

## ГЕНЕТИКА, СЕЛЕКЦІЯ І БІОТЕХНОЛОГІЯ

УДК 633.11:575.224.4

### ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ МОНІТОРИНГ ХРОМОСОМНИХ ПОРУШЕНЬ У КЛІТИНАХ КОРЕНЕВИХ АПЕКСІВ ПШЕНИЦІ, ІНДУКОВАНИХ РАДІОНУКЛІДНИМИ ЗАБРУДНЕННЯМИ ЧОРНОБИЛЬСЬКОГО АВАРІЙНОГО ВИКИДУ ЗА РІЗНИХ УМОВ ВПЛИВУ

© 2007 р. С. П. Братушак, В. В. Моргун

*Інститут фізіології рослин і генетики  
Національної академії наук України  
(Київ, Україна)*

Проводили цитогенетичний моніторинг хромосомних аберацій, індукованих радіонуклідними забрудненнями Чорнобильського аварійного викиду в зоні відчуження ЧАЕС. Встановили, що радіонуклідні забруднення ґрунту за умов пролонгованого впливу на насіння озимої пшениці різних сортів спричиняють появу хромосомних порушень у кореневих апексах, частота яких у 1,8 – 5,3 рази перевищує спонтанний рівень аберацій. Виявили, що частота хромосомних аберацій за умов хронічного впливу знаходиться в межах 0,97 – 2,26 %.

**Ключові слова:** *Triticum aestivum L.*, радіонуклідні забруднення, пролонгований вплив, хронічний вплив, хромосомні аберації, частота і спектр аберацій

Найбільша в історії атомної енергетики аварія на Чорнобильській АЕС не має аналогів за кількістю радіонуклідів, що потрапили в навколишнє середовище, площею радіоактивного забруднення та складністю біологічних наслідків [6, 7].

Особливості характеру Чорнобильської аварії (тепловий вибух, горіння комунікацій і графіту, викиди з матеріалами, що були використані для гасіння) зумовили розманіття форм радіоактивних випадінь і призвели до нерівномірного розподілу різних фізико-хімічних форм радіонуклідів, що були викинуті на території, прилегли до ЧАЕС, і в зонах так званих цезієвих плям. Накладення зазначених чинників на неоднорідні ландшафтні і ґрунтово-агрохімічні характеристики території зумовили складну радіоекологічну ситуацію [1].

Локалізація наслідків аварії, проведення дезактиваційних робіт, які дозволили знизити

радіаційний фон, і нарешті зупинка Чорнобильської АЕС – все це послабило увагу до вивчення біологічних наслідків аварії. Проте, як показали результати досліджень, проведених у віддалені строки після аварії, хронічний вплив іонізуючого опромінення низької потужності здатний викликати появу різноманітних уражень генетичного характеру, виявити які іноді можливо лише за допомогою спеціальних методів.

До післядії радіації в малих дозах належать такі ефекти як нестабільність геному, експресія специфічних генів, адаптація, підвищена радіочутливість, так званий „ефект свідків”. Феномен радіаційно-індукованої геномної нестабільності за дії радіації в малих дозах був виявлений на деяких об'єктах [14], однак природа появи віддалених генетичних ефектів Чорнобильської катастрофи ще повністю не вивчена [12].

Нестабільність геному - це незворотні видонеспецифічні зміни в клітинах, які успадковуються і не пов'язані з поділом клітин [11].

*Адреса для кореспонденції:* Братушак Сергій Петрович, Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, вул. Васильківська, 31/17, Київ, 03022, Україна

За умов довготривалого впливу малих доз радіації до спонтанних пошкоджень ДНК додаються радіаційно індуковані. Нерепаровані пошкодження реалізуються в розриви ДНК/хромосом, мутації генів/хромосом або залишаються у вигляді потенційних, іноді довгоіснуючих пошкоджень. Останні можуть бути матеріалом для індукції геномної нестабільності. Характерним є те, що за дії малих доз техногенних іонізуючих випромінювань здатність клітин до подальшого багаторазового поділу не втрачається, що призводить до розмноження як первинно індукованих, так і віддалених дисгеномних ефектів [9].

