

ВОСТОЧНО-УРАЛЬСКИЙ РАДИОАКТИВНЫЙ СЛЕД: СОВРЕМЕННЫЕ УРОВНИ РАДИОАКТИВНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ

Вера Н. Позолотина, Елена В. Антонова и Инна В. Молчанова

Институт экологии растений и животных Уральского Отделения Российской академии наук,
620144 Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202, Россия**EAST-URAL RADIOACTIVE TRACE (EURT): RECENT LEVELS OF RADIOACTIVE CONTAMINATION AND BIOLOGICAL EFFECTS**

Vera N. Pozolotina, Elena V. Antonova and Inna V. Molchanova

Institute of Plant & Animal Ecology, Ural Division of Russian Academy of Sciences

620144 Yekaterinburg, 8 Marta st., 202, Russia

Abstract

One of the most serious nuclear accidents took place at Kyshtym in the southern Urals in 1957. About 74 PBq of radioactive substances were released into the atmosphere, which resulted in the contamination of a vast area. The results of our study have shown that the stocks of ^{90}Sr and ^{137}Cs in the frontal part of the EURT are 6700-15000 and 200-400 kBq/m², respectively. The coefficients of their accumulation in different herbaceous plant species in this impact zone are lower than in other areas. The accumulative capability of plants has probably decreased in the course of selection as an adaptation to the effect of radiation. In our investigation the following rates of plant seed progeny were studied: viability, radioresistance and mutability. Besides that genetic structure of plant populations was studied.

*Coenopopulations chronically exposed to radiation are characterized by a higher mutation rate in the progeny and an unstable response to additional acute irradiation in most characters studied. The coenopopulation of *Plantago major* L. of the impact zone is characterized by a lower variation of allozyme loci. Meanwhile coenopopulations *Taraxacum officinale* s.l. from zone EURT had increased variability of enzymes systems and high frequency of rare morphs.*

Key words: radionuclides, Kyshtym accident, East-Ural Radioactive Trace, soils, plants, enzyme structure, viability, mutability, radioresistance.

ВВЕДЕНИЕ

К основным загрязнителям живых и косных компонентов биосферы относятся техногенные радионуклиды, вовлекаемые в биологический круговорот на разных этапах ядерно-топливного цикла, особенно в случаях радиационных инцидентов. В зонах воздействия ядерных предприятий оказались обширные пространства с различными ландшафтно-климатическими условиями. Одной из таких зон является Уральский регион (Российская Федерация), в котором сложилась особая радиоэкологическая ситуация. В настоящее время здесь функционирует несколько ядерных предприятий. Крупнейшим центром является Производственное Объединение «Маяк», созданное в конце 40-х годов для производства оружейного плутония и переработки делящихся материалов. На первых этапах его работы произошло несколько масштабных ядерных инцидентов, обусловивших радиоактивное загрязнение окружающей среды.

29 сентября 1957 г. на ПО «МАЯК» из-за нарушения системы охлаждения и саморазогрева взорвалась емкость, содержащая 74×10^{16} Бк радиоактивных отходов. Облако, двигаясь в

северо-восточном направлении, рассеялось, и 10 % исходного количества осело на территории Челябинской, Свердловской и Тюменской областей [1]. Так сформировался Восточно-Уральский радиоактивный след (ВУРС) протяженностью 300 км и площадью 23 тыс. км² при плотности загрязнения ⁹⁰Sr (основной долгоживущий радионуклид) на границе 37·10⁸ Бк/км², инцидент получил название Кыштымская авария.

Начиная с 1951 г. в качестве хранилища радиоактивных отходов на ПО «Маяк» стали использовать небольшой естественный водоем – оз. Карачай. Из-за большого объема сбросов площадь зеркала водоема в отдельные годы в два раза превышала первоначальную. В 1967 г. после малоснежной зимы наступило жаркое и засушливое лето, оз. Карачай сильно обмелело, береговая полоса обнажилась. Мелкий песок и ил, загрязненные радионуклидами, поднимались ветром с его берегов и переносились на значительные расстояния, формируя пятнистое загрязнение территории. Общий вынос радиоактивных материалов оценен примерно в 22·10¹² Бк, в его составе преобладал ¹³⁷Cs. Большая часть радионуклидов выпала в пределах ВУРСа.

Спустя 9 лет после Кыштымской аварии в головной части ВУРСа был организован Восточно-Уральский государственный заповедник, который фактически стал полигоном для экспериментов в природе, аналогов которому нет нигде в мире. Вследствие режима секретности лишь отдельные научные результаты, полученные в зоне ВУРСа, публиковались в открытой печати, как правило, без указаний местности и условий ее загрязнения. Обобщенные результаты исследований появились в конце XX в. [1-4].

Цель настоящей работы – оценить современные уровни и характер распределения радионуклидов в почвенно-растительном покрове Восточно-Уральского радиоактивного следа, исследовать особенности популяций травянистых растений (на примере подорожника большого и одуванчика лекарственного) и выявить эколого-генетические пути их адаптации к хроническому действию радиации.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обширная территория ВУРСа была загрязнена неравномерно. Для удобства интерпретации результатов радиоэкологического исследования было проведено ее ранжирование по уровню содержания радионуклидов, т. е. выделены импактная, буферная и фоновая зоны (рис. 1). К импактной зоне отнесена территория государственного заповедника (14-30 км от эпицентра аварии). Буферная – примыкает к импактной, на ней прослеживается падение градиента концентраций радионуклидов до фонового уровня (30-100 км). Фоновые участки расположены вне зоны загрязнения, мощность экспозиционной дозы здесь формируется в основном за счет глобальных выпадений.

Для оценки уровней радионуклидного загрязнения закладывали полнопрофильные почвенные разрезы, приурочивая их к разным типам экосистем или выраженным элементам ландшафта. Пробы отбирали слоями до глубины 50-60 см с учетом площади и границ генетических горизонтов. В непосредственной близости от разрезов были отобраны образцы разнотравья и отдельно некоторые виды травянистых растений.

Во всех отобранных образцах содержание ⁹⁰Sr определяли радиохимически по дочернему ⁹⁰Y, а ¹³⁷Cs – с использованием многоканального гамма-анализатора фирмы Canberra с полупроводниковым детектором. Статистическая ошибка измерения не превышала 15 %, а предел обнаружения радионуклидов составлял 1 Бк/кг.

Для изучения путей адаптации живых объектов к хроническому действию радиации выбраны ценопопуляции подорожника большого и одуванчика лекарственного, поскольку они представлены на всех исследованных участках. Подорожник большой (*Plantago major* L.) достаточно чувствителен к облучению и не вовлекался ранее в радиоэкологические исследования. Вид многолетний, диплоидный ($n = 6$), размножается половым путем, при этом

преобладает самоопыление [5]. Одуванчик лекарственный (*Taraxacum officinale* s.l.) – более устойчивый к облучению многолетний повсеместно распространенный поликарпик из семейства Asteraceae. Вид полиморфный, триплоидный ($n = 8$), размножается путем нередуцированного партеногенеза без псевдогамии [6]. Используя данные о концентрациях радионуклидов в 5-см слое почвы, рассчитывали дозовые нагрузки на меристематические ткани.



