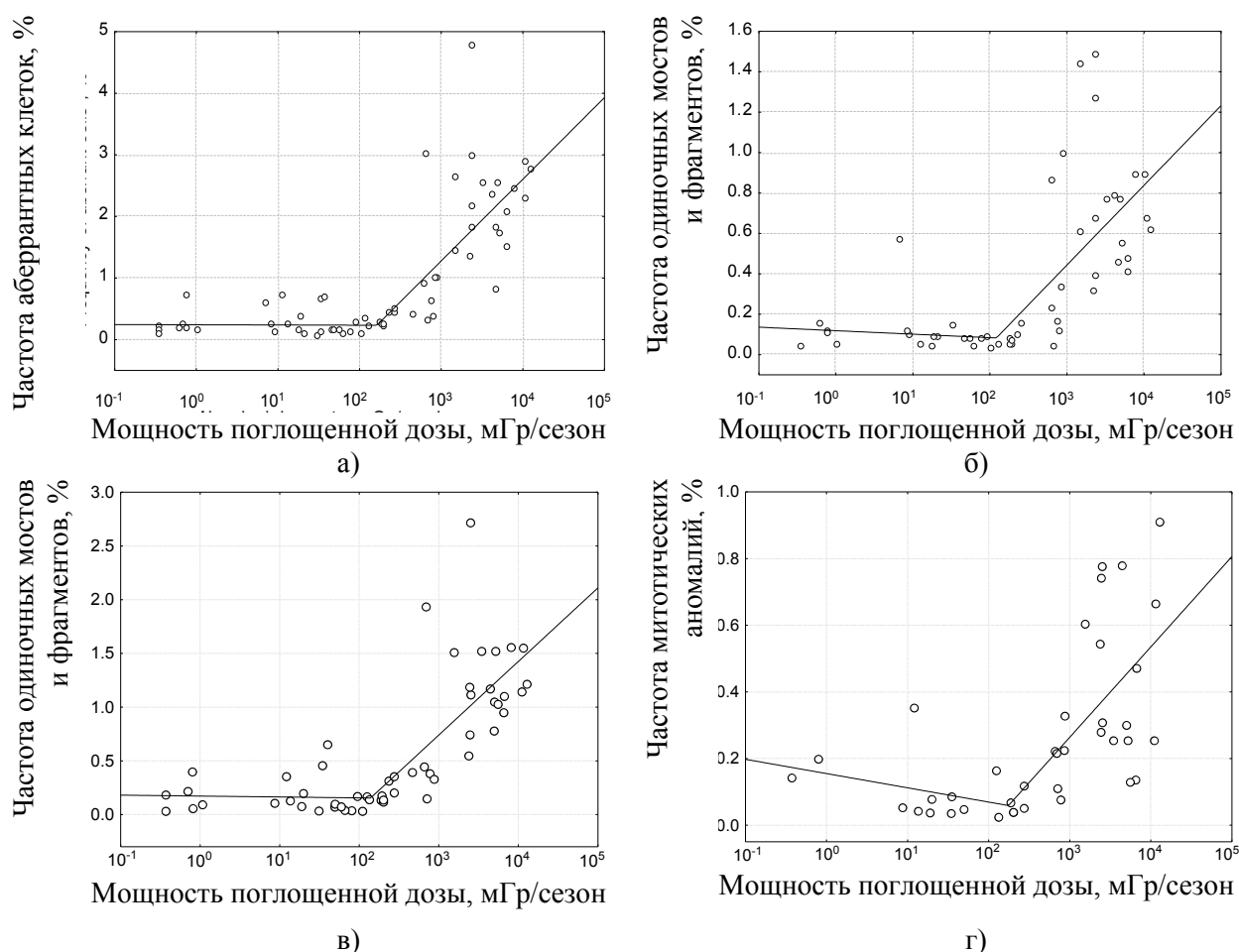


Рисунок 4 – Зависимость частоты цитогенетических нарушений в популяциях ковыля волосовидного от логарифма мощности поглощенной дозы: а) частота аберрантных клеток; б) одиночные фрагменты и мосты; в) двойные фрагменты и мосты; г) митотические аномалии

Для частоты аберрантных клеток 162 мГр/сезон (табл. 7) является критической мощностью дозы, существенно меняющей скорость изменения этого параметра. Частота одиночных мостов и фрагментов начинает возрастать, начиная со 120 мГр/сезон (табл. 7). Большая мощность дозы необходима для возрастания частоты митотических аномалий (174 мГр/сезон). Регрессионный анализ показал, что слева от точки перегиба частота всех видов цитогенетических нарушений остается практически постоянной (табл. 8). Качественно иная ситуация наблюдается справа от точки перегиба. В этом диапазоне частота всех видов цитогенетических нарушений статистически значимо растет с мощностью дозы (табл. 9). Таким образом показано, что для популяций ковыля волосовидного существует порог мощности дозы, ниже которого эффекты облучения практически не наблюдаются. Поскольку аналогичный порог был ранее установлен для населяющих ту же территорию популяций тонконога тонкого, полученные результаты отражают закономерности формирования ответной реакции растений на длительное хроническое облучение.