Є припущення, що радіаційно-індукована нестабільність виникає в результаті пошкодження особливого класу генів – онтогенів, що призводить до різкого підвищення транспозиційної активності мікрогенетичних елементів (МГЕ). Вирізання і вбудовування МГЕ викликає появу феноменів генетичної нестабільності [10].

Приклади геномної нестабільності були виявлені у віддалені після опромінення строки у різних біологічних об'єктів, які зазнали хронічної дії радіації за різних умов впливу. Так, у рослин озимої пшениці і жита, які зазнали хронічного опромінення, виявлені порушення генетичного апарату генеративних клітин у наступних поколіннях. Тенденція до стабілізації геному спостерігалась лише у 5-6 поколіннях за рахунок елімінації пошкоджених клітин [13].

Геномна нестабільність у нащадків опромінених клітин, які зазнали експозиційного впливу іонізуючого опромінення в зоні Чорнобильської аварії у культурі тканини, виявляється у вигляді гальмування швидкості проліферації, загибелі клітин, збільшенні числа мікроядер, появи гігантських клітин [8].

Відомо, що стабільність геному перебуває під генетичним контролем. Мутації в генах, відповідальних за репарацію ДНК, можуть призводити як до посилення спонтанного мутагенезу, так і до підвищення чутливості клітин до мутагенного впливу. Яскравим прикладом геномної нестабільності може бути поява підвищеної частоти хромосомних аберацій [2].

У зв'язку з цим метою нашої роботи було вивчення динаміки виникнення хромосомних порушень в клітинах рослин озимої пшениці за умов хронічного і пролонгованого впливу радіонуклідних забруднень Чорнобильського аварійного викиду.

## МЕТОДИКА

Об'єктом дослідження була озима м'яка пшениця (*Triticum aestivum* L.) двох сортів – Альбатрос одеський і Донецька 48. Дані сорти у відділі експериментального мутагенезу Інституту фізіології рослин і генетики НАН України є об'єктами моніторингових досліджень мутаційної мінливості озимої пшениці, індукованої радіонуклідними забрудненнями аварійного викиду, з моменту аварії на ЧАЕС і дотепер.

В лабораторних умовах проводили цитогенетичний аналіз частоти і спектра хромосомних аберацій у мітозах меристематичних клітин первинних коренів насіння пшениці, яке зазнало пролонгованого і хронічного впливу іонізуючого випромінювання від радіонуклідних забруднень Чорнобильського аварійного викиду.

Дослідження цитогенетичної активності пролонгованого впливу радіонуклідних забруднень ґрунту із Чорнобильської зони відчуження проводилось при витримуванні насіння озимої пшениці у зразках сухого радіоактивного ґрунту за експозиційної дії 9 діб. Вплив радіоізотопів на проростаюче насіння вивчався на кореневих апексах, отриманих при пророщуванні насіння у вологому радіоактивному ґрунті. Зразки радіоактивного ґрунту щорічно (2004-2006 рр.) відбирались з ділянок зони відчуження ЧАЕС, які мали різну щільність забруднення радіоізотопами: ПЗРВ “Підлісний”, ділянка № 1 – 806,8; ПЗРВ “Підлісний”, ділянка № 2 – 74,4; ПЗРВ “Буряківка” – 7,7 кБк/кг. Сумарна питома активність контрольного ґрунту становила 0,29 кБк/кг.

Оцінку хронічного впливу радіонуклідних забруднень проводили при вивченні частоти і спектра хромосомних аберацій в апексах первинних коренів насіння з рослин, які протягом всього вегетаційного періоду 2005-2006 року зазнавали хронічної дії радіації за типом гамма-поля на вищевказаних полігонах.

Контрольні ділянки розташовувалися на полях дослідного сільськогосподарського виробництва (ДСВ) Інституту фізіології рослин і генетики НАН України (сmt. Глеваха Васильківського району Київської області, зона північного Лісостепу України), де протягом багатьох років вивчається спонтанний рівень мутаційної мінливості у рослин озимої пшениці.

