DOI: 10.21870/0131-3878-2021-30-2-77-88

УДК 581.17:546.42.02.90

Нелинейность зависимости частоты цитогенетических нарушений от содержания ^{90}Sr в растениях Тонконога тонкого с территории Семипалатинского испытательного полигона

Гераськин С.А.¹, Минкенова К.С.², Переволоцкий А.Н.¹, Байгазинов Ж.А.^{2,3}, Переволоцкая Т.В.¹

¹ ФГБНУ ВНИИ радиологии и агроэкологии, Обнинск;

² Институт радиационной безопасности и экологии РГП «НЯЦ РК», Курчатов, Казахстан;

³ Университет Паннонии, Веспрем, Венгрия

Имеющиеся сведения о форме зависимости основных биологических показателей (смертность, репродуктивность, заболеваемость, генетические эффекты) от дозы получены главным образом в контролируемых условиях лабораторных экспериментов с острым γ -облучением. К сожалению, эта информация не может быть использована для оценки последствий облучения населяющих загрязнённые территории растений и животных, поскольку в результате испытаний ядерного оружия и крупных радиационных катастроф значительные территории оказываются загрязнены смесью α -, β - и γ -излучающих радионуклидов, обладающих разной проникающей способностью, биологической эффективностью и подвижностью в системе почва-растение. Широкомасштабное (105 экспериментальных точек, диапазон концентраций ^{90}Sr в растениях от менее 10^2 до $\sim 10^8$ Бк/кг) исследование частоты цитогенетических эффектов в популяциях Тонконога тонкого с площадки «4А» Семипалатинского испытательного полигона, где проводили испытания боевых радиоактивных веществ, позволило впервые в условиях полевого эксперимента оценить форму зависимости частоты цитогенетических нарушений от содержания ^{90}Sr в растениях. Показано наличие практического порога по частоте цитогенетических нарушений вплоть до концентрации $1,58 \times 10^5$ Бк/кг ^{90}Sr в растениях. Превышение этого порога ведёт к статистически значимому ($p < 0,001$) увеличению частоты цитогенетических нарушений от менее 2% до $\sim 18\%$. Основной вклад в частоту цитогенетических нарушений вносят двойные мосты и фрагменты, что подтверждает радиационную природу наблюдаемых эффектов.

Ключевые слова: Семипалатинский испытательный полигон, боевые радиоактивные вещества, радиоактивное загрязнение, ^{90}Sr , удельная активность, Тонконого тонкий, цитогенетические эффекты, нелинейная зависимость, пороговая концентрация.

Введение

Испытания ядерного оружия на территории Семипалатинского испытательного полигона (СИП) привели к радиоактивному загрязнению обширной территории. Большинство участков с повышенным радиационным фоном расположены на площадках «Опытное поле», «Дегелен», «Балапан», «Сары-Узень» и «4А», существенно различающихся по составу радионуклидов и уровню радиоактивного загрязнения [1], что делает особенно ценным исследование на них хронического радиационного воздействия на биоту. Однако исследования биологических эффектов хронического облучения растений и животных в условиях СИП немногочисленны, в большинстве публикаций отсутствует информация об уровнях радиоактивного и химического загрязнения и величинах поглощённых доз [2], что не позволяет связать описанные в этих работах эффекты с радиационным воздействием.

В настоящей работе представлены данные о цитогенетических эффектах у растений с площадки СИП «4А», где в 1953-1957 гг. проводили испытания боевых радиоактивных веществ (БРВ). В настоящее время уровни радиоактивного загрязнения на площадке «4А» различаются

Гераськин С.А.* – зав. лаб., д.б.н., проф.; Переволоцкий А.Н. – вед. науч. сотр., д.б.н.; Переволоцкая Т.В. – ст. науч. сотр., к.б.н. ФГБНУ ВНИИРАЭ. Минкенова К.С. – вед. инженер. ИРБЭ НЯЦ РК. Байгазинов Ж.А. – зав. лаб., к.б.н. ИРБЭ НЯЦ РК, Университет Паннонии.

*Контакты: 249032, Калужская обл., Обнинск, Киевское шоссе, 109-й км. Тел.: (484) 399-69-64; e-mail: stgeraskin@gmail.com.

на несколько порядков [1], что предполагает наличие выраженных радиобиологических эффектов у населяющих площадку животных и растений. Однако исследования биологических эффектов на этой площадке практически отсутствуют.

В нашем предварительном исследовании [3] было показано, что частота цитогенетических эффектов в популяциях Тонконога тонкого, населяющих наиболее загрязнённые участки СИП, статистически значимо превышает контрольный уровень, однако имевшихся данных было недостаточно для оценки формы дозовой зависимости. На следующем этапе [4] на основе данных о содержании радионуклидов в растениях Тонконога тонкого и частоте цитогенетических эффектов в 38 экспериментальных точках площадки «4А» СИП была предпринята попытка восстановить форму дозовой зависимости по частоте цитогенетических нарушений. Однако существенная неопределённость в оценке поглощённых доз, связанная с недостаточной разработанностью вопросов экологической дозиметрии, отсутствием прямых измерений радиоактивного загрязнения почвы (по соображениям радиационной безопасности, ввиду крайне высоких уровней загрязнения почвы на площадке «4А») и неравномерностью распределения наблюдений в исследуемом диапазоне доз, не позволили надёжно восстановить форму дозовой зависимости. В настоящей работе на основе большого фактического материала (105 экспериментальных точек, в 3 раза больше, чем в работе [4], диапазон концентраций ^{90}Sr в растениях от менее 10^2 до $\sim 10^8$ Бк/кг) исследована форма зависимости частоты цитогенетических эффектов от содержания ^{90}Sr в растениях тонконога тонкого с площадки «4А» СИП.