Таблица 7 – Оценка положения точки перегиба (Тп), в популяциях ковыля волосовидного, для разных типов цитогенетических нарушений

Точка разрыва для показателя	Мощность поглощенной дозы, мГр/сезон.	Доверительный интервал для Тп	
		Нижний	Верхний
Частота аберрантных клеток	162	60,3	437
Частота одиночных фрагментов и мостов	120	21,9	661
Частота двойных фрагментов и мостов	141	39,8	479
Частота трехполюсных митозов, забеганий и отставаний хромосом	174	29,5	1023

Таблица 8 – Результаты регрессионного анализа зависимости доза-эффект для группы данных, расположенных слева от точки перегиба

Параметр	Оценка параметра и его стандартная ошибка	t-критерий Стьюдента	Уровень значимости, p	Доверительный интервал параметра	
				Нижний	Верхний
Частота аберрантных клеток					
a	0,256±0,187	1,35	0,188	-0,131	0,636
b	-0,003±0,045	-0,076	0,940	-0,096	0,089
Частота одиночных мостов и фрагментов					
a	0,171±0,142	1,20	0,247	-0,130	0,471
b	-0,017±0,035	-0,502	0,622	-0,090	0,056
Частота двойных мостов и фрагментов					
a	0,198±0,167	1,18	0,250	-0,149	0,545
b	-0,008±0,039	-0,215	0,832	-0,090	0,073
Частота трехполюсных митозов, забеганий и отставаний хромосом					
a	0,283±0,157	1,81	0,101	-0,066	0,633
b	-0,043±0,037	-1,16	0,273	-0,125	0,039

Таблица 9 – Результаты регрессионного анализа зависимости доза-эффект для группы данных, расположенных справа от точки перегиба

Параметр	Оценка параметра и его стандартная ошибка	t-критерий Стьюдента	Уровень значимости, p	Доверительный интервал параметра	
				Нижний	Верхний
Частота aberrантных клеток					
a	-6,68±1,52	-4,40	<0,001	-9,77	-3,59
b	1,33±0,244	5,44	<0,001	0,830	1,82
Частота одиночных мостов и фрагментов					
a	-1,92±0,638	-3,01	0,005	-3,22	-0,62
b	0,394±0,103	3,84	0,001	0,184	0,604
Частота двойных мостов и фрагментов					
a	-3,37±0,908	-3,71	0,001	-5,22	-1,51
b	0,685±0,146	4,70	<0,001	0,387	0,982
Частота трехполюсных митозов, забеганий и отставаний хромосом					
a	-1,36±0,456	-2,99	0,006	-2,30	-0,424
b	0,271±0,073	3,72	0,001	0,121	0,421

Спектр цитогенетических нарушений. У ковыля волосовидного обнаружены следующие типы цитогенетических нарушений: aberrации хромосом (одиночные и двойные мосты и фрагменты) и митотические аномалии (отставания и забегания хромосом, многополюсные митозы) (рис. 5).

Как и у тонконога тонкого, основной вклад в спектр структурных мутаций в популяциях ковыля волосовидного вносят двойные мосты и фрагменты (56%). Вклад одиночных мостов и фрагментов (28%), а также митотических аномалий (16%) гораздо меньше. Увеличение частоты одиночных фрагментов и мостов начинается с мощности дозы 120 мГр/сезон (41,7 мкГр/ч) (рис. 4б). Для увеличения частоты митотических аномалий необходима большая мощность дозы (174 мГр/сезон (60,4 мкГр/ч)) (рис. 4г). Легко видеть, что форма зависимости на рисунке 4а и 4в совпадает, близки и значения оцененных нами точек перегиба для частоты aberrантных клеток (56,3 мкГр/ч), а также двойных мостов и фрагментов (49,0 мкГр/ч). В совокупности с тем, что более половины цитогенетических нарушений в исследуемых популяциях составляют маркеры радиационного воздействия — двойные мосты и фрагменты, можно заключить, что наблюдаемые в популяциях ковыля волосовидного цитогенетические эффекты являются результатом хронического облучения. Как и у тонконога тонкого, у ковыля волосовидного доля двойных фрагментов и мостов превышает другие виды нарушений. Хромосомные aberrации вносят основной вклад в наблюдаемую частоту цитогенетических эффектов, что свидетельствует о радиационной природе наблюдаемых изменений.