Рис. 1. Карта-схема района исследования на территории ВУРСа.

1 – импактная зона, Восточно-Уральский радиоактивный заповедник;
 трансекты буферной зоны: 2 – центральная, 3 – западная, 4 – восточная.

Для изучения изменчивости жизнеспособности семян их собирали индивидуально с 10 растений в каждой ценопопуляции и проращивали методом рулонной культуры в течение 30 дней, фиксируя энергию прорастания и всхожесть семян, выживаемость проростков, число растений с настоящим листом, длину корня и частоту встречаемости морфологических нарушений у проростков. Для оценки радиостойкости семенного потомства растений дополнительно облучали смесь семян из каждой ценопопуляции в дозах 100, 200, 300 Гр, проращивая их в лабораторных условиях и учитывая перечисленные выше показатели. Полученные данные обрабатывали статистически с помощью программ Excel и STATISTICA 6.0.

Кроме этого, для изучения аллозимной структуры ценопопуляций подорожника отбирали семена растений, произрастающих на расстоянии 3-14 м друг от друга вдоль трансект длиной 500-800 м, выборки включали 70-100 растений. Аллозимный анализ ADH (E.C.1.1.1.1), EST (E.C.3.1.1.1), GDH (E.C.1.4.1.2), GOT (E.C.2.6.1.1), 6-PGDH (E.C.1.1.1.44), PGI (E.C.5.3.1.9), SDH (E.C.1.1.1.25), DIA (E.C.1.8.1.4), IDH (E.C.1.1.1.42), PGM (E.C.5.4.2.2) проводили на проростках в 6,4%-ном ПААГ в трис-ЭДТА-боратной системе [7]. Гистохимическое окрашивание образцов осуществляли по стандартным методикам [8]. Для исследуемых локусов

были рассчитаны частоты аллелей (p), среднее число аллелей на локус (N_A), средняя гетерозиготность (H_O – наблюдаемая и H_E – ожидаемая), число локусов с достоверным отклонением генотипов от теоретически ожидаемого распределения (N_{HW}). Межпопуляционные различия оценивали при помощи F-статистики Райта [9], коэффициентов генетических расстояний [10], а также при анализе таблиц сопряженности. Статистическая обработка данных была проведена в программе BIOSYS-1 [11]. Для аллозимного анализа у одуванчика EST (E.C.3.1.1.1), FDH (E.C.1.2.1.2), GDH (E.C.1.4.1.2), GOT (E.C.2.6.1.1), 6-PGDH (E.C.1.1.1.44), PGI (E.C.5.3.1.9) использовали этиолированные листья, полученные в лабораторных условиях при +5-7° из материнских растений (выборки по 70-120 экземпляров). Поскольку одуванчик – триплоид, зимограммы анализировали как аллозимные фенотипы. Для каждой ценопопуляции одуванчика были рассчитаны индекс фенотипического разнообразия и доля редких морф [12]. Клоны выделяли по идентичным мультилокусным аллозимным фенотипам. Полученные данные обрабатывали статистически с помощью программ Excel и STATISTICA 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1.1. Уровни загрязнения почвенно-растительного покрова

Фоновая зона. В каждом регионе фоновый уровень радионуклидного загрязнения определяется помимо глобальных, еще и локальными выпадениями. По данным UNSCEAR (1982) в широтном поясе между 50° и 60° северной широты интегральная плотность загрязнения ^{90}Sr с учетом радиоактивного распада составляет 1,5 кБк/м². Соответственно уровень содержания ^{137}Cs в 1,6 раз больше, т.е. 2,4 кБк/м². В качестве фоновых нами были выбраны два участка: первый расположен на старопахотном поле к 120 км на запад от места аварии, а второй – в сосново-березовом лесу на расстоянии 55 км к югу. На этих участках содержание ^{90}Sr равно 1,6 кБк/м², т.е. близко к уровню, обусловленному глобальными выпадениями. Однако концентрации ^{137}Cs оказались более высокими, на первом участке 5 кБк/м², а на втором 4 кБк/м². Можно констатировать, что фоновый уровень загрязнения почвенно-растительного покрова ^{137}Cs на Урале выше, чем в европейских странах на той же географической широте. Гамма-фон на этих участках составлял 7-10 мкР/ч, бета-фон не превышал 10 частиц/мин⁻¹см⁻².

Импактная зона. Обследованная территория охватывала участки, прилегающие к оз. Бердяниш (13 км от эпицентра аварии, географические координаты – 55°46'с.ш., 60°53'в.д.) и оз. Урускуль (20 км, географические координаты – 55°49'с.ш., 60°55'в.д.). Гамма-фон на участках составлял 14-75 мкР/ч, единичные измерения достигали 154 мкР/ч. Бета-фон варьировал от 83 до 457 частиц/мин⁻¹см⁻². В береговой зоне озер преобладают субаквальные примитивные слабо-задернованные почвы легкого механического состава. Почвенный покров на территориях, удаленных от озер, представлен нативными и антропогенно-нарушенными старопахотными серыми и темно-серыми лесными почвами. Растительные сообщества представлены березовыми, смешанно березово-сосновыми лесами и колками, а также остепненными лугами с элементами рудеральной растительности и вторичными разнотравно-злаковыми лугами с многоярусным травянистым покровом и 100%-ным проективным покрытием.

Таблица 1. Запас радионуклидов в почвах экосистем импактной зоны, кБк/м²

Участок	⁹⁰ Sr	¹³⁷ Cs	⁹⁰ Sr/ ¹³⁷ Cs
Береговая зона оз. Бердяниш, расстояние от уреза воды, м:			
4	270	58	4.6
8	3 200	310	10.3
10	5 036	300	16.7
20	16 690	700	23.9
Береговая зона оз. Урускуль	2 322	133	17.4
Суходольный разнотравно-злаковый луг:			
нативный	14 900	373	40.0
антропогенно-нарушенный	6 740	201	33.5
Опушка леса	10 606	412	25.7
Березовый лес	8 157	309	26.3

Для импактной зоны характерна высокая неоднородность радионуклидного загрязнения (табл. 1). Суммарный запас основного загрязнителя ⁹⁰Sr значительно выше, чем ¹³⁷Cs. Наиболее низкие содержание и соотношение радионуклидов обнаружены в часто затопляемой ближней береговой зоне озера. Эту особенность можно объяснить тем, что данная зона находится в понижении, частично изолированном от площади водосбора. Значительный (2-3 м) перепад высот нарушает направленность стоковых процессов. По мере удаления от озера содержание радионуклидов, а также величина отношения ⁹⁰Sr/¹³⁷Cs в почвах возрастает. Уже на расстоянии 20 м от береговой линии запас ⁹⁰Sr в почве приближается или превышает таковой в почвах водосборной площади. На таких участках наибольший запас ⁹⁰Sr отмечен для старопашотной нативной почвы суходольного луга.

Облесенность территории, так же как и ее антропогенное нарушение, приводит к снижению запасов ⁹⁰Sr. В лесных массивах это может быть связано с тем, что определенная доля поллютантов очень прочно задерживается корой деревьев [13]. Минимальный запас ¹³⁷Cs обнаружен в антропогенно-нарушенных почвах. Анализ распределения радионуклидов по глубине почвенных профилей показал, что, как правило, основное их количество, достигающее 99 % в расчете от суммарного запаса, удерживается в 20-см корнеобитаемом слое. Спустя 47 лет после загрязнения лишь в субкавальных почвах береговой зоны озера и в почвах, испытавших антропогенное воздействие, 13-20 % ⁹⁰Sr обнаружено за пределами этого слоя.

