

**КУМУЛЯТИВНІ ЕФЕКТИ ХРОНІЧНОГО ОПРОМІНЕННЯ РОСЛИН
ЧОРНОБИЛЬСЬКОЇ ЗОНИ ВІДЧУЖЕННЯ****О. П. Кравець, Д. М. Гродзинський, Л. О. Мазур***Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київ*

На прикладі щавлю кінського (*Rumex confertus*) та люпину (*Lupinus polycolor*), що протягом декількох поколінь росли в умовах підвищеного радіоактивного фону досліджено трансформацію біологічних та радіобіологічних властивостей рослин зони відчуження ЧАЕС.

Оцінки біологічної ефективності наднизьких інтенсивностей постійно діючих стресових факторів є основою прогнозування майбутнього біосфери. На сьогодні нагромаджено значний експериментальний матеріал та спостереження про дію хронічного низькопотужного опромінення на живі істоти. Такий матеріал було одержано на рослинах та тваринах з району Сиктивкару, зон Киштимської та Чорнобильської аварій [1 - 5].

Нагромаджено багато свідчень як про виникнення та збереження в ряді поколінь генетичної та фізіологічної несталості, формування виснаження організмів, радіосенсибілізації, так і відносно появи радіоадаптованості [4,5].

Разом з тим існуючі відомості не дають змоги розібратися у суттєвих принципах організації відгуку рослин та тварин на довготривалу дію низькопотужного опромінення, характеру їх формування в часі, вилучити можливості та часові характеристики радіосенсибілізації або індукції генетичної та фізіологічної адаптації, їх взаємозв'язку, пов'язати ефекти, що спостерігаються, з вихідною радіостійкістю об'єктів та їхньою життєвою стратегією.

Метою досліджень, викладених у даній статті, було проведення першого етапу дослідження кумулятивних ефектів пролонгованого опромінення низької потужності – виявлення поступової зміни спектра біологічних та радіобіологічних властивостей рослин, що протягом тривалого часу (8 - 12) років й відповідно декількох поколінь перебували в умовах підвищеного радіаційного фону. Проаналізовано специфіку морфології та фізіологічних характеристик рослин та зібраного у зоні відчуження насіння, рослин, що походили з цього насіння та вирощувалися в умовах водної та ґрунтової культури в лабораторних умовах. У центрі уваги було виявлення можливих змін радіобіологічних властивостей рослин.

Матеріали та методи

Збір насіння проводили в різних ділянках зони відчуження з діапазоном варіювання потужності експозиційної дози у 1998 р. від 30 (с. Копачі) до 140 мРн/год (с. Янів). Потужність дози визначали радіометром ДП-5.

При вивченні сформульованих вище питань використовували як традиційні підходи ботаніки та фізіології рослин, так і радіобіологічні методи, тобто побудову серії дозових залежностей і фракціонування опромінення. Досліди з рослинами, що походили з насіння, зібраного в зоні відчуження, проводили в умовах водної та ґрунтової культур. Діапазон доз гострого опромінення становив 100 - 300 Гр. Проводили фракціонування однієї дози 200 Гр з інтервалом 4 год. У всіх випадках опромінювали сухе насіння.

Як інтегральний показник змін у біохімічному складі рослин було використано іонообмінну ємність їх тканин. Для дослідження використовували 20-денні проростки щавлю та люпину, які походили з контрольного насіння (Ботанічний сад НАН України, Київ) та дослідних варіантів (села Янів та Копачі). Оцінку змін іонообмінної ємності тканин рослин, що виростили з насіння різного походження, проводили за методом Крука з модифікацією Бламея. Статистичну обробку результатів проводили за загальноприйнятими методами.

Результати та обговорення

Одержані результати свідчать про значні зміни біологічних характеристик насіння піддослідних рослин. Було встановлено, що насіння *Rumex confertus* значно відрізняється від контрольного масою 1000 насінин (рис. 1), забарвленням (рис. 2) та гетерокарпією, тобто появою значної кількості нетипового за формою насіння (рис. 3), співвідношенням фракцій мілкового та нормального насіння (рис. 4). Як відомо, для кінського щавлю як представника родини *Polygonaceae* типовою є гексаедрична форма. У випадку насіння, зібраного з різних

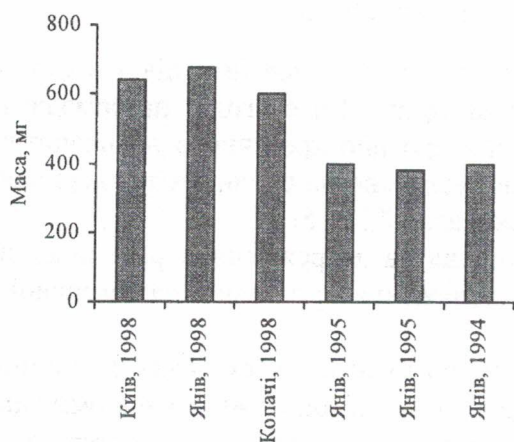


Рис. 1. Маса 1000 насінин *Rumex confertus* різних популяцій.