Статистический анализ параметров дозовых зависимостей по всем видам цитогенетических нарушений подтверждает наличие пороговой дозы, ниже которой частота нарушений практически не отличается от спонтанного уровня, а выше — возрастает с увеличением мощности дозы. Дозовая зависимость двойных мостов у ковыля волосовидного, как и у тонконога тонкого фактически повторяет зависимость для частоты aberrантных клеток. Таким образом, в условиях загрязнения среды обитания ковыля волосовидного преимущественно ⁹⁰Sr, основной вклад в формирование цитогенетических эффектов вносят двойные мосты и фрагменты.

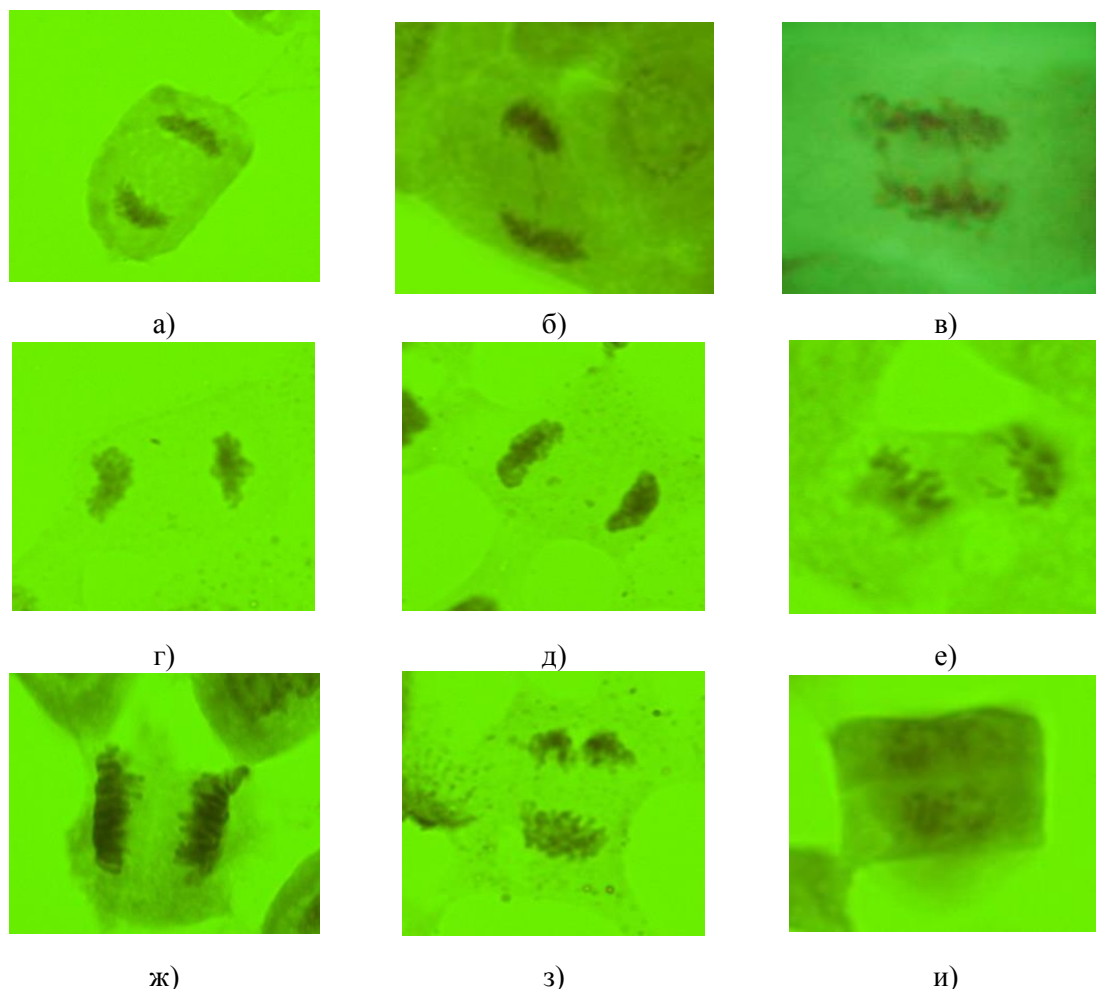


Рисунок 5 – Цитогенетические аномалии в ана-телофазных клетках ковыля волосовидного с площадки "4А": а) нормальная ана-телофаза; б) одиночный мост; в) двойной мост; г) одиночный фрагмент; д) двойной фрагмент; е) отставания хромосом; ж) забегания хромосом; з) трехполюсный митоз; и) четырехполюсный митоз