ТАБЛИЦА 2. ЗАПАС РАДИОНУКЛИДОВ В ПОЧВАХ ЭКОСИСТЕМ БУФЕРНОЙ ЗОНЫ, КБК/М²

Участок	Расстояние от эпицентра, км	⁹⁰ Sr	¹³⁷ Cs	⁹⁰ Sr/ ¹³⁷ Cs
Заболоченный разнотравно-злаковый луг	32	2 068.0	93.0	22.2
Березовый колок	34	397.0	22.0	18.0
Березовый лес	35	6.0	7.3	0.8
Березовый колок	37	4.6	8.9	0.5
Суходольный разнотравно-злаковый луг	41	8.2	17.8	0.5
Разнотравно-злаковый луг	53	17.8	16.4	1.1
Сухотравный сосновый лес	66	26.0	10.1	2.6
Березовый лес	73	112.0	9.9	11.3

Разнотравно-злаковый луг	74	3.0	6.4	0.5
Заболоченный разнотравно-злаковый луг	80	119.0	6.5	18.3
Березовый колос	85	4.0	12.3	0.3
Березовый колос	86	63.4	10.8	5.9
Береговая зона оз. Тыгиш	88	211.2	20.0	10.6
Береговая зона оз. Сунгуль	93	13.8	12.6	1.1
Разнотравно-злаковый луг	100	57.0	8.0	7.1
Разнотравно-злаковый луг	110	3.2	9.3	0.3

Буферная зона. Эта территория имеет большую протяженность (30-120 км к северо-востоку от эпицентра). При обследовании ее были выделены центральная трансекта шириной 8-10 км, а также восточная и западная периферии (см. рис.1). В пределах центральной оси ВУРСа обследовали почвы водосборных территорий, береговых зон нескольких озер, участки лесных и луговых сообществ. Гамма-фон на этих площадках составлял 10-25 мкР/ч. Математическая обработка данных показала, что в целом градиент падения плотности загрязнения почвенного покрова радионуклидами хорошо выражен, он прослеживается на расстоянии более 100 км, изменение содержания ^{90}Sr и ^{137}Cs в пределах центральной оси подчиняется экспоненциальной зависимости [14].

В то же время участки, расположенные на небольшом удалении друг от друга, зачастую характеризуются различиями в содержании радионуклидов на порядки величин (табл. 2). Отметим, что некоторые площадки в большей степени загрязнены ^{90}Sr (реперный радионуклид Кыштымской аварии), а другие – ^{137}Cs (реперный радионуклид инцидента на оз. Карачай). Используя анализ изотопных отношений, ранее мы рассчитали вклад каждого инцидента в загрязнение этой территории [4]. От Кыштымской аварии в окружающую среду поступило не менее 500×10^{12} Бк ^{90}Sr , а от ветрового переноса с оз. Карачай около $72 \cdot 10^{12}$ Бк ^{137}Cs .

Вариабельность плотности загрязнения объясняется мозаичностью выпадений, рекультивационными мероприятиями, выполненными в первые годы после аварии, и различиями в типах экосистем [15]. Так, почвы лесных экосистем загрязнены в большей степени, чем луговых и степных. Изучение ландшафтного перераспределения радионуклидов в береговых зонах озер показало, что запасы ^{90}Sr в прибрежных почвах в 2 раза выше, чем на водораздельном пространстве. Дифференциация малоподвижного ^{137}Cs в геохимических сопряжениях не выражена. На западной периферии ВУРСа содержание ^{90}Sr варьирует от 1.5 до 2.9 кБк/м^2 , а на территории восточной периферии следа оно находится на уровне фоновых значений.

1.2. Накопление радионуклидов растениями

Сравнение накопительной способности травянистых растений в градиенте радионуклидного загрязнения показало, что концентрации ^{90}Sr в надземной массе растений импактной зоны в среднем в тысячу и более раз выше, чем у растений буферного и фонового участков (табл. 3); для ^{137}Cs эти различия меньше. Содержание ^{90}Sr в растениях буферной зоны выше, чем на фоновом участке: попарное сравнение по коэффициенту Стьюдента выявило достоверные различия ($p < 0.05$). Среди изученных видов максимальные количества ^{90}Sr и ^{137}Cs накапливает крапива двудомная. Подорожник большой и одуванчик лекарственный также обладают способностью к повышенному накоплению ^{90}Sr , что делает их удобными тест-объектами для радиобиологических исследований.

Используя формальный критерий – коэффициент накопления (КН), сравнили накопительную способность исследованных растений (см. табл. 3). КН рассчитывали как отношение концентраций радионуклидов в надземной массе растений к их средней концентрации в 15-см слое почв. Во всех случаях коэффициенты накопления ^{137}Cs в 5-10 раз ниже, чем для ^{90}Sr , и примерно одинаковы на всех обследованных участках. Видно, что коэффициенты накопления ^{90}Sr в импактной зоне у всех видов достоверно ниже, чем в буферной и фоновой. Для совпадающих видов последних двух зон они оказались довольно близкими. Нам представляется очень важным установленное снижение коэффициентов накопления основного загрязнителя ^{90}Sr в импактной зоне. Можно предполагать, что эти особенности растений сформировались в процессе отбора при длительном воздействии радиационного фактора. Они позволяют организмам, испытывающим действие ионизирующих излучений, эффективнее защищать надземные органы, в частности наиболее чувствительные репродуктивные структуры. Механизмы, снижающие накопительную способность, разнообразны [16], и для их анализа требуются дополнительные исследования.

Различия в условиях произрастания растений приводят к формированию разных уровней дозовых нагрузок. Ниже, на примере тест-объектов – подорожника большого и одуванчика лекарственного, рассматриваются дозовые нагрузки и реакция на них ценопопуляций.

Таблица 3. Содержание и коэффициенты накопления радионуклидов в воздушно-сухой массе некоторых видов растений

Участок	Вид	^{90}Sr		^{137}Cs	
		Бк/кг	КН	Бк/кг	КН
Импактный	Крапива двудомная	134 148	1.5	960	0.4
	Подорожник большой	71 600	0.8	149	0.06
	Щавель конский	51 230	0.6	458	0.2
	Пижма обыкновенная	34 850	0.4	283	0.1
	Тысячелистник обыкновенный	20 190	0.2	190	0.1
	Костяника	50 675	0.8	676	0.3
	Одуванчик лекарственный	27 459	0.4	81	0.03
	Осока береговая	18 900	1.0	268	0.08
	Луговое разнотравье	18 260	0.2	144	0.06
	Лесное разнотравье	53 460	0.7	218	0.08
Буферный	Крапива двудомная	150	8.8	5	0.1
	Подорожник большой	400	13.2	8	0.3
	Щавель конский	37	3.4	3	0.1
	Одуванчик лекарственный	305	15.2	76	2.5
	Тростянка овсяницевидная	22	1.1	3	0.1
	Луговое разнотравье	29	1.2	6	0.1
Фоновый	Крапива двудомная	57.5	5.7	1	0.1
	Подорожник большой	13.0	1.6	2	0.1
	Одуванчик лекарственный	15.5	2.2	7.6	0.4
	Щавель конский	7	1.0	4	0.4

	Подмаренник настоящий	20	3.4	6	0.4
	Таволга вязолистная	7	1.0	2	0.1
	Лесное разнотравье	20	3.4	7	0.4

1.3. Оценка дозовых нагрузок.