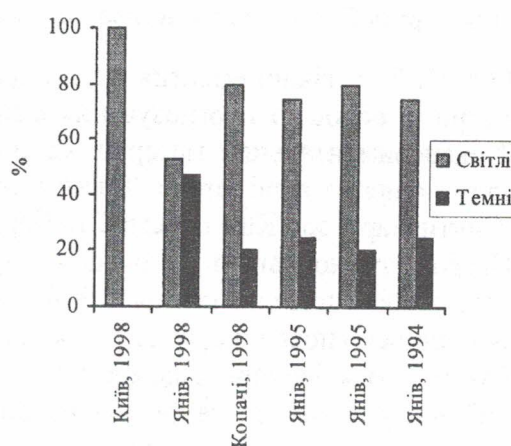


Рис. 2. Співвідношення фракцій насіння відмінних за забарвленням *Rumex confertus* різного походження.

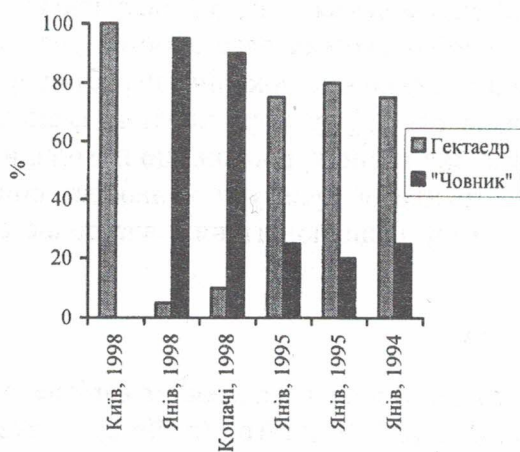


Рис. 3. Співвідношення фракцій різного за формою насіння *Rumex confertus* різних популяцій.

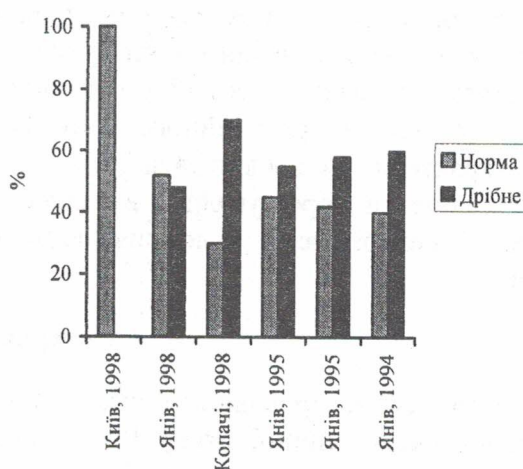


Рис. 4. Співвідношення фракцій нормального за розмірами та дрібного насіння *Rumex confertus* різних популяцій.

ділянок зони відчуження, що характеризувалися як різною потужністю експозиційної дози, так і різними вихідними екологічними умовами, досить великі його фракції мали човноподібну форму. Як показано на наведених гістограмах, перераховані зміни маси, розміру, кольору та форми носять стійкий характер, тобто спостерігаються для всіх проб насіння, що розрізняються як роком збирання, так і ділянкою збору, але мають немонотонну динаміку. Остання особливість змін непрямим чином свідчить про те, що додаткове дозове навантаження, яке нагромаджували рослини протягом декількох років, має вирішальну роль у трансформації цих характеристик, але не є єдиним діючим фактором. Помітні зміни у

морфології та забарвленні спостерігалися й у насіння люпину (рис. 5): збільшувалася фракція дрібного насіння, яке було зморшкуватим та більш темного кольору. У цілому для цього виду відмінності між контрольним та насінням із зони відчуження були менш чіткими.