Глава 4. Обсуждение

4.1. Удельная активность радионуклидов в растениях

Выбранные для проведения исследований на площадке «4А» 163 экспериментальные точки не отличались друг от друга по почвенно-климатическим условиям и загрязнению тяжелыми металлами, но были контрастны по уровню радиоактивного загрязнения. Основную роль в радиоактивном загрязнении площадки «4А» вносит ^{90}Sr , удельная активность которого в пробах растений тонконога тонкого достигала $6,3 \times 10^7$ Бк/кг, в пробах ковыля волосовидного - $2,6 \times 10^7$ Бк/кг (таб. 1). ^{90}Sr присутствует в почве площадки «4А» преимущественно в обменной и водорастворимой форме и может интенсивно накапливаться в растениях (Кундузбаева и др., 2013). Хотя стронций не является необходимым для растений элементом, он может замещать необходимый растениям кальций ввиду сходства их химических свойств и таким образом накапливаться в растениях. Поскольку растения не способны различать ионы Ca и Sr, поступление Sr в растения происходит по кальциевым каналам корня (Burger et al., 2019). Высокие концентрации ^{90}Sr в растениях с площадки «4А», где проводили испытания боевых радиоактивных веществ, должны вести к индукции значительных биологических эффектов в популяциях растений. Исходя из однородности участков по почвенно-климатическим условиям и содержанию тяжелых

металлов можно утверждать, что наблюдаемые в популяциях растений цитогенетические эффекты являются следствием радиационного воздействия.

4.2. Дозовые нагрузки на растения

Доза варьирует в широких пределах от 0,1 до $4,5 \times 10^3$ мкГр/час и составляет пять порядков величины. Основная часть дозы у растений формируется за счет внутреннего облучения от радионуклида ^{90}Sr . Вклад внешнего и внутреннего облучения от других радионуклидов в поглощенные растениями дозу незначителен. В настоящее время установлены различные уровни доз, которые принято считать безопасными для наземных растений. Хотя сопоставление рекомендованных разными организациями допустимых пределов затруднительно, можно сделать общий вывод, что минимальные допустимые уровни хронического облучения биоты сопоставимы – от 4 до 40 мкГр/час и превышают допустимое дозовое воздействие на человека (1 мЗв/год) в 40-400 раз. В целом, расчетные значения поглощенных растениями доз на наших экспериментальных участках свидетельствуют о наличии выраженных радиобиологических эффектов в исследуемых популяциях с площадки «4А».

4.3. Сравнительный анализ цитогенетических эффектов в популяциях тонконога тонкого и ковыля волосовидного

Сложившаяся на территории Семипалатинского испытательного полигона уникальная радиоэкологическая ситуация, характеризующаяся значительным градиентом уровней радиоактивного загрязнения, широким спектром радионуклидов, наличием участков с доминирующим вкладом излучений разного типа в формирование дозовой нагрузки на объекты живой природы, а также климатическими особенностями данного региона, предоставляет широкие возможности для изучения биологических эффектов в биоценозах, подвергающихся хроническому радиационному воздействию на фоне экстремальных условий среды обитания.

Организмы в естественной среде обитания почти на порядок более чувствительны к радиационному воздействию (Garnier-Laplace et al., 2013), да и сама форма дозовой зависимости может отличаться от наблюдаемой в контролируемых условиях лабораторного эксперимента (Schafer et al., 2012). Это связано с многочисленными и разнообразными по своей природе воздействиями на исследуемый организм в естественной среде его обитания (нерадиационные стрессоры, конкуренция за ресурсы, погодные условия, взаимоотношения хищник-жертва, паразит-хозяин и др.). Важной проблемой также являются характерные для полевых исследований существенные неопределенности при оценке поглощенных доз и незначительное количество экспериментальных точек.

В нашем исследовании значительное количество экспериментальных данных (163 экспериментальные точки, широкий диапазон изменения мощности дозы для тонконога тонкого ($0,1-4,5 \times 10^3$ мкГр/ч) и ковыля волосовидного ($0,1-3,8 \times 10^3$ мкГр/ч) были использованы для восстановления формы зависимости частоты цитогенетических нарушений от логарифма мощности дозы в популяциях растений с площадки "4А", где проходили испытания боевых радиоактивных веществ.

Исследованные виды растений относятся к семейству злаковых, но к разным родам. Из трех показателей, составляющих интегральную частоту аберрантных клеток, по двум показателям, которые вносят основной вклад, а именно двойные аберрации и митотические нарушения, радиочувствительность тонконога оказалось существенно ниже, чем у ковыля, и только по показателю одиночные мосты и фрагменты, существенно менее опасные для клетки, у тонконога зафиксирован низкий уровень мощности дозы в точке перегиба. Кроме того, сравнение углов наклона линий

регрессии справа от точки перегиба (табл. 6, 9) свидетельствует о том, что для всех видов цитогенетических нарушений прирост их частоты на единицу мощности дозы статистически значимо выше у ковыля. Это свидетельствует о том, что ковыль волосовидный чувствительнее к хроническому облучению, чем тонконог тонкий.