При расчетах дозы облучения подорожника и одуванчика исходили из того, что их наиболее чувствительные меристематические ткани практически не поднимаются над поверхностью почвы. Поэтому допустимо использовать простую модель, предполагающую, что точка роста погружена в равномерно загрязненный объем. Отдельно рассчитывали вклад $^{90}\text{Sr}+^{90}\text{Y}$, а также вклад ^{137}Cs . При этом мощность поглощенной дозы составляет $M=q_1L_{(90\text{Sr}+90\text{Y})}+q_2L_{(137\text{Cs})}$, где q_1 и q_2 - измеренные удельные активности каждого радионуклида в поверхностном слое почвы, L - мощность поглощенной дозы, сГр/с, которую создает этот радионуклид внутри равномерно загрязненного объема при $q_0 = 3,7 \cdot 10^4$ Бк/г [17]. Как видно из табл. 4, вклад искусственных радионуклидов в дозовую нагрузку в буферной и импактной зонах ВУРСа в 20 и 2600 раз соответственно выше, чем на фоновом участке. Максимальная продолжительность жизни подорожника и одуванчика составляет примерно 20 лет, за этот период полная поглощенная доза для растений импактной ценопопуляции составит около 7 Гр, в буферной – 0.06 Гр, а в фоновой – 0.003 Гр.

Таблица 4. Содержание ^{90}Sr и ^{137}Cs в 5-см слое почвы и обусловленные ими дозовые нагрузки на меристематические ткани подорожника и одуванчика

Зона	Участок	Концентрация, Бк/кг		Мощность дозы, мкР/ч	Годовая доза, мГр
		^{90}Sr	^{137}Cs		
Импактная	Суходольный разнотравно-злаковый луг:				
	нативный	113 135	5 141	3 813	334.0
	антропогенно-нарушенный	122 750	5 516	4 135	362.2
	Опушка березового леса	141 550	7 040	4 792	419.7
БУФЕРНАЯ	БЕРЕЗОВЫЙ КОЛОК	646	314	31.7	2.8
Фоновая	Старопахотное поле	15	31	1.6	0.14

1.4. Биологические эффекты

1.4.1. Подорожник большой

Для фоновой ценопопуляции подорожника были характерны наибольшие показатели жизнеспособности семенного потомства. В табл. 5 представлены усредненные данные для 10 растений, семена которых проращивались индивидуально. По результатам статистического анализа (точный критерий сравнения долей и F-критерий) жизнеспособность семян буферной выборки была наименьшей ($N_{\text{buf}}=1500$; $p=0.0000-0.0026$). Значимые различия между импактными и фоновыми растениями отмечены по энергии прорастания и всхожести семян, по выживаемости проростков ($N_{\text{imp}}=1500$ и $N_{\text{fon}}=1500$; $p=0.0000-0.0075$). Импактная выборка по числу проростков с настоящими листьями ($p=0.33$) и по длине корней ($p=0.66$) была близка к фоновой ценопопуляции.

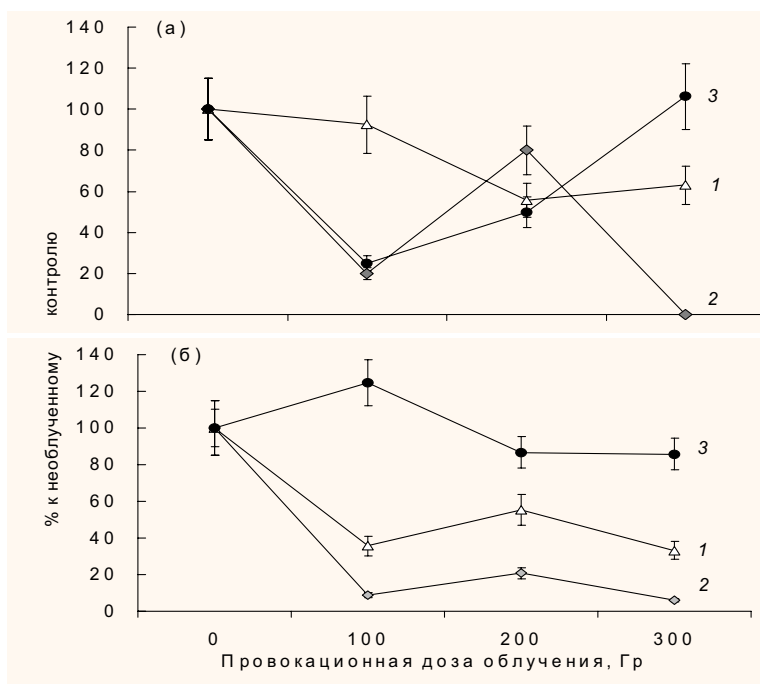
Таблица 5. Жизнеспособность семенного потомства подорожника

Ценопопуляция	Энергия прорастания, %	Всхожесть семян, %	Выживаемость проростков, %	Число проростков с листьями, %	Длина корня, мм
Фоновая	8.3±1.1	64.3±6.1	56.8±7.4	9.1±4.5	13.1±1.4
Буферная	1.9±1.3	35.1±12.9	33.1±10.8	4.1±2.4	9.8±1.7
Импактная	5.8±0.8	52.3±7.8	48.6±7.6	7.5±3.2	12.7±1.6

При оценке индивидуальной изменчивости жизнеспособности семенного потомства подорожника было установлено, что наибольшая вариабельность показателей характерна для хронически облучаемых выборок. Так, в фоновой ценопопуляции коэффициент вариации (*CV*) выживаемости проростков составил 16.5%, а в буферной и импактной – 50.5% и 19.5% соответственно.

Для выявления адаптационного потенциала подорожника из разных популяций использовали провокационное острое облучение семян в широком диапазоне доз. В ходе эксперимента наиболее яркая зависимость от облучения была обнаружена по выживаемости проростков, абсолютные данные преобразованы в проценты к собственному необлученному контролю (рис. 2а). Для фоновой выборки получена классическая S-образная зависимость выживаемости проростков от дозы облучения. Для растений буферной ценопопуляции была характерна «пилообразная» форма кривой «доза-эффект». Столь же парадоксальная зависимость «доза-эффект» получена и для импактной выборки: при облучении в наибольшей дозе выживаемость проростков не отличалась от необлученного контроля, в то время как при меньших дозовых нагрузках она была очень низка. Такой результат может свидетельствовать о высокой нестабильности генома растений в условиях хронического облучения.

Рис. 2. Изменчивость выживаемости (а) и длины корней (б) у проростков подорожника из фоновой (1), буферной (2) и импактной (3) ценопопуляций в зависимости от провокационного облучения.