Материалы и методы

Район исследования. Отбор проб для исследований проводили на площадке «4А» площадью 63 км², где в 1953-1957 гг. испытывали боевые радиоактивные вещества. БРВ представляли собой жидкие или порошкообразные смеси радионуклидов из отходов радиохимического производства, либо полученные путём облучения нейтронами на атомном реакторе специально подобранных веществ. В результате испытаний на площадке «4А» сформировалось крайне гетерогенное радиоактивное загрязнение, основной вклад в которое вносит ^{90}Sr [1].

Площадка «4А» расположена в подзоне сухих типчаково-ковыльных степей, входит в состав Восточно-Казахстанского мелкосопочника и находится на границе смены подзон каштановых и светло-каштановых почв. Климат континентальный и засушливый. Растительность на площадке «4А» представлена полынно-злаковым сообществом.

Объект исследования. Объектом нашего исследования являлся многолетний дикорастущий злак – Тонконог тонкий (*Koeleria gracilis* Pers.), образующий плотные дерновины. Этот типичный представитель растительности Казахстана широко распространён на территории СИП, что позволяет исследовать его ответные реакции в широком диапазоне уровней радиоактивного загрязнения.

Полевые работы и отбор проб растений. Семена тонконога были собраны в конце июля – начале августа 2013-2014 гг. Участки для исследований выбирали по данным 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). Всего на площадке «4А» было выбрано 105 экспериментальных точек. Плотность потока β -частиц и мощность эквивалентной дозы по β - и γ -излучению в местах отбора проб менялись в пределах 10-10000 част/(мин×см²) и 0,06-90 мкЗв/ч соответственно.

В каждой точке отбирали надземную часть растений. Вегетативную часть (150-300 г) – для анализа на содержание химических элементов и радионуклидов, генеративную часть (семена, 150-300 г) – для цитогенетического анализа.

Растения отбирали на площади 1-2 м² в зависимости от плотности произрастания. В местах, где плотность потока β -частиц была от 10 до 4000 част/(мин×см²), расстояние между точками отбора проб растений составляло 100-800 м. Поскольку площади с высоким уровнями загрязнения малы, в местах, где плотность потока β -частиц выше 4 тыс. част/(мин×см²), расстояния между точками отбора проб растений составляли 5-20 м.

Определение содержания радионуклидов в растениях. Пробы растений промывали и ополаскивали дистиллированной водой, сушили при температуре 100 °С, измельчали и перемалывали до состояния травяной муки. Температура озоления проб растений для определения ¹³⁷Cs составляла 400 °С, ⁹⁰Sr – 550 °С, ²⁴¹Am – 650 °С. Чашки с золой охлаждали в эксикаторе. Готовую золу просеивали через сито для удаления незольного остатка. Остывший зольный остаток взвешивали и определяли коэффициент озоления.

Удельную активность радионуклидов ⁴⁰K, ⁶⁰Co, ¹³⁷Cs, ¹⁵²Eu, ¹⁵⁴Eu, ¹⁵⁵Eu, ²¹⁴Pb, ²²⁶Ra, ²³²Th, ²³⁵U, ²³⁸U и ²⁴¹Am в пробах растений определяли на γ -спектрометре Canberra (США) с германиевым детектором (BE 2020), предел обнаружения – 0,7-20 Бк/кг. ⁹⁰Sr в пробах растений определяли на β -спектрометре «Прогресс» (Россия), предел обнаружения – 100 Бк/кг. Погрешность измерений в основном не превышала 30%. Спектрометр калибровали по энергии с использованием твердотельных источников ⁹⁰Sr и/или ²⁴Na.

Определение содержания тяжёлых металлов в растениях. Пробы растений готовили методом автоклавного разложения по стандартной методике. В пробах растений определяли содержание следующих тяжёлых металлов: ванадий, хром, марганец, кобальт, никель, медь, цинк, мышьяк, стронций, кадмий, теллур, цезий, свинец, уран. Концентрации элементов определяли методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой на приборе «Elan 9000» (PerkinElmer SCIEX, США).

Анализ цитогенетических эффектов. Собранные семена подвергали предварительной камеральной обработке (очистка, удаление повреждённых семян и др.). Отобранные семена высушивали при комнатной температуре, после чего подвергали холодной стратификации, выдерживая в течение 30 сут при температуре 1-5 °С в холодильнике.