В середине 1930-х годов принято было считать, что выход мутаций на единицу дозы одинаков как для малых, так и для больших доз (линейность) и предполагалось, что квант энергии излучения, воздействуя непосредственно на хромосому, вызывает в молекулах ДНК необратимые изменения (беспороговость) (Тимофеев-Ресовский и др., 1968). Эти постулаты легли в основу получившей в настоящее время наибольшее распространение линейной беспороговой концепции (ICRP, 2007).

Для обоснования порога должно быть предложено значение пороговой мощности дозы и оценены доверительные интервалы этого значения (Lutz, Lutz, 2009). У тонконога тонкого начиная с 49 мкГр/ч, а у ковыля волосовидного начиная с 56 мкГр/ч, частота цитогенетических нарушений в проростках, собранных на площадке "4А" семян, статистически значимо увеличивалась (рис. 2, а, рис. 4, а). Выявление порога в ответной реакции популяций растений на антропогенное воздействие увеличивает нашу способность предвидеть резкие и внезапные изменения в поведении экосистем (Groffman et al., 2006).

Следует подчеркнуть, что значения точек перегиба отличаются для разных видов растений и цитогенетических нарушений. Наименьшая мощность дозы у тонконога тонкого (7 мкГр/ч, рис. 2, б) и у ковыля волосовидного (41,7 мкГр/ч, рис. 4, б) необходима для формирования одиночных мостов и фрагментов. Большинство aberrаций этого типа быстро репарируются. Большие мощности дозы у тонконога тонкого (74 мкГр/ч, рис. 2, в) и ковыля волосовидного (49 мкГр/ч, рис. 4, в) требуются для увеличения частоты двойных фрагментов и мостов, которые могут вести к гибели клетки (Feinendegen, Pollycove, 2001). Хромосомные и хроматидные aberrации отличаются от митотической аномалий механизмами формирования (причиной aberrаций хромосом является их повреждение, в то время как митотические аномалии вызваны повреждением митотического аппарата, особенно веретена деления). Коана et al. (2004) предполагают, что репарация ДНК ответственна за существование порога по частоте мутаций. Однако репарация ДНК не защищает от формирования митотических аномалий. Это обстоятельство может быть причиной того, что порог для митотических аномалий наблюдается при большей мощности дозы (60,4 мкГр/ч). Полученные результаты поддерживают гипотезу о том, что частота митотических аномалий возрастает в случае, когда растения не способны поддерживать генетическую стабильность (Veylder et al., 2011).

Ранее пороговая форма дозовой зависимости была обнаружена в лабораторных экспериментах с облучением семян пшеницы (Гераськин и др., 1995). Нелинейная дозовая зависимость с выраженным дозозависимым плато была обнаружена при γ -облучении семян (Гераськин и др., 1997) и проростков ячменя (Geras'kin et al., 2007), а также у других видов растений (George et al., 2014). Пороговая мощность дозы, вызывающая резкое увеличение уровня метилирования генома, была выявлена у сосны обыкновенной из Чернобыльской зоны (Volkova et al., 2018). Представленные в работе (Зяблицкая и др., 1984) результаты эксперимента с корневым поступлением радионуклидов ^{90}Sr в растения ячменя также позволяют предположить наличие дозозависимого участка по частоте клеток с aberrациями вплоть до 0,2 Гр. Порог вплоть до 1 Гр наблюдался (Коана et al., 2004) в зависимости дозы рентгеновского излучения — частота соматических мутаций у дрозофилы. Сравнение формы

выявленных в ходе настоящего исследования эмпирических дозовых зависимостей с ранее полученными результатами показало, что кривые имеют схожий вид, отличаясь только значениями точек перегиба, которые зависят от видовой радиочувствительности.

Хотя теоретические основы пороговой концепции до сих пор являются предметом дискуссий, ее значение для дальнейшего развития системы радиационной защиты окружающей среды несомненно. Такая форма дозовой зависимости может быть связана (Henderson et al., 2000; Geras'kin et al., 2007) с исчерпанием возможности систем восстановления на клеточном уровне. Действительно, в работе (Koana et al., 2004) причиной существования порога назвали работу систем репарации повреждений ДНК. Следовательно, даже небольшое увеличение мощности дозы в районе точки перегиба может привести к качественному изменению работы защитных систем растений. Фактически, в настоящей работе и в работах (Geras'kin et al., 2021; Гераськин и др., 2022), мы оценили критические значения мощности дозы, которые еще не приводят к существенным изменениям реакции двух видов растений на облучение.