Представляло интерес рассмотреть влияние облучения на скорость ростовых процессов у растений из разных ценопопуляций. Для фоновой и буферной выборок показано снижение длины корней с увеличением дозы (рис. 2б), при этом в буферной ценопопуляции подавляющий эффект выражен сильнее (F-критерий, $p=0.004-0.008$). У проростков импактной выборки при облучении во всем диапазоне доз длина корней была близка к необлученному контролю. Возможно, эти данные свидетельствуют о преадаптации семян из импактной ценопопуляции к действию радиации.

Учитывая все многообразие аномалий в развитии у проростков подорожника (изменения цвета семядолей и листьев, деформация формы всех органов, некрозы), мы установили, что в хронически облучаемых ценопопуляциях доля проростков с тератами была значимо больше, чем в фоновой выборке (F-критерий, $p=0.00001-0.00015$). Фоновый уровень проростков с некрозами корней составил 0.5%. Лимиты по этому показателю у растений фоновой ценопопуляции были 0.1-0.8%, в то время как буферной и импактной – 13.8-40.8% и 6.4-93.3% соответственно.

Между ценопопуляциями подорожника из зоны ВУРСа было обнаружено существенное различие по характеру развития некрозов корней. Так, в буферной выборке большинство нарушений скрыто и выявляется только при провокационном облучении, оно увеличилось относительно собственного необлученного контроля в три раза (рис. 3). В то же время в импактной ценопопуляции доля проростков с некрозами корней была высокой (около 55 %) как в контроле, так и в вариантах с облучением.

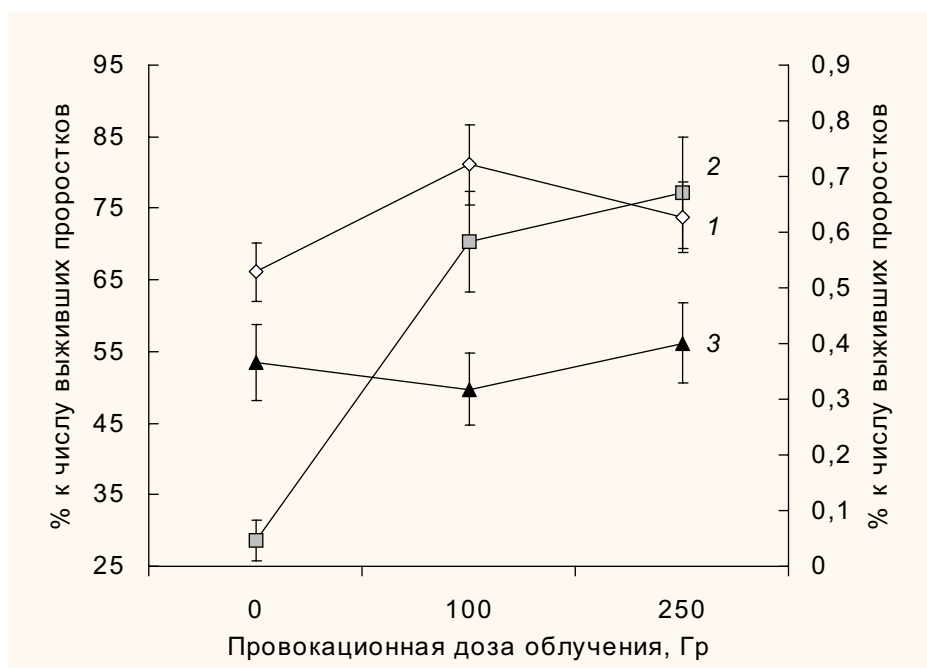


Рис. 3. Зависимость показателя «число проростков с некрозами корней» от дополнительного облучения в диапазоне доз. Фоновая выборка –1, буферная – 2, импактная – 3. Значения показателя для фоновой ценопопуляции отложены по вспомогательной оси (справа).

Полиморфизм ферментных систем в ценопопуляциях – важнейшая генетическая характеристика. Полиморфными у подорожника оказались три ген-ферментных локуса: Adh представлен двумя аллелями, Got-1 – двумя и Got-2 – тремя, остальные ферменты были мономорфны. Соотношение аллелей локуса Adh находится в равновесии только в фоновой

ценопопуляции (табл. 6). В то же время частоты встречаемости аллеля Adh₃ в хронически облучаемых выборках значимо превышают фоновый уровень (критерий сравнения долей, $p=0.0010-0.0162$) и близки между собой ($p=0.1909$). По частотам аллеля локуса Got-1₂ фоновая выборка близка к импактной ($p=0.1059$) и различается с буферной ($p=0.00001$). По частотам аллеля локуса Got-2₂ – фоновая и буферная не различаются между собой ($p=0.5616$), но отличны от импактной ($p=0.0002$). Можно предполагать независимый от радиационного фактора полиморфизм по двум локусам Got.

Анализ таблиц сопряженности показал, что по частотам встречаемости генотипов локусов Adh и Got-2 все исследованные нами ценопопуляции значимо различались между собой. По локусу Got-1 различия между фоновой и импактной были незначимы. При расчете теоретически ожидаемых частот генотипов было установлено, что в фоновой и буферной ценопопуляции ни по одному локусу не наблюдается соответствия принципу Харди-Вайнберга. В импактной выборке из-за полного отсутствия гомозигот по быстрому аллелю по двум локусам Got и наличия небольшого числа гетерозигот, содержащих этот аллель, отклонения от данного соотношения не отмечается (см. табл. 6).

Таблица 6. Частоты аллелей трех полиморфных локусов в ценопопуляциях подорожника

Локус	Аллель	Ценопопуляция			Результаты анализа таблиц сопряженности
		Фоновая (1)	Буферная (2)	Импактная (3)	
Adh	2	0.500	0.225	0.323	$\chi^2_{12}=15.87, df=2, p=0.0014$ $\chi^2_{13}=10.54, df=2, p=0.0051$ $\chi^2_{23}=8.99, df=2, p=0.0111$
	3	0.500	0.775	0.677	
	N	96	60	82	
	χ^2_{HW}	$\chi^2=38.13; df=1; p=0.0001$	$\chi^2=36.06; df=1; p=0.0001$	$\chi^2=10.96; df=1; p=0.001$	
Got-1	1	0.047	0.333	0.010	$\chi^2_{12}= 26.49, df=2, p=0.0000$ $\chi^2_{13}= 3.42, df=2, p=0.1806$ $\chi^2_{23}= 36.04, df=2, p=0.0000$
	2	0.953	0.667	0.990	
	N	96	60	96	
	χ^2_{HW}	$\chi^2=18.97; df=1; p=0.0001$	$\chi^2=44.40; df=1; p=0.0001$	$\chi^2=0.005; df=1; p=0.942$	
Got-2	1	0.141	0.250	0.031	$\chi^2_{12}= 10.19, df=4, p=0.0374$ $\chi^2_{13}= 23.89, df=4, p=0.0001$ $\chi^2_{23}= 23.16, df=2, p=0.0000$
	2	0.792	0.750	0.969	
	3	0.068	0.000	0.000	
	N	96	60	96	
	χ^2_{HW}	$\chi^2=31.16; df=3; p=0.0001$	$\chi^2=19.30; df=1; p=0.0001$	$\chi^2=0.083; df=1; p=0.774$	
Суммарно по локусам	$\chi^2=88.26; df=5; p=0.0001$	$\chi^2=94.76; df=3; p=0.0001$	$\chi^2=11.05; df=3; p=0.002$		

Примечание: N – объем выборки, χ^2_{HW} – отклонение распределения генотипов от ожидаемого на основании принципа Харди-Вайнберга. Жирным шрифтом выделены незначимые различия в распределениях генотипов (соблюдается принцип Харди-Вайнберга), а также между ценопопуляциями при анализе таблиц сопряженности генотипов.