Воздушно-сухие семена раскладывали на влажную фильтровальную бумагу в чашках Петри. Семена проращивали в термостате MIR-253 (Sanyo, Япония) при температуре 18-25 °С в течение 7±2 сут. Проросшие семена, у которых главный корешок имел длину не менее длины семени, фиксировали в фиксаторе Кларка (смесь 96% этилового спирта и ледяной уксусной кислоты в отношении 3:1).

Для приготовления «давленных» препаратов проводили мацерацию растительной ткани, затем корешки помещали в краситель (ацетоорсеин). Корешки окрашивали в закрытых стеклянных бюксах в течение 1-2 ч. Окрашенные корешки наносили на предметное стекло, отрезали кончики (2-3 мм), добавляли каплю 45% раствора уксусной кислоты, накрывали покровным стеклом и раздавливали так, чтобы клетки корешка распределились в один слой. Цитогенетический анализ проводили на микроскопе Axiolmager M2 (Zeiss, Германия) при увеличении объектива ×100 (масляная иммерсия) и ×40.

Анализировали частоту аберрантных клеток в апикальной меристеме корешков проростков тонконога. При анализе учитывали такие цитогенетические аномалии как мосты, фрагменты,

отстающие хромосомы, забегающие хромосомы и многополюсные митозы [5]. Процент aberrантных клеток (M) определяли по формуле:

$$M = \frac{A \times 100}{N},$$

где A – сумма ана-телофазных клеток с перестройками; N – общее число изученных ана-телофаз.

Статистический анализ данных. Различия по частоте встречаемости цитогенетических нарушений оценивали методами статистического анализа качественных признаков [6]. Форму зависимости частоты цитогенетических нарушений в апикальной меристеме корешков-проростков от удельной активности ^{90}Sr в растениях тонконога анализировали с помощью кусочно-линейной регрессионной модели методом наименьших квадратов [7]. Для сравнения данных, находящихся в широком диапазоне значений (удельная активность ^{90}Sr в растениях изменяется на 6 порядков, а частота aberrантных клеток только на один порядок), применяли логарифмическое преобразование для первого показателя. При расчётах принят критический уровень значимости $p=0,05$. Была принята гипотеза H_0 о предполагаемой точке разрыва регрессионной кривой (T_p) для двух сегментов, относительно которой частота нарушений на единицу активности радионуклида в растениях статистически значимо отличается. Статистическая оценка групп данных, расположенных слева и справа от T_p , выполнена с применением двух уравнений линейной регрессии [7]: одно – для значений, которые меньше или равны T_p , второе – для значений больше точки разрыва:

$$Y = a + b \cdot X,$$

где Y – частота цитогенетических нарушений, %; X – десятичный логарифм удельной активности ^{90}Sr в тонконоге тонком; a – свободный член регрессии; b – коэффициент регрессии.

Результаты

Содержание радионуклидов в растениях. Основной вклад в загрязнение растений вносит ^{90}Sr , удельная активность которого в растениях контрольных участков ниже предела обнаружения β -спектрометра, в то время как на загрязнённых участках она находится в диапазоне $450-9,2 \times 10^7$ Бк/кг и формирует более 95% β -спектра. Удельная активность остальных радионуклидов в образцах растений в большинстве случаев ниже предела обнаружения. В тех случаях, когда удельная активность превышала минимально детектируемую, она менялась в пределах: естественные радионуклиды: ^{40}K – $50-3,3 \times 10^3$; ^{214}Pb – 1,5-383; ^{226}Ra – 2,6-70; ^{232}Th – 5-125; ^{235}U – 4,5-361; ^{238}U – 5-860 Бк/кг; техногенные радионуклиды: ^{60}Co – 2,6-16; ^{137}Cs – 1,4-350; ^{152}Eu – 26-40; ^{154}Eu – 6,7-141; ^{155}Eu – 5,8-991; ^{241}Am – 1,1-440 Бк/кг.

Выполненные в работе [4] оценки свидетельствуют о том, что поглощённые растениями Тонконога тонкого дозы на площадке «4А» определяются внутренним облучением от находящегося в растениях ^{90}Sr . Вклад других путей облучения пренебрежимо мал. Вместе с тем, выполненная в работе [4] оценка поглощённых растениями доз характеризовалась значительной неопределённостью. Это связано с отличиями геометрических размеров исследуемых растений от референтных, пренебрежением вклада внешнего β -облучения радионуклидов от поверхности почвы, сложностью учёта экранирования этого вида излучения в гетерогенной воздушно-растительной среде и с существенной неопределённостью исходных данных. В частности, ввиду крайне высоких уровней радиоактивного загрязнения почвы на площадке «4А», сбор и исследование в лаборатории образцов почвы оказался невозможным по соображениям радиационной безопасности. Поэтому необходимую для расчётов поглощённой дозы удельную активность радионуклидов в почве оценивали с использованием полученных экспериментально значений

удельной активности радионуклидов в растениях и коэффициентов накопления радионуклидов растениями из справочника МАГАТЭ [8], что вносило существенную неопределённость в полученные таким образом оценки. В связи с этим, нами было принято решение в настоящем исследовании в качестве показателя радиационного воздействия использовать полученные экспериментально значения удельной активности ^{90}Sr в растениях.