Опромінене насіння пророщувалося на фільтрувальному папері при температурі 20-22 °С. Фіксацію коренів проводили через 38, 40, 42 год після замочування. Матеріал фіксували в

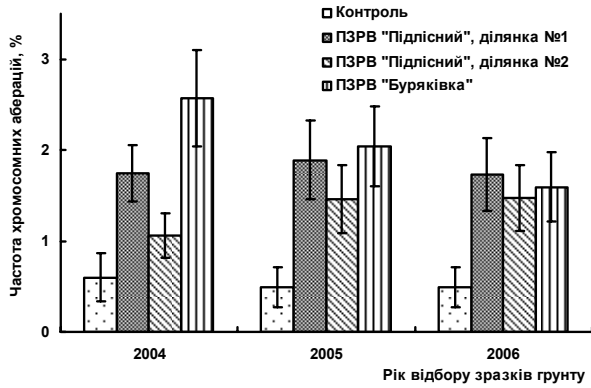


Рис. 1. Частота хромосомних аберацій у сорту Альбатрос одеський за умов пролонгованого впливу радіонуклідних забруднень сухого ґрунту

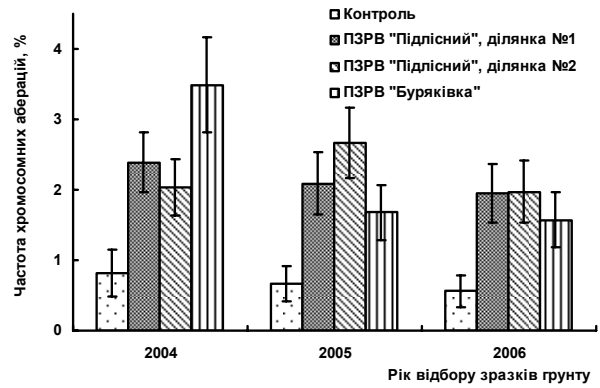


Рис. 2. Частота хромосомних аберацій у сорту Альбатрос одеський за умов пролонгованого впливу радіонуклідних забруднень вологого ґрунту

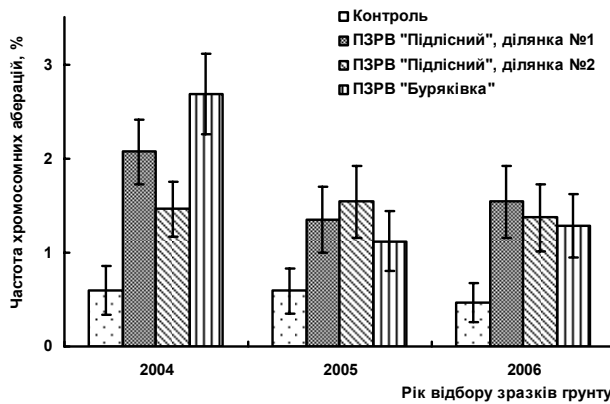


Рис. 3. Частота хромосомних аберацій у сорту Донецька 48 за умов пролонгованого впливу радіонуклідних забруднень сухого ґрунту

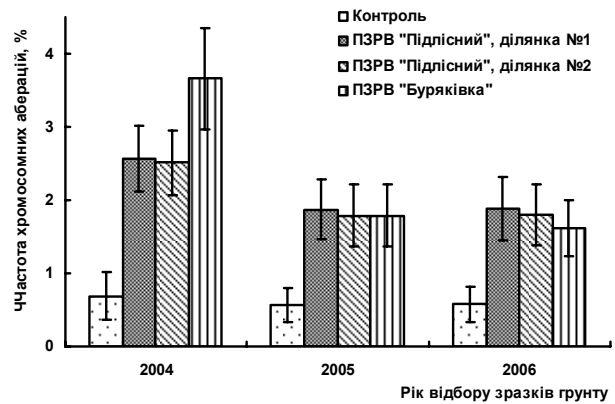


Рис. 4. Частота хромосомних аберацій у сорту Донецька 48 за умов пролонгованого впливу радіонуклідних забруднень вологого ґрунту

ацетоалкоголі (суміш льодяної оцтової кислоти та етилового спирту у співвідношенні 1:3), мацерацію тканин проводили в 1 н НСІ за температури 60°C протягом 1хв на водяній бані. Корені фарбували в ацетокарміні. Оцінка частоти і спектра хромосомних аберацій проводилась за допомогою ана-телофазного аналізу на тимчасових давлених препаратах кореневих апексів 1-2 мм завдовжки. Обсяг вибірок становив понад 500 клітин на варіант [7].