Таблица 7. Показатели генетической изменчивости ген-ферментных локусов в ценопопуляциях подорожника большого

Ценопопуляция	P ₉₅ , %	P ₉₉ , %	N _A	H _O	H _E	n _c
Фоновая	18.18	27.27	1.36±0.20	0.043±0.025	0.086±0.052	1.09
Буферная	27.27	27.27	1.27±0.14	0.029±0.017	0.107±0.056	1.12
Импактная	9.09	27.27	1.27±0.14	0.033±0.025	0.047±0.040	1.05
Среднее	18.18	27.27	1.30±0.16	0.035±0.022	0.080±0.049	1.09

Примечание: P₉₅ и P₉₉ – процент полиморфных локусов при 95 и 99%-ных критериях значимости, N_A – среднее число аллелей на локус, средняя гетерозиготность (H_O – наблюдаемая, H_E – ожидаемая), n_c – эффективное число аллелей. Для N_A, H_O и H_E приведены стандартные ошибки.

На основании частот аллелей ген-ферментных локусов в каждой ценопопуляции подорожника были рассчитаны значения основных показателей генетической изменчивости (табл. 7). Среднее число аллелей на локус (N_A) составляет 1.30. Проведенное ранее исследование [5] американских и европейских популяций подорожника большого выявило близкое значений 1.24. В фоновой выборке среднее число аллелей на локус было больше (N_A=1.36) по сравнению с остальными ценопопуляциями, поскольку аллель Got-1₃ встречался только здесь. Наблюдаемая гетерозиготность в фоновой ценопопуляции была выше, чем в хронически облучаемых выборках. По данным Van Dijk с соавторами [5] средняя гетерозиготность подорожника большого составила 0.047, что хорошо согласуется с показателем, установленным для фоновой выборки.

Наименьший процент полиморфных локусов (при 95%-ном уровне значимости) был характерен для импактной ценопопуляции, а наибольший – для буферной. Сходная ситуация была обнаружена нами при расчете эффективного числа аллелей. Трехкратное превышение в импактной выборке доли полиморфных локусов при P₉₉ над P₉₅ свидетельствует о наличии в ней редких аллелей.

Во всех исследованных ценопопуляциях подорожника наблюдаемая гетерозиготность (H_O) была в 1.4-3.7 раз ниже ожидаемой (H_E), что свидетельствует о высоком коэффициенте инбридинга. Причинами этого феномена могут быть: с одной стороны, смешение в выборке особей из нескольких субпопуляций, с другой, - отбор в ценопопуляциях в пользу гомозигот. Подтверждает этот факт индекс фиксации Райта [9]. В фоновой и буферной ценопопуляциях по всем локусам наблюдается преобладание гомозиготных генотипов (F_{WT}=0.343), а в импактной ценопопуляции – только по локусу Adh (F_{WT}=0.359). Дефицит гетерозиготных генотипов у каждой особи относительно ценопопуляции в целом (F_{IS}) составляет у подорожника 53.5%, а инбридинг особи относительно вида (F_{IT}) был несколько выше 57.4% (табл. 8). Коэффициент инбридинга популяции относительно вида в целом (F_{ST}) свидетельствует о том, что только 8.5% от выявленной генетической изменчивости распределяется между ценопопуляциями, а 91.5% ее реализуется за счет внутривидовой изменчивости.

Таблица 8. Значения коэффициентов F-статистик Райта для ценопопуляций *P. major* L.

Локус	F _{IS}	F _{IT}	F _{ST}
Adh	0.5611	0.5853	0.0552
Got-1	0.7045	0.7600	0.1879
Got-2	0.3852	0.4257	0.0659
Среднее по локусам	0.5347	0.5742	0.0848

Уровень генного потока, рассчитанный на основе коэффициента инбридинга популяции относительно вида (F_{ST}), низок и составляет примерно 3 мигранта на поколение. Отметим, что среднее значение F_{ST} для европейских и американских популяций *P. major* L. равно 0.232 [18], по другим данным – 0.216 [5]. Возможно, более высокие значения F_{ST} по сравнению с уральскими популяциями обусловлены географической изменчивостью подорожника.

По частотам аллелей импактная и фоновая ценопопуляции близки, генетическое расстояние $D=0.005$ [10]. Кроме того, были определены генотипы растений, то есть сочетание трех полиморфных локусов. В изученных ценопопуляциях всего обнаружено 20 генотипов, из них в фоновой выборке встречалось 17, в буферной – 13 и в импактной – 6. Во всех ценопопуляциях доминировали растения с разными гомозиготными генотипами. Это свидетельствует о снижении генотипического разнообразия в ценопопуляциях подорожника большого в повышающемся градиенте радионуклидного загрязнения и об усилении доминирования определенного генотипа. В популяциях радиочувствительных видов, к которым относится и подорожник большой, как правило, отбор в пользу радиоустойчивых организмов протекает более интенсивно, чем в популяциях радиорезистентных видов [19]. Возможно, этим объясняется установленное нами снижение генотипической изменчивости в импактной выборке подорожника и проявление эффекта преадаптации при провокационном облучении семенного потомства.

1.4.2. Одуванчик лекарственный

У одуванчика наиболее жизнеспособное семенное потомство сформировалось в фоновой ценопопуляции, а наименее – в импактной выборке (табл. 9). Значимые различия между буферной и фоновой ценопопуляциями были установлены по всем показателям (критерий сравнения долей, $p < 0.0001$), за исключением длины корня (F-критерий, $p=0.85$). Импактная и буферная, импактная и фоновая площадки различались между собой по всем показателям жизнеспособности семян ($p < 0.03$). В градиенте радионуклидного загрязнения наблюдается увеличение диапазона посемейной изменчивости показателей жизнеспособности, о чем свидетельствуют высокие коэффициенты вариации (CV). Так, по выживаемости проростков в фоновой ценопопуляции CV равен 11.6%, а в буферной и импактной выборках – 15.4 и 35.8% соответственно.

Таблица 9. Жизнеспособность семенного потомства одуванчика

Ценопопуляция	Всхожесть семян, %	Выживаемость проростков, %	Число проростков с листьями, %	Длина корня, мм
Фоновая	76.07±4.4	73.00±4.8	41.20±3.3	48.27±1.7
Буферная	57.47±6.1	52.33±5.7	31.73±4.2	47.51±3.8
Импактная	23.81±9.6	21.71±9.7	7.62±4.5	22.57±7.7

По всем показателям наибольшая чувствительность к провокационному облучению была характерна для семенного потомства одуванчика из головной части ВУРСа. Нестабильность в ответе на провокационное облучение, обнаруженную у буферной выборки по показателю «число проростков с настоящим листом», можно считать следствием действия малых доз ионизирующих излучений (рис. 4). Фоновой ценопопуляции одуванчика была свойственна классическая S-образная дозовая зависимость.