Содержание тяжёлых металлов в растениях. Выполненное в работе [4] сравнение результатов оценки концентраций тяжёлых металлов в тканях Тонконога с экспериментальных участков с данными о средних концентрациях тяжёлых металлов в растительности свидетельствует о том, что во всех случаях концентрации исследуемых элементов в пробах растений существенно ниже средних. Таким образом, концентрации тяжёлых металлов не должны оказывать токсическое воздействие на растения наших экспериментальных участков.

Частота аберрантных клеток. Было изучено 2777 препаратов апикальной меристемы проростков, просмотрено более 37 тыс. ана-телофазных клеток, обнаружено 1278 аберрантных ана-телофаз. Уникальный для полевых исследований как по количеству экспериментальных точек, так и по диапазону концентраций ^{90}Sr в растениях набор данных позволил оценить форму зависимости по частоте цитогенетических нарушений. Анализ представленных на рис. 1 данных позволяет предположить существование двух участков, в пределах которых изменение частоты цитогенетических нарушений с концентрацией ^{90}Sr принципиально отличается. Точка перегиба для частоты аберрантных клеток составляет $1,58 \times 10^5$ Бк/кг (табл. 1). Из результатов регрессионного анализа данных, расположенных слева от точки перегиба, следует, что частота аберрантных клеток статистически значимо не изменяется в этом диапазоне концентраций (табл. 2). Качественно иная ситуация характерна для данных, расположенных справа от точки перегиба. В этом диапазоне концентраций частота аберрантных клеток демонстрирует значительный и статистически значимый ($p < 0,001$) рост (табл. 3). Таким образом, по представленным в настоящей работе результатам полевых исследований установлена пороговая величина активности ^{90}Sr в растениях, ниже которой частота цитогенетических эффектов в природных популяциях Тонконога тонкого не превышает спонтанный уровень.

Спектр цитогенетических нарушений. В ходе цитогенетического анализа были обнаружены следующие типы нарушений: аберрации хромосом (одиночные и двойные мосты, одиночные и двойные фрагменты) и митотические нарушения (забегания, отставания хромосом, трёхполосные митозы). В некоторых клетках присутствовали сразу несколько типов нарушений. Основной вклад в спектр структурных мутаций в популяциях Тонконога тонкого вносят двойные мосты и фрагменты (51%). Вклад одиночных мостов и фрагментов (30%), а также митотических аномалий (19%) гораздо меньше.

В табл. 1 представлены результаты оценки положения точки перегиба для основных типов цитогенетических нарушений. Изменение частоты индукции односторонних фрагментов и мостов происходит при наименьшей концентрации ^{90}Sr в растениях ($2,04 \times 10^4$ Бк/кг). Для ускорения индукции митотических аномалий необходимы на два порядка большие концентрации ^{90}Sr ($1,32 \times 10^6$ Бк/кг). Доверительные интервалы точек перегиба частоты аберрантных клеток ($1,58 \times 10^5$ Бк/кг) и частоты двойных фрагментов и мостов ($3,24 \times 10^5$ Бк/кг) пересекаются (табл. 1), а частота этих видов цитогенетических нарушений превышает другие (достаточно сравнить рис. 1в с рис. 1б и 1г). Это свидетельствует о том, что являющиеся маркерами радиационного воздействия [9] двойные аберрации хромосом вносят основной вклад в наблюдаемую частоту цитогенетических нарушений. Наиболее сильная связь с содержанием стронция в растениях обнаружена для двойных

мостов, доля которых в общем спектре нарушений составляет 40%, а концентрационная зависимость для которых фактически повторяет зависимость для частоты аберрантных клеток. Таким образом, в условиях загрязнения среды обитания Тонконога преимущественно ^{90}Sr , основной вклад в формирование цитогенетических эффектов вносят двойные мосты.

Рис. 1. Зависимость частоты цитогенетических нарушений от удельной активности ^{90}Sr в Тонконоге тонком.

Таблица 1

Оценка положения точки перегиба (T_p), в которой происходит изменение скорости увеличения частоты цитогенетических нарушений в зависимости от удельной активности ^{90}Sr в Тонконоге тонком

Точка разрыва для показателя	Оценка положения T_p , Бк/кг	Стандартная ошибка (ΔT_p), Бк/кг	t-критерий Стьюдента	Уровень значимости, p	Доверительный интервал для T_p	
					нижний	верхний
Частота аберрантных клеток	1,58E+05	1,19E+04	20,9	<0,001	7,68E+04	8,16E+05
Частота одиночных фрагментов и мостов	2,04E+04	2,80E+03	7,28	<0,001	1,35E+03	3,09E+05
Частота двойных фрагментов и мостов	3,24E+05	1,49E+04	21,8	<0,001	1,02E+05	1,05E+06
Частота трёхполосных митозов, отставаний и забеганий хромосом	1,32E+06	3,54E+04	37,2	<0,001	6,17E+05	2,82E+06