Кількість аберантних клітин (Ч, %) визначали за формулою:  $Ч = A \times 100 / B$ , де А – кількість клітин з порушеннями; В – загальна кількість вивчених клітин.

Математичну обробку результатів проводили за стандартними методами [4].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

В ході роботи нами було встановлено, що радіонуклідні забруднення ґрунту із Черно-

бильської зони відчуження за умов пролонгованого впливу на насіння озимої пшениці здатні викликати появу хромосомних порушень, частота яких у декілька разів перевищує спонтанний рівень.

Так, у сорту Альбатрос одеський частота хромосомних аберацій за умов пролонгованого впливу радіонуклідів сухого ґрунту у різні роки досліджень перевищувала контрольний рівень у 1,8-4,3 раза; за умов пролонгованого впливу вологого ґрунту – у 2,5-4,3 раза (рис. 1, 2). При цьому частота хромосомних порушень у різні роки досліджень не залежала від щільності забруднення ґрунту радіоізотопами.

Подібна картина спостерігалася і у сорту Донецька 48 (рис. 3, 4). Експозиційна дія радіонуклідів сухого ґрунту спричинила появу хромосомних аберацій з частотою, яка перевищувала спонтанний рівень у 1,9-4,5 раза; витримування насіння у вологому ґрунті викликало перевищення відповідних величин контролю у

## ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ МОНІТОРИНГ ХРОСОМНИХ ПОРУШЕНЬ

### Частота і спектр хромосомних аберацій за умов хронічного впливу радіонуклідних забруднень в зоні аварії ЧАЕС

Сорт	Частота хромосомних аберацій, %	Спектр хромосомних аберацій				Відстаючі хромосоми, %
		Фрагменти, %		Мости, %		
		поодинокі	парні	хроматидні	хромосомні	
<b>Смт. Глеваха, контроль</b>						
Альбатрос одеський	0,37±0,18	0,27±0,16	0,0	0,09±0,08	0,0	0,0
Донецька 48	0,46±0,21	0,28±0,16	0,0	0,18±0,13	0,0	0,0
<b>ПЗРВ „Підлісний”, ділянка №1</b>						
Альбатрос одеський	2,18±0,47*	0,21±0,15	0,52±0,23*	1,14±0,34*	1,04±0,33*	0,0
Донецька 48	2,26±0,47*	0,21±0,14	0,62±0,24*	1,33±0,36*	1,13±0,33*	0,0
<b>ПЗРВ „Підлісний”, ділянка №2</b>						
Альбатрос одеський	1,87±0,42*	0,29±0,16	0,49±0,42	1,18±0,34*	0,20±0,14	0,10±0,10
Донецька 48	1,51±0,39*	0,10±0,10	0,30±0,17	1,10±0,35*	0,20±0,14	0,20±0,14
<b>ПЗРВ „Буряківка”</b>						
Альбатрос одеський	0,97±0,29	0,18±0,13	0,44±0,17*	0,26±0,15	0,09±0,09	0,0
Донецька 48	1,22±0,32*	0,09±0,09	0,61±0,23*	0,44±0,19	0,09±0,09	0,0

\* - Різниця з контролем статистично достовірна при  $P_{0,05}$

2,1-5,3 рази. Частота хромосомних порушень, як і у сорту Альбатрос одеський, не залежала від рівня радіаційного забруднення ґрунту.

Радіонуклідні забруднення за умов пролонгованого впливу здатні індукувати широкий спектр хромосомних аберацій. Зокрема, в нашій роботі було зафіксовано появу поодиноких і парних фрагментів, хромосомних і хроматидних мостів, відстаючих хромосом (таблиця). Серед виявлених типів аберацій переважали хромосомні і хроматидні мости та парні фрагменти.