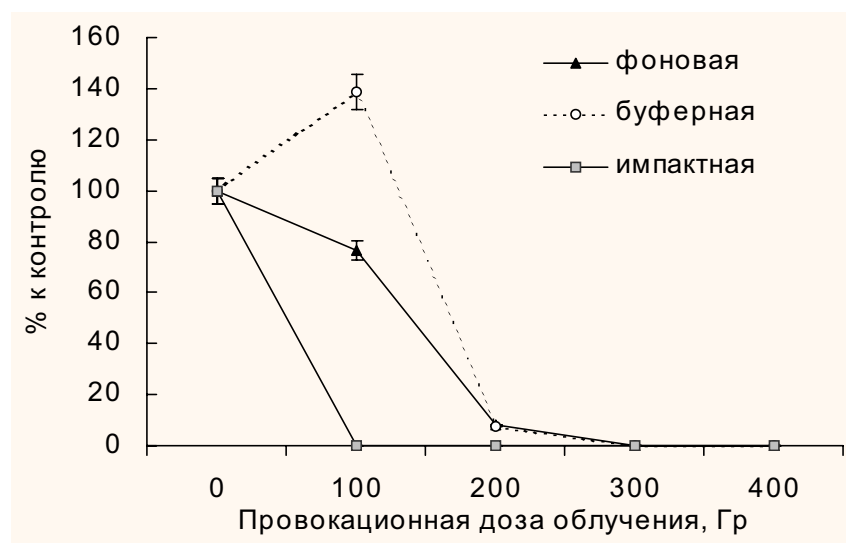


Рис. 4. Зависимость числа проростков одуванчика с настоящими листьями из ценопопуляций зоны ВУРСа от дозы провокационного облучения.

В облучаемых ценопопуляциях одуванчика наблюдается высокая мутабельность семенного потомства. К примеру, число проростков с некрозами корней в фоновой ценопопуляции было менее 0.05%, в то время в буферной и импактной выборках их количество составило 15 и 30% соответственно. У потомков облученных растений превышена также доля проростков с глубокими поражениями всех органов, с нарушением формы и цвета семядолей. Отметим, что разнообразие обнаруженных нами аномалий в развитии проростков одуванчика было выше, чем у подорожника.

Исследование полиморфизма ферментных систем в ценопопуляциях одуванчика показало, что во всех исследованных ценопопуляциях мономорфной была система GDH, а также ADH в фоновой выборке. Значения индекса фенотипического разнообразия, рассчитанные для зоны активности PGI-2 и 6-PGDH, были примерно в 2 раза выше на импактном участке по сравнению с остальными выборками. Изменчивость GOT была в 2 раза больше в средней части ВУРСа по сравнению с фоновым уровнем, и в 1.5 раза выше, чем в импактной ценопопуляции.

При качественном анализе мы установили, что всего в ценопопуляциях одуванчика – 42 аллозимных фена, причем каждой хронически облучаемой выборке было свойственно по 8 уникальных морф. Фенов, характерных только для фоновой выборки, не отмечали. Для демонстрации изменчивости ферментных систем растений одуванчика разных ценопопуляций рассмотрим одну из важнейших – Got (рис. 5). Из рисунка видно, что в буферной и импактной ценопопуляциях доминирование морфы Got₄ составило 56 и 69% при фоновом уровне 11%. Возможно, это свидетельствует об адаптивном характере подобного полиморфизма аспаратаминотрансферазы.

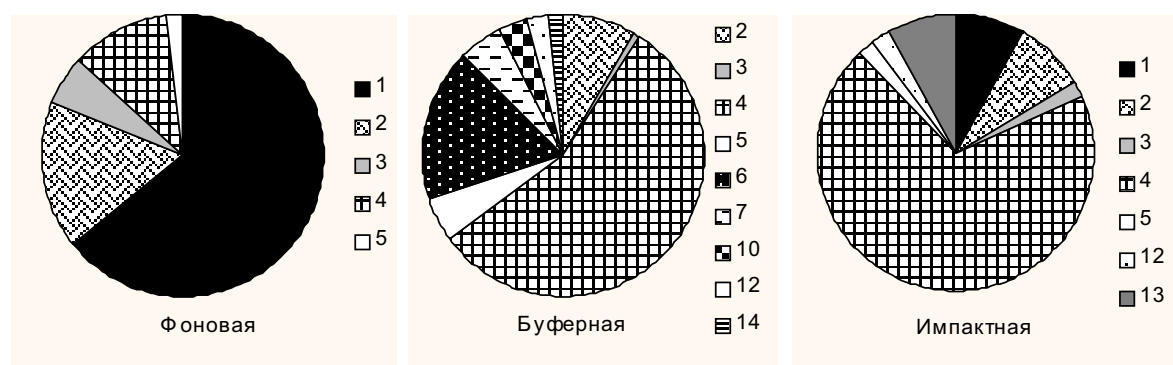


Рис. 5. Частоты встречаемости фенотипов Got в ценопопуляциях одуванчика лекарственного.

Интересным также является также факт, что по большинству ферментных систем доля редких морф (h_r) в хронически облучаемых выборках была выше фонового уровня. Общее количество редких морф в фоновой ценопопуляции составило 3, в буферной – 8, в импактной – 10. Это подтверждает факт увеличения изменчивости ферментных систем у одуванчика из зоны ВУРСа за счет редких морф.

Изучение клональной структуры ценопопуляций одуванчика показало, что на всех изученных площадках был четко идентифицирован 21 клон (рис. 6). В фоновой выборке число растений с разными аллозимными фенотипами (клонами) составило 10, в буферной ценопопуляции – 7, а в импактной – 6. Эти данные свидетельствуют о снижении клонального разнообразия в градиенте дозовых нагрузок на растения. В зоне ВУРСа доминировали растения с идентичным аллозимным фенотипом.

Исследование апомиктического вида одуванчика показало, что фенотипическое разнообразие ферментных систем в импактной и буферной ценопопуляциях выше, чем в фоновой. Доля редких морф для большинства ферментов также выше в зоне ВУРСа. Вероятно, высокая изменчивость ферментов является результатом усиления процессов рекомбинации генома в условиях хронического облучения. С одной стороны большой полиморфизм признаков увеличивает генетический груз в популяциях, но с другой – является материалом для естественного отбора и повышает адаптивный потенциал ценопопуляций. Полученные данные свидетельствуют о большей нестабильности генома в условиях радионуклидного загрязнения. Данное заключение непротиворечиво согласуется с установленными ранее выводами о широкой амплитуде индивидуальной и хроногенной изменчивости жизнеспособности семенного потомства одуванчика из тех же ценопопуляций, о высоком уровне хромосомных aberrаций и тератологических изменений [3].