Таблица 2

Результаты регрессионного анализа зависимости частоты цитогенетических нарушений от удельной активности ^{90}Sr в Тонконоге тонком 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	0,921±0,419	2,199	0,033	0,079	1,763
b	0,145±0,103	1,409	0,165	-0,062	0,353
Частота одиночных фрагментов и мостов					
a	0,716±0,322	2,157	0,043	0,024	1,409
b	-0,033±0,105	-0,320	0,753	-0,253	0,185
Частота двойных фрагментов и мостов					
a	0,329±0,279	1,180	0,244	-0,232	0,892
b	0,138±0,066	2,089	0,042	0,005	0,271
Частота трёхполюсных митозов, забеганий и отставаний хромосом					
a	-0,300±0,365	-0,822	0,417	-1,040	0,440
b	0,188±0,077	2,436	0,020	0,032	0,344

Таблица 3

Результаты регрессионного анализа зависимости частоты цитогенетических нарушений от удельной активности ^{90}Sr в Тонконоге тонком 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	-20,0±6,42	-3,12	0,003	-32,9	-7,06
b	4,18±1,00	4,16	<0,001	2,15	6,21
Частота одиночных фрагментов и мостов					
a	-3,34±1,04	-3,20	<0,001	-5,44	-1,25
b	0,881±0,179	4,92	<0,001	0,52	1,24
Частота двойных фрагментов и мостов					
a	-13,8±4,38	-3,13	<0,001	-22,6	-4,82
b	2,67±0,672	3,97	<0,001	1,31	4,04
Частота трёхполюсных митозов, забеганий и отставаний хромосом					
a	-10,3±2,38	-4,33	<0,001	-15,2	-5,43
b	1,76±0,359	5,00	<0,001	1,06	2,54

Из результатов регрессионного анализа данных, расположенных слева от точки перегиба (табл. 2), следует, что частота одиночных мостов и фрагментов статистически значимо не изменяется ($p=0,753$) в этом диапазоне концентраций. В то же время частота двойных аберраций и митотических аномалий характеризуется небольшим, но статистически значимым ($p=0,042$) увеличением с концентрацией ^{90}Sr . Ситуация качественно меняется справа от точки перегиба (табл. 3). В этом диапазоне концентраций частота всех видов цитогенетических нарушений статистически значимо ($p<0,001$) растёт с увеличением удельной активности ^{90}Sr в растениях. Таким образом, статистический анализ параметров зависимости «содержание ^{90}Sr в растениях – эффект» по всем видам цитогенетических нарушений подтверждает наличие пороговой концентрации, ниже которой частота нарушений практически не отличается от спонтанного уровня, а выше – возрастает.

Обсуждение

Оценка последствий хронического облучения для популяций растений и животных, населяющих загрязнённые радионуклидами территории, осложняется отсутствием надёжных сведений о форме зависимости основных биологических показателей (смертность, репродуктивность, заболеваемость, генетические эффекты) от характеристик радиационного воздействия (поглощённая доза, радиоактивное загрязнение почвы и растений). Имеющиеся сведения о форме зависимости перечисленных показателей от дозы получены главным образом в контролируемых условиях лабораторных экспериментов с острым γ -облучением. К сожалению, эта информация не может быть использована для оценки последствий облучения для населяющих загрязнённые территории растений и животных, поскольку в результате испытаний ядерного оружия и крупных радиационных катастроф значительные территории оказались загрязнены смесью α -, β - и γ -излучающих радионуклидов, обладающих различной проникающей способностью, биологической эффективностью и подвижностью в системе почва-растение. Кроме того, организмы в естественной среде обитания почти на порядок более чувствительны к радиационному воздействию [10], да и сама форма дозовой зависимости может отличаться от наблюдаемой в контролируемых условиях лабораторного эксперимента. 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 неопределённости при оценке поглощённых доз и незначительное количество экспериментальных точек.

Выбранные для проведения исследований на площадке «4А» 105 экспериментальных точек не отличались друг от друга по почвенно-климатическим условиям и загрязнению тяжёлыми металлами, но были контрастны по уровню радиоактивного загрязнения. Доминирующую роль в радиоактивном загрязнении площадки «4А» играет ^{90}Sr , удельная активность которого в пробах растений достигала 10^8 Бк/кг. Исходя из однородности участков по почвенно-климатическим условиям и содержанию тяжёлых металлов можно утверждать, что наблюдаемые в популяциях Тонконога цитогенетические эффекты являются следствием радиационного воздействия. Высокие концентрации ^{90}Sr в этих растениях с площадки «4А», где проводили испытания боевых радиоактивных веществ, должны вести к индукции значительных биологических эффектов. Действительно, начиная с концентрации $1,58 \times 10^5$ Бк/кг, частота цитогенетических нарушений в проростках, собранных на площадке «4А» семян, статистически значимо увеличивалась. Однако ниже этого значения частота цитогенетических нарушений не отличалась значимо от контрольного уровня. Т.е. впервые по данным полевых исследований установлена пороговая концентрация, ниже которой частота цитогенетических нарушений не превышает статистически значимо спонтанный уровень. Этот результат имеет важное значение для развития системы радиационной защиты биоты. Фактически речь идёт об определении критической концентрации ^{90}Sr , которая ещё не приводит к существенным изменениям в ответной реакции растений. Выявление порога в ответной реакции популяций растений на антропогенное воздействие увеличит нашу способность предвидеть резкие и внезапные изменения в поведении экосистем [11].