Дані типи хромосомних перебудов є типовими для радіаційного мутагенезу. Крім того, такі типи хромосомних порушень, як мости не спричиняють проліферативної загибелі клітин, тому їх можна фіксувати у наступних поколіннях ураженої клітини [3].

При порівнянні результатів трирічних досліджень спостерігали тенденцію до незначного зниження частоти хромосомних аберацій у 2006 р. відносно 2004 р. Крім того, у 2006 р. в обох сортах виявили вирівнювання значень частоти аберацій в усіх варіантах за умов пролонгованого впливу радіонуклідів як сухого, так і вологого ґрунтів. Причиною даного явища мо-

же бути більш рівномірний вертикальний і горизонтальний розподіл радіонуклідів за профілем ґрунту за рахунок його механічного обробітку, який проводився при вирощуванні рослин озимої пшениці на даних територіях. Обробіток ґрунту міг спричинити зниження щільності забруднень, і як наслідок, зниження дозових навантажень на насіння.

Також проводили вивчення частоти і спектра хромосомних аберацій в кореневих апексах насіння озимої пшениці, отриманого від рослин, які протягом всього вегетаційного періоду 2005-2006 р.р. вирощувалися на територіях зони відчуження Чорнобильської АЕС з різним рівнем радіонуклідного забруднення. За даних умов рослини зазнавали хронічного впливу іонізуючого випромінювання різних експозиційних потужностей за типом гамма-поля.

Як видно з таблиці у варіанті з найбільшим радіаційним фоном (ПЗРВ „Підлісний”, ділянка №1) частота хромосомних перебудов у сорту Альбатрос одеський перевищує значення контрольного варіанта у 5,9 рази, у сорту Донецька 48 – в 4,9 рази, тоді як у варіанті з найменшою потужністю експозиційної дози (ПЗРВ „Буряківка”) частота аберацій перевищувала

спонтанний рівень лише у 2,6-2,7 раз. Отримані дані показують наявність кореляційної залежності між рівнем радіаційного забруднення території та частотою хромосомних порушень.

У спектрі аберацій такої залежності не виявлено. Серед типів хромосомних перебудов переважну більшість становили парні фрагменти та хроматидні мости, частота появи яких не залежала від фонових значень радіаційного забруднення території.

На підставі результатів наших досліджень можна зробити висновок, що живі організми Чорнобильської зони відчуження, незважаючи на стабілізацію радіаційної обстановки, зазнають хронічного радіаційного пресингу. Це спричиняє появу ряду генетичних порушень, в тому числі й хромосомних, накопичення яких створює генетичний тягар для популяцій рослин і тварин.