Таким образом, в ходе исследования цитогенетических эффектов у растений, произрастающих на площадке, где испытывали боевые радиоактивные вещества, установлена нелинейная зависимость между частотой цитогенетических нарушений в апикальной меристеме корешков проростков семян и логарифмом мощности дозы, поглощенной растениями. В диапазоне мощности дозы до 49 мкГр/ч для тонконога тонкого и до 56 мкГр/ч для ковыля волосовидного частота цитогенетических нарушений не отличается от контрольного уровня, то есть установлен порог для данного типа эффектов. Превышение пороговой мощности дозы ведет к линейному росту частоты цитогенетических нарушений вплоть до 15% у тонконога тонкого и до 5% у ковыля волосовидного.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценка цитогенетических эффектов в популяциях ковыля волосовидного и тонконога тонкого выполнена на участках площадки "4А" Семипалатинского испытательного полигона (Казахстан), не отличающихся по почвенным характеристикам и загрязнению тяжелыми металлами, но контрастных по уровню радиоактивного загрязнения. Доминирующая роль в радиоактивном загрязнении площадки «4А» принадлежит радионуклиду ^{90}Sr , удельная активность которого в пробах растений тонконога тонкого достигала $6,3 \times 10^7$ Бк/кг, в пробах ковыля волосовидного $2,6 \times 10^7$ Бк/кг. Поэтому неудивительно, что основной вклад в поглощенную растениями дозу вносит внутреннее облучение от ^{90}Sr . Показано, что зависимость частоты цитогенетических нарушений от логарифма мощности дозы распадается на два участка, в пределах которых характер изменения частоты цитогенетических нарушений принципиально различается.

В популяциях тонконога тонкого и ковыля волосовидного, населяющих загрязненные радионуклидами участки, установлена повышенная частота хромосомных перестроек и патологий митоза. Основной вклад в формирование цитогенетических эффектов вносят двойные мосты и фрагменты, что служит дополнительным доказательством радиационной природы наблюдаемых в популяциях тонконога тонкого и ковыля волосовидного изменений. Значения точек перегиба отличаются для разных видов растений и видов цитогенетических нарушений. Наименьшая мощность дозы у тонконога тонкого (7 мкГр/ч) и у ковыля волосовидного (41,7 мкГр/ч) необходима для формирования одиночных мостов и фрагментов. Большинство aberrаций этого типа быстро репарируются. Большие мощности дозы у

тонконога тонкого (74 мкГр/ч) и у ковыля волосовидного (49 мкГр/ч) требуются для увеличения частоты двойных мостов и фрагментов, которые могут вести к гибели клетки. Порог для митотических аномалий фиксируется при наиболее высоких дозах (81 мкГр/ч для тонконога тонкого и 60,4 мкГр/ч для ковыля волосовидного).

ВЫВОДЫ

1. Впервые на площадке «4А» СИП, где проходили испытания боевых радиоактивных веществ, выполнено комплексное исследование цитогенетических эффектов в популяциях типичных для Казахстана видов дикорастущих злаковых растений (тонконог тонкий и ковыль волосовидный), включающее оценку мощности эквивалентной дозы гамма-излучения, плотности потока бета-частиц с поверхности почвы, определение удельной активности радионуклидов и концентраций химических элементов в растениях, оценку поглощенных растениями доз и установление связи наблюдавшихся цитогенетических эффектов с поглощенной дозой.

2. Мощности поглощенной дозы на площадке «4А» менялись в широких пределах (тонконог тонкий ($0,1-4,5 \times 10^3$ мкГр/ч), ковыль волосовидный ($0,1-3,8 \times 10^3$ мкГр/ч)). Основную часть дозы растения получали от внутреннего облучения радионуклидом ^{90}Sr . Вклад внешнего облучения и внутреннего облучения от других радионуклидов в поглощенные растениями дозы незначителен.

3. На основе большого фактического материала (163 экспериментальные точки, широкий диапазон изменения мощности дозы $0,1-4,5 \times 10^3$ мкГр/ч) исследована форма зависимости частоты цитогенетических нарушений от логарифма мощности дозы в популяциях растений с площадки «4А», где проходили испытания боевых радиоактивных веществ. Показан нелинейный и пороговый характер выявленной зависимости. Для обоих видов основной вклад в спектр цитогенетических эффектов вносят двойные мосты и фрагменты.