Ранее пороговый характер дозовой зависимости был установлен нами в лабораторном эксперименте с облучением семян пшеницы [12]. Нелинейная дозовая зависимость с протяжённым плато была установлена в лабораторных экспериментах с γ -облучением семян [13] и проростков

ячменя [14], а также четырёх других видов растений [15]. Представленные в работе [16] результаты эксперимента с корневым поступлением радионуклидов ^{90}Sr в растения ячменя также позволяют предположить наличие дозозависимого участка по частоте клеток с абберациями вплоть до 0,2 Гр с последующим линейным ростом до 2,4 Гр, после чего частота цитогенетических нарушений выходит на плато. В нашем исследовании прирост частоты цитогенетических нарушений также замедляется, начиная с концентраций порядка 10^6 Бк/кг. Однако разброс имеющихся в нашем распоряжении данных в диапазоне 10^6 - 10^8 Бк/кг слишком велик, чтобы доказать существование плато. Тем не менее, сопоставление выявленной в ходе настоящего исследования формы эмпирической зависимости с полученными ранее результатами показало, что кривые имеют схожий вид, но различаются значениями доз, при которых происходит изменение частоты индукции цитогенетических нарушений.

Таким образом, в ходе исследования цитогенетических эффектов у Тонконога, произрастающего в местах испытания боевых радиоактивных веществ, установлена нелинейная зависимость между частотой цитогенетических нарушений в апикальной меристеме корешков проростков семян и концентрацией ^{90}Sr в растениях. В диапазоне концентраций до $1,58 \times 10^5$ Бк/кг частота цитогенетических эффектов не отличается от контрольного уровня, т.е. установлен порог для данного типа эффектов. Превышение пороговой концентрации ведёт к линейному росту частоты цитогенетических нарушений вплоть до 18%. Такая форма эмпирической зависимости может быть связана [17] с исчерпанием мощности систем восстановления на клеточном уровне. Основной вклад в формирование цитогенетических эффектов вносят двойные мосты, что служит ещё одним подтверждением радиационной природы наблюдаемых изменений.

Сложившаяся на территории СИП уникальная радиоэкологическая ситуация, характеризующаяся значительным диапазоном 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. Населяющие в настоящее время территорию СИП организмы являются потомками растений и животных, испытавших 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.

Литература

1. Larionova N.V., Lukashenko S.N., Kabdyrakova A.M., Kunduzbayeva A.Ye., Panitskiy A.V., Ivanova A.R. Transfer of radionuclides to plants of natural ecosystems at the Semipalatinsk Test Site //J. Environ. Radioact. 2018. V. 186. P. 63-70.
2. Мозолин Е.М., Гераськин С.А., Минкенова К.С. Радиобиологические эффекты у растений и животных Семипалатинского испытательного полигона (Казахстан) //Радиационная биология. Радиоэкология. 2008. Т. 48, № 4. С. 422-431.
3. Гераськин С.А., Мозолин Е.М., Дикарев В.Г., Удалова А.А., Дикарева Н.С., Спиридонов С.И., Тетенькин В.Л. Цитогенетические эффекты в популяциях *Koeleria gracilis* Pers. с территории Семипалатинского испытательного полигона //Радиационная биология. Радиоэкология. 2009. Т. 49, № 2. С. 147-157.
4. Минкенова К.С., Байгазинов Ж.А., Гераськин С.А., Переволоцкий А.Н. Цитогенетические эффекты у Тонконога тонкого с площадки, где проводили испытания боевых радиоактивных веществ на Семипалатинском испытательном полигоне //Радиационная биология. Радиоэкология. 2020. Т. 60, № 3. С. 249-264.
5. Паушева З.В. Практикум по цитологии растений. М.: Колос, 1980. 225 с.
6. Кобзарь А.И. Прикладная математическая статистика. М.: Физматлит, 2006. 816 с.
7. Lutz W.K., Lutz R.W. Statistical model to estimate a threshold dose and its confidence limits for the analysis of sublinear dose-response relationships, exemplified for mutagenicity data //Mutat. Res. 2009. V. 678, N 2. P. 118-122.
8. Handbook of parameter values for the prediction of radionuclide transfer in terrestrial and freshwater environments. Technical Reports Series No. 472. Vienna: IAEA, 2010. 194 p.
9. Streffer C., Bolt H., Follesdal D., Hall P., Hengstler J.G., Jakob P., Oughton D., Prieb K., Reh binder E., Swaton E. Low dose exposures in the environment. Dose-effect relations and risk evaluation. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2004. 471 p.
10. Garnier-Laplace J., Geras'kin S., Della-Vedova C., Beaugelin-Seiller K., Hinton T.G., Real A., Oudalova A. Are radiosensitivity data derived from natural field conditions consistent with data from controlled exposures? A case study of Chernobyl wildlife chronically exposed to low dose rates //J. Environ. Radioact. 2013. V. 121. P. 12-21.
11. Groffman P.M., Baron J.S., Blett T., Gold A.J., Goodman I., Gunderson L.H., Levinson B.M., Palmer M.A., Paerl H.W., LeRoy Poff N., Rejeski D.W., Reynolds J.F., Turner M.G., Weathers K.C., Wiens J. Ecological thresholds: the key to successful environmental management or an important concept with no practical application? //Ecosystems. 2006. V. 9. P. 1-13.
12. Гераськин С.А., Зяблицкая Е.Я., Удалова А.А. Закономерности индукции γ -излучением структурных мутаций в корневой меристеме проростков семян гексаплоидной пшеницы //Радиационная биология. Радиоэкология. 1995. Т. 35, № 2. С. 137-149.
13. Гераськин С.А., Зяблицкая Е.Я., Удалова А.А. Закономерности выхода структурных мутаций в корневой меристеме облученных ионизирующим излучением семян ячменя //Радиационная биология. Радиоэкология. 1997. Т. 37, № 1. С. 82-90.
14. Гераськин С.А., Дикарев В.Г., Удалова А.А., Дикарева Н.С. Закономерности индукции малыми дозами ионизирующего излучения цитогенетических повреждений в корневой меристеме проростков ячменя //Радиационная биология. Радиоэкология. 1999. Т. 39, № 4. С. 373-383.
15. George J.T., Patel B.B., Rane V.A., Venu-Babu P., Eapen S., Singhal R.K., Pius J., Narula B., Shankhadarwar S. Non-linear dose response of a few plant taxa to acute gamma radiation //Cytologia. 2014. V. 79, N 1. P. 103-109.
16. Зяблицкая Е.Я., Кальченко В.А., Алексахин Р.М., Зуев Н.Д. Кинетика формирования поглощённых доз и влияние хронического β -излучения на цитогенетические показатели и урожай у ячменя //Радиобиология. 1984. Т. 24, № 6. С. 774-778.
17. Гераськин С.А. Концепция биологического действия малых доз ионизирующего излучения на клетки //Радиационная биология. Радиоэкология. 1995. Т. 35, № 5. С. 563-571.