### ЛІТЕРАТУРА

1. *Бар'яхтар В.Г.* Масштабы катастрофы. Социально-экономические последствия катастрофы // Чернобыльская катастрофа. – К.: Наук. думка, 1995. – 559 с.
2. *Воробцова И.Е.* Трансгенерационная передача радиационно-индуцированной нестабильности генома // Радиационная биология. Радиэкология. – 2006. – Т. 46, №4. – С. 441-446.
3. *Гродзінський Д.М.* Радиобіологія. – К.: Либідь, 2000. – 448 с.
4. *Доспехов Б.А.* Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
5. *Киндзельский Л.П., Зверькова А.С., Сивкович С.А. и др.* Острая лучевая болезнь в условиях Чернобыльской катастрофы. – Киев: Телеоптик, 2002. – 223 с.
6. *Моргун В.В., Логвиненко В.Ф.* Мутационная селекция пшеницы. – Киев: Наукова думка, 1995. – 650 с.
7. *Паушева З.П.* Практикум по цитологии растений. – М.: Агропромиздат, 1988. – 271 с.
8. *Пелевина И.И., Готлиб В.Я., Конрадов А.А.* 20 лет изучения последствий Чернобыльской аварии – это много или мало для оценки их характера и масштабов // Радиационная биология. Радиэкология. – 2006. – Т. 46, №4. – С. 240-247.
9. *Сусков И.И., Кузьмина Н.С., Сускова В.С. и др.* Проблема индуцированной геномной нестабильности как основы повышенной заболеваемости у детей, подвергшихся низкоинтенсивному воздействию радиации в малых дозах // Там же. – Т. 46, № 2. – С. 167-177.
10. *Федорова Н.Б.* Мутация в онтогенезе и радиационно-индуцированная нестабильность у *Drosophila melanogaster* // V съезд по радиационным исследованиям (радиобиология, радиэкология, радиационная безопасность), Москва, 10-14 апр., 2006 г.: Тез. докл.– М., 2006. – Т. 1. – С. 75.
11. *Fomenko L.A., Lomaeva M.G., Bezlepkin V.G., Gaziev A.I.* Study of radiation induced genome instability in the F1 progeny of ionizing radiation-exposed mice depending on the sex of parents // The 35<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Radiation Research Society and the 4<sup>th</sup> Annual Meeting of the Ukrainian Society for Radiation Biology, 22<sup>nd</sup> to 25<sup>th</sup> August 2006 Kyiv, Ukraine: Programme & Abstracts. – Kyiv, 2006. – P. 28.
12. *Konoplya E.F.* Low-intensity ionizing radiation effect on organism // Ibid. – P. 169.
13. *Kravetz E., Grodzinsky D., Kolomiets O.* Cell selection in the plants with genetic instability induced chronic irradiation // Ibid. – P. 47.
14. *Sorochinsky B.* Are there genetic consequences after the Chernobyl accident // Ibid. – P. 208.

Надійшла до редакції  
12.05.2007 р.

### CITOGENETIC MONITORING OF CHROMOSOMAL DAMAGES INDUCED BY RADIOCHEMICAL CONTAMINANTS OF CHERNOBYL ACCIDENT EMISSION UNDER DIFFERENT CONDITIONS OF INFLUENCE

S. P. Bratuschak, V. V. Morgun

*Institute of Plant Physiology and Genetics  
of National Academy of Sciences of Ukraine  
(Kyiv, Ukraine)*

Citogenetic monitoring of chromosomal aberrations induced by radiochemical contaminants of Chernobyl accident emission in alienation zone of Chernobyl nuclear heating plant was carried out. Radiochemical contaminants under long-term influence caused the chromosomal damages with fre-

## **ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ МОНИТОРИНГ ХРОМОСОМНИХ ПОРУШЕНЬ**

quency 1,8-5,3 times more than spontaneous level of aberrations. It was discovered that the frequency of chromosomal aberrations under chronic influence varies from 0,97 to 2,26 %.

**Key words:** *Triticum aestivum L., radiochemical contaminants, long-term and chronic influence, chromosome aberrations, frequency and spectrum of aberration*

## **ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ХРОМОСОМНЫХ НАРУШЕНИЙ В КЛЕТКАХ КОРНЕВЫХ АПЕКСОВ ПШЕНИЦЫ, ИНДУЦИРОВАННЫХ РАДИОНУКЛИДНЫМИ ЗАГРЯЗНЕНИЯМИ ЧЕРНОБЫЛЬСКОГО АВАРИЙНОГО ВЫБРОСА ПРИ РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ**

С. П. Братушак , В. В. Моргун

*Институт физиологии растений и генетики  
Национальной академии наук Украины  
(Киев, Украина)*

Проводили цитогенетический мониторинг хромосомных aberrаций, индуцированных радионуклидными загрязнениями Чернобыльского аварийного выброса в зоне отчуждения ЧАЭС. Установлено, что радионуклидные загрязнения почвы при условии пролонгированного воздействия на семена озимой пшеницы разных сортов вызывают появление хромосомных нарушений в корневых апексах с частотой, которая у 1,8-5,3 раза превышает спонтанный уровень aberrаций. Частота хромосомных aberrаций при условии хронического воздействия колеблется в пределах 0,97 – 2,26 %.

**Ключевые слова:** *Triticum aestivum L., радионуклидные загрязнения, пролонгированное воздействие, хроническое воздействие, хромосомные aberrации, частота и спектр aberrаций*