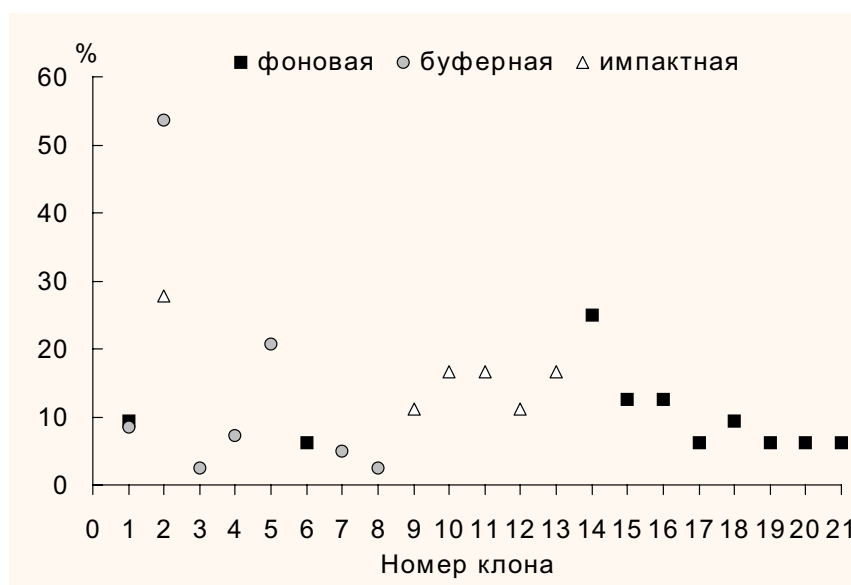


Рис. 6. Клональная структура ценопопуляций одуванчика из зоны ВУРСа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты проведенного исследования показали, что в пределах импактного участка ВУРСа запас ^{90}Sr в корнеобитаемом слое преобладающих серых лесных почв составляет 6700-15000 кБк/м², а ^{137}Cs – 200-400 кБк/м², основное количество радионуклидов удерживается в 20-см слое. В целом на территории ВУРСа градиент падения плотности загрязнения почвенного покрова радионуклидами хорошо выражен, он прослеживается на расстоянии более 100 км, изменение содержания ^{90}Sr и ^{137}Cs в пределах центральной оси подчиняется экспоненциальной зависимости.

В соответствии с уровнем загрязнения почв ^{90}Sr содержание его в разных видах травянистых растений на импактном участке на три порядка величин выше, а коэффициенты накопления ниже, чем в буферной и фоновой зонах. Возможно, снижение накопительной способности растений произошло в процессе отбора как приспособление к воздействию радиационного фактора.

Семенное потомство подорожника большого из импактной ценопопуляции по жизнеспособности и по ростовым показателям практически не отличалось от фоновой, а в буферной эти параметры были низкими. В обеих хронически облучаемых выборках отмечено увеличение диапазона индивидуальной изменчивости признаков и мутабельности семенного потомства. Для них характерна также нестабильность в ответе на провокационное облучение. Во всех ценопопуляциях подорожника отмечен дефицит гетерозиготных генотипов, однако в импактной выборке он выражен менее ярко. Максимальная изменчивость ген-ферментных локусов обнаружена в буферной ценопопуляции, а минимальная – в импактной. С увеличением градиента дозовых нагрузок на растения генотипическая изменчивость снижается. Вероятно, это связано с тем, что в импактной ценопопуляции имел место жесткий отбор в пользу организмов, приспособленность которых к комплексу условий, в том числе к радиационной обстановке, выше.

Семенное потомство одуванчика из хронически облучаемых ценопопуляций обладает меньшей жизнеспособностью, большей радиочувствительностью и мутабельностью по сравнению с фоновой выборкой. Широкий диапазон изменчивости всех показателей жизнеспособности семенного потомства, неоднозначная реакция растений на провокационное облучение и

высокая степень полиморфизма ферментных систем свидетельствуют о наличии повышенной генетической нестабильности, что можно рассматривать как главный результат длительного воздействия ионизирующих излучений на природные популяции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Итоги изучения и опыт ликвидации последствий аварийного загрязнения территории продуктами деления урана / Под ред. А.И. Бурназяна. М.: Энергоатомиздат, 1990. 143 с.
2. Молчанова И.В., Караваева Е.Н. Эколого-геохимические аспекты миграции радионуклидов в почвенно-растительном покрове. Екатеринбург: УрО РАН, 2001. 161 с.
3. Позолотина В.Н. Отдаленные последствия действия радиации на растения. Екатеринбург: Академкнига, 2003. 244 с.
4. Aarkrog A., Dahlgaard H., Nielsen S.P., Trapeznikov A.B., Molchanova I.V., Pozolotina V.N., Karavaeva E.N., Yushkov P.I., Polikarpov G.G. Radioactive inventories from the Kyshtym and Karachay accidents: estimates based on soil samples collected in the South Urals (1990-1995) // *The Science of the Tot. Env.* 1997. Vol. 201. P. 137-154.
5. Van Dijk H., Wolff K., De Vries A. Genetic variability in *Plantago* species in relation to their ecology. 3. Genetic structure of populations *P. major*, *P. lanceolata* and *P. coronopus* // *Theor. Appl. Genet.* 1988. V. 75, №3. P. 518-528.
6. Поддубная-Арнольди В. А. Цитоэмбриология покрытосеменных растений. М.: Наука, 1969. 508 с.
7. Peacock A.C., Bunting S.C., Queen K.G. Serum protein electrophoresis in acrylamide gel: patterns from normal human subjects // *Science.* 1965. V.147. P. 1451-1453.
8. Harris H., Hopkinson D.A. *Handbook of Enzyme Electrophoresis in human genetics.* Amsterdam: North Holland Publ. Co., 1976. 478 p.
9. Wright S. The genetical structure of populations // *Ann. Eugenics.* 1951. V.15. P.323-354.
10. Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1973. Vol. 70. P. 3321-3323.
11. Swofford D.L., Selander R.B. BIOSYS-1; A FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics // *J. of Heredity.* 1981. V. 72. P. 281-283.
12. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 271 с.
13. Тихомиров Ф.А. Действие ионизирующих излучений на экологические системы. М.: Атомиздат, 1972. 176 с.
14. Ааркрос А., Дальгаард Х., Нильсен С.П., Позолотина В.Н., Молчанова И.В., Караваева Е.Н., Юшков П.И., Трапезников А.В. Изучение вклада наиболее крупных ядерных инцидентов в радиоактивное загрязнение Уральского региона // *Экология.* 1998. №1. С. 36-42.
15. Karavaeva E.N., Kulikov N.V., Molchanova I.V., Pozolotina V.N., Yushkov P.I. Accumulation and distribution of long-living radionuclides in the forest ecosystems of the Kyshtym accident zone // *J. The Science of the Tot. Env.* 1994. Vol. 154. P. 147-151.
16. Ильин В.Б., Сысо А.И. Микроэлементы и тяжелые металлы в почвах и растениях Новосибирской области. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2001. 229 с.
17. Горшков Г.В. Проникающие излучения радиоактивных источников. Л.: Наука, 1967. 207с.
18. Morgan-Richards M., Wolff K. Genetic structure and differentiation of *Plantago major* reveals a pair of sympatric sister species // *Mol. Ecol.* 1999. V. 8. P. 1027-1036.
19. Шевченко В.А., Померанцева М.Д. Генетические последствия действия ионизирующих излучений. М.: Наука, 1985. 279 с.