Nonlinear relationship between ^{90}Sr content in the *Koeleria gracilis* plants growing in the Semipalatinsk test site and frequency of cytogenetic alterations

Geras'kin S.A.¹, Minkanova K.S.², Perevolotsky A.N.¹, Baigazinov Z.A.^{2,3}, Perevolotskaya T.V.¹

¹ Russian Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk;

² Institute of Radiation Safety and Ecology, NNC, Kurchatov, Kazakhstan;

³ University of Pannonia, Veszprem, Hungary

To construct dose-response curves for basic biological indicators, such as mortality, fertility, radiation-related morbidity, genetic effects, data of experimental studies of acute radiation exposure carried out under controlled conditions within laboratory walls are mainly used. However, the results of experimental research cannot be applied to research of radiation effects on biological species inhabiting and growing in large territories, contaminated with the mixture of α -, β - and γ -emitting radionuclides with different penetrativeness, biological efficiency and mobility in the soil-plant system. Large scale study of impact of ^{90}Sr in different concentrations in the *Koeleria gracilis* plants on the frequency of cytogenetic damage formation. For the study 105 experimental points on the «4A» landing in the Semipalatinsk test site were selected. The landing was earlier used for radioactive substances testing, the ^{90}Sr concentration in plants varied between 10^2 and $\sim 10^8$ Bq/kg. It was the first open-air study that allowed researchers to obtain the curve of the relationship between the radionuclide content in the plants and the frequency of cytogenetic alterations. The threshold for cytogenetic alterations induction in the plants below 1.58×10^5 Bq/kg was found. At the higher ^{90}Sr concentrations statistically significant increase ($p < 0.001$) in the frequency of cytogenetic alterations induction from $< 2\%$ to $\sim 18\%$ was observed. Among all cytogenetic disorders found in the plants double bridges and fragments occurred more frequently; it indicates that formed cytogenetic alterations were induced by radiation.

Key words: Semipalatinsk test site, radioactive warfare agent, radioactive contamination, ^{90}Sr , volume activity, *Koeleria gracilis*, cytogenetic effects, nonlinear dependence, threshold concentration.