4. Впервые установлена пороговая величина мощности дозы для тонконога тонкого и ковыля волосовидного, ниже которой частота цитогенетических эффектов в природных популяциях растений не превышает спонтанный уровень, а выше возрастает. Значения пороговых мощностей доз отличаются у разных видов растений и цитогенетических нарушений. Наименьшая мощность дозы у тонконога тонкого (7 мкГр/ч) и ковыля волосовидного (41,7 мкГр/ч) необходима для формирования одиночных мостов и фрагментов. Большие мощности дозы у тонконога тонкого (74 мкГр/ч) и ковыля волосовидного (49 мкГр/ч) требуются для увеличения частоты двойных мостов и фрагментов. Порог для митотических аномалий наблюдается при большей мощности дозы (81 мкГр/ч для тонконога тонкого и 60,4 мкГр/ч для ковыля волосовидного).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

В рецензируемых научных изданиях из перечня ВАК и/или индексируемых международными базами данных (Web of Science/Scopus):

1. Мозолин, Е.М. Радиобиологические эффекты у растений и животных Семипалатинского испытательного полигона / Е.М. Мозолин, С.А. Гераськин, **К.С. Минкенова** // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2008. - № 4. - С. 422-432.
2. **Minkenova, K.S.** Cytogenetic effects in crested hairgrass from a site where tests of military radioactive substances were conducted at the Semipalatinsk test site / K.S. Minkenova, Zh.A. Baigazinov, S.A. Geras'kin, A.N. Perevolotsky // Biology Bulletin. – 2020. - Vol. 47. - No. 12. - P. 1637-1650.
3. Geras'kin, S. Threshold dose rates for the cytogenetic effects in crested hairgrass

- populations from the Semipalatinsk nuclear test site, Kazakhstan / S. Geras'kin, **К. Минкенова**, A. Perevolotsky, Zh. Baigazinov, T. Perevolotskaya // J. Hazardous Materials. – 2021. Vol. 416. - № 125817. - P. 1-9.
4. Гераськин, С.А. Нелинейность зависимости частоты цитогенетических нарушений от содержания ^{90}Sr в растениях тонконога тонкого с территории Семипалатинского испытательного полигона / С.А. Гераськин, **К.С. Минкенова**, А.Н. Переволоцкий, Ж.А. Байгазинов, Т.В. Переволоцкая // Радиация и риск. – 2021. - Т. 30. – № 2 – С. 77-88.
 5. Гераськин, С.А. Цитогенетические эффекты в популяциях ковыля волосовидного с территории Семипалатинского испытательного полигона / С.А. Гераськин, **К.С. Минкенова**, Т.В. Переволоцкая, А.Н. Переволоцкий // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2022. - Т. 62. - № 6. - С. 642-658.
В журналах, сборниках статей и материалах конференций:
 6. **Минкенова, К.С.** Исследование цитогенетических эффектов в популяциях дикорастущих злаковых растений, произрастающих на территории Семипалатинского испытательного полигона / К.С. Минкенова., С.А Гераськин., А.Н. Мамырбаева // тезисы докладов «Медико-биологические и экологические проблемы в уранодобывающих регионах». IX Республиканская научно-практическая конференция с международным участием., 8-9 сентября 2022. – Нур-Султан, 2022 – С. 59–60.
 7. **Минкенова, К.С.** Радиобиологические эффекты у растений, произрастающих на площадке «4А» СИП / К.С. Минкенова., С.А Гераськин., Ж.А Байгазинов, А.Н., Мамырбаева // Семипалатинский испытательный полигон: наследие и перспективы развития научно-технического потенциала: тезисы докладов IX Междунар. науч.-конф., 7-9 сентября 2021г. - Курчатов, 2021 – С. 112–113.
 8. **Минкенова, К.С.** Исследования генетических эффектов хронического облучения популяций растений, произрастающих в местах испытания боевых радиоактивных веществ / К.С. Минкенова, Ж.А. Байгазинов, А.Н Мамырбаева, А.О. Кенесарина // Современные проблемы радиобиологии, радиоэкологии и агроэкологии: тезисы докладов молодежной.- конф., 3-4 октября 2019 - Обнинск, 2019. – С. 78–79.
 9. **Минкенова, К.С.** Цитогенетические эффекты у растений, произрастающих в местах испытания боевых радиоактивных веществ / К.С. Минкенова, Ж.А. Байгазинов, А.Н Мамырбаева, А.О. Кенесарина // Экология и эволюция: новые горизонты материалы международного симпозиума, посвященного 100-летию академика С.С. Шварца: тезисы докладов Междунар. симпоз., 1-5 апреля 2019 - Екатеринбург, 2019. – С. 437–439.
 10. **Минкенова, К.С.** Влияние хронического ионизирующего излучения на цитогенетические эффекты тонконога (*Koeleria gracilis* Pers), произрастающего в местах испытания боевых радиоактивных веществ / К.С. Минкенова, Ж.А. Байгазинов, К.С. Каримбаева // Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности: состояние и перспективы: тезисы докладов Междунар. Науч.-практ. конф., 26-28 сентября, 2018 – Обнинск, 2018. - С. 90-91.
 11. **Минкенова, К.С.** Цитогенетические исследования ковыля (*Stipa capillata*) и житняка (*Agropyron cristatum*) произрастающих в местах испытания боевых радиоактивных веществ / К.С. Минкенова, Ж.А. Байгазинов, А.Н Мамырбаева, А.О. Кенесарина // Семипалатинский испытательный полигон: наследие и перспективы развития научно-технического потенциала: тезисы докладов VIII Междунар. науч.-конф., 11-13 сентября, 2018г. – Курчатов, 2018. – С. 76–77.