References

1. Larionova N.V., Lukashenko S.N., Kabdyrakova A.M., Kunduzbayeva A.Ye., Panitskiy A.V., Ivanova A.R. Transfer of radionuclides to plants of natural ecosystems at the Semipalatinsk Test Site. *J. Environ. Radioact.*, 2018, vol. 186, pp. 63-70.
2. Mozolin E.M., Geras'kin S.A., Minkanova K.S. Radiobiological effects in plants and animals of the Semipalatinsk test site (Kazakhstan). *Radiatsionnaya biologiya. Radioecologia – Radiation Biology. Radioecology*, 2008, vol. 48, no. 4, pp. 422-431. (In Russian).
3. Geras'kin S.A., Mozolin E.M., Dikarev V.G., Oudalova A.A., Dikareva N.S., Spiridonov S.I., Tetenkin V.L. Cytogenetic effects in populations of *Koeleria gracilis* Pers. from the Semipalatinsk test site. *Radiatsionnaya biologiya. Radioecologia – Radiation Biology. Radioecology*, 2009, vol. 49, no. 2, pp. 147-157. (In Russian).
4. Minkanova K.S., Baygazinov G.A., Geras'kin S.A., Perevolotski A.N. Cytogenetic effects in a thin-legged thin-footed animal from the site where they tested military radioactive substances at the Semipalatinsk test site. *Radiatsionnaya biologiya. Radioecologia – Radiation Biology. Radioecology*, 2020, vol. 60, no. 3, pp. 249-264. (In Russian).
5. Pausheva Z.V. *Workshop on plant cytology*. Moscow, Kolos, 1980. 225 p. (In Russian).
6. Kobzar A.I. *Applied mathematical statistics*. Mosco, Fizmatlit, 2006, 816 p. (In Russian).
7. Lutz W.K., Lutz R.W. Statistical model to estimate a threshold dose and its confidence limits for the analysis of sublinear dose-response relationships, exemplified for mutagenicity data. *Mutat. Res*, 2009, vol. 67, no. 2, pp. 118-122.

Geras'kin S.* – Head of Lab, D. Sc., Biol., Prof.; Perevolotsky A.N. – Lead. Researcher, D. Sc., Biol.; Perevolotskaya T.V. – Sen. Researcher, C. Sc., Biol. RIRAE. Minkanova K.S. – Lead Engineer. IRSE NNC. Baigazinov Z.A. – Head of Lab, C. Sc., Biol. IRSE NNC, University of Pannonia. *Contacts: 109 km, Kievskoe Sh., Obninsk, Kaluga region, Russia, 249032. Tel.: +7(484) 399-69-64; e-mail: stgeraskin@gmail.com.

8. *Handbook of parameter values for the prediction of radionuclide transfer in terrestrial and freshwater environments*. Technical Reports Series No. 472. Vienna, IAEA, 2010. 194 p.
9. **Streffer C., Bolt H., Follesdal D., Hall P., Hengstler J.G., Jakob P., Oughton D., Prieb K., Rehbinder E., Swaton E.** *Low dose exposures in the environment. Dose-effect relations and risk evaluation*. Berlin Heidelberg, Springer-Verlag, 2004. 471 p.
10. **Garnier-Laplace J., Geras'kin S., Della-Vedova C., Beaugelin-Seiller K., Hinton T.G., Real A., Oudalova A.** Are radiosensitivity data derived from natural field conditions consistent with data from controlled exposures? A case study of Chernobyl wildlife chronically exposed to low dose rates. *J. Environ. Radioact.*, 2013, vol. 121, pp. 12-21.
11. **Groffman P.M., Baron J.S., Blett T., Gold A.J., Goodman I., Gunderson L.H., Levinson B.M., Palmer M.A., Paerl H.W., LeRoy Poff N., Rejeski D.W., Reynolds J.F., Turner M.G., Weathers K.C., Wiens J.** Ecological thresholds: the key to successful environmental management or an important concept with no practical application? *Ecosystems*, 2006, vol. 9, pp. 1-13.
12. **Geras'kin S.A., Zyblitskaya E.Ya., Oudalova A.A.** Patterns of γ -radiation induction of structural mutations in the root meristem of seedlings of hexaploid wheat seeds. *Radiatsionnaya biologiya. Radioecologia – Radiation Biology. Radioecology*, 1995, vol. 35, no. 2, pp. 137-149. (In Russian).
13. **Geras'kin S.A., Zyblitskaya E.Ya., Oudalova A.A.** Patterns of structural mutations yield in the root meristem of barley seeds irradiated with ionizing radiation. *Radiatsionnaya biologiya. Radioecologia – Radiation Biology. Radioecology*, 1997, vol. 37, no. 1, pp. 82-90. (In Russian).
14. **Geras'kin S.A., Dikarev V.G., Oudalova A.A., Dikareva N.S.** Patterns of induction by low doses of ionizing radiation of cytogenetic damage in the root meristem of barley seedlings. *Radiatsionnaya biologiya. Radioecologia – Radiation Biology. Radioecology*, 1999, vol. 39, no. 4, pp. 373-383. (In Russian).
15. **George J.T., Patel B.B., Rane V.A., Venu-Babu P., Eapen S., Singhal R.K., Pius J., Narula B., Shankhadarwar S.** Non-linear dose response of a few plant taxa to acute gamma radiation. *Cytologia*, 2014, vol. 79, no. 1, pp. 103-109.
16. **Zyblitskaya E.Ya., Kaltchenko V.A., Alexakhin R.M., Zuev N.D.** Kinetics of absorbed doses formation and the effect of chronic β -radiation on cytogenetic parameters and yield in barley. *Radiobiologia – Radiobiology*, 1984, vol. 24, no. 6, pp. 774-778. (In Russian).
17. **Geras'kin S.A.** The concept of the biological effect of low doses of ionizing radiation on cells. *Radiatsionnaya biologiya. Radioecologia – Radiation Biology. Radioecology*, 1995, vol. 35, no. 5, pp. 563-571. (In Russian).