12. Паницкий, А.В. Радиоэкологические исследования биологической направленности на Семипалатинском испытательном полигоне / А.В. Паницкий, Ж.А. Байгазинов, А.М. Кабдыракова, А.Е. Кундузбаева, Н.В. Ларионова, **К.С. Минкенова** // Семипалатинский испытательный полигон: наследие и перспективы развития научно-технического потенциала: тезисы докладов VIII Междунар. науч.-конф., 11-13 сентября 2018г. - Курчатов, 2018. – С. 82
13. **Минкенова, К.С.** Изучение генетических эффектов хронического облучения на популяцию ковыля (*Stipa capillata*), произрастающего в местах испытания боевых радиоактивных веществ / К.С. Минкенова, Ж.А. Байгазинов, А.Н. Мамырбаева, А.О. Кенесарина // Техногенные системы и экологический риск: тезисы докладов 2 международной научной конференций., 19-20 апреля, 2018 – Обнинск: ИАТЭ НИЯУ МИФИ, 2018. - С. 374-375.
14. **Минкенова, К.С.** Цитогенетические изменения тонконога (*Koeleria gracilis* Pers), произрастающего в местах испытания боевых радиоактивных веществ на Семипалатинском испытательном полигоне / К.С. Минкенова, Ж.А. Байгазинов, С.Н. Лукашенко, А.Н. Мамырбаева, К.С. Каримбаева // Актуальные вопросы радиоэкологии Казахстана [Сборник трудов Национального ядерного центра Республики Казахстан за 2014-2016гг.] - Вып. 6. – Т.2.– Павлодар: Дом печати, 2017.– С. 185- 203. .: ил. - Библиогр.: с. 203 – 204. - ISBN 978-601-7844-54-7.
15. **Minkenova, K.S.** Cytogenetics effects of chronic irradiation of plants, growing in venues of testing warfare radioactive agents (Semipalatinsk Nuclear Test Site) / K.S. Minkenova, Zh.A. Baigazinov, S.N. Lukashenko, A.S. Mamyrbayeva, K.S. Karimbaeva // 4th International Conference «Radioecology & Environmental Radioactivity», 3-8 September, 2017 г - Berlin, Germany, 2017. – P. 693-694.
16. **Минкенова, К.С.** Цитогенетические изменения тонконога (*Koeleria gracilis* Pers) произрастающих в местах испытания боевых радиоактивных веществ на Семипалатинском испытательном полигоне / К.С. Минкенова, Ж.А. Байгазинов, С.Н. Лукашенко, А.Н. Мамырбаева, К.С. Каримбаева // Современные проблемы радиологии и агроэкологии, пути реабилитации техногенно-загрязненных угодий: тезисы докладов межд.- конф., 15 декабря 2016 – Обнинск, 2016. – С. 140–143.
17. **Минкенова, К.С.** Цитогенетические изменения тонконога тонкого (*Koeleria gracilis* Pers), произрастающего в местах испытания боевых радиоактивных веществ на Семипалатинском испытательном полигоне / К.С. Минкенова, Ж.А. Байгазинов, Н.Ж. Кадырова, А.Н. Мамырбаева., К.С. Каримбаева, А.Н. Шатров // Современные проблемы биотехнологии: от лабораторных исследований к производству посвященной 75-летию крупного ученого-микробиолога, академика Казахстанской национальной Академии Естественных Наук, доктора биологических наук, профессора Жубановой Ажар Ахметовне: тезисы докладов III Междунар. науч.-конф., 7-8 апреля 2016 - Алматы, 2016.– С. 76.

Минкенова Кырмызы Сериковна

Цитогенетические эффекты в популяциях *Koeleria gracilis* Pers. и *Stipa capillata* L. с площадки Семипалатинского полигона, где испытывали боевые радиоактивные вещества
Автореф. дисс на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Специальность 1.5.1. «Радиобиология»

Типография «_____»