Мають місце значні відмінності й у кінетиці проростання усіх проб насіння, відібраних із різних ділянок зони відчуження (рис. 6). Використання сполучення попереднього адаптуючого та провокуючого опромінення показало суттєвий гормезисний ефект на дію першого опромінення у насіння з с. Янів.

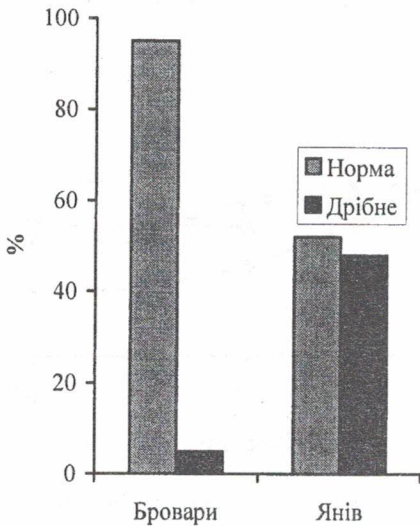


Рис. 5. Співвідношення фракцій нормального за розмірами та дрібного насіння *Lupinus polycolor* різних популяцій.

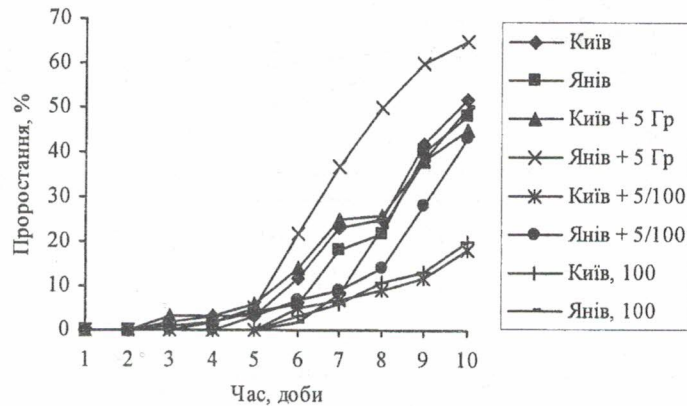


Рис. 6. Кінетика проростання різних популяцій насіння *Rumex confertus* при сполученні адаптуючого та провокуючого опромінення.

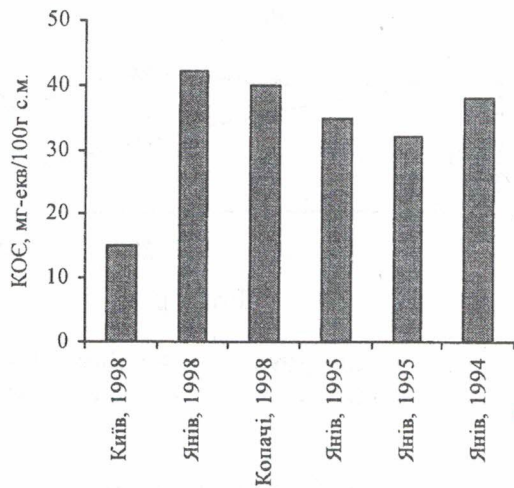


Рис. 7. Зміни іонообмінної ємності тканин наземної частини рослин *Rumex confertus* (КОЕ – коефіцієнт обмінної ємності).

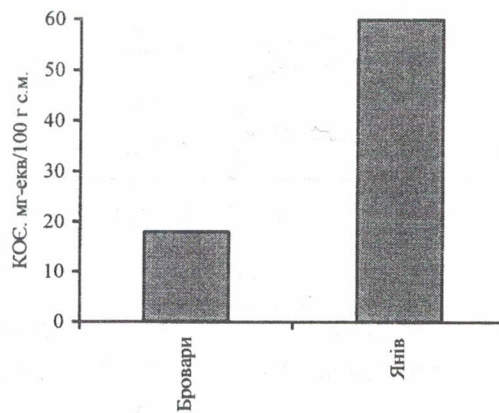


Рис. 8. Зміни іонообмінної ємності тканин наземної частини рослин *Lupinus polycolor* (КОЕ – коефіцієнт обмінної ємності).

Оцінка змін іонообмінної ємності тканин рослин, що походили із зібраного у зоні відчуження насіння, мала дві мети: по-перше, іонообмінна ємність рослинних тканин є інтегральним показником їх біохімічного складу і її зміни віддзеркалюють трансформацію цього показника; по-друге, ми шукали пояснення спостереженням про підвищення (усне повідомлення М. М. Хомляк), або ж нетипову динаміку зниження коефіцієнтів переходу радіонуклідів (^{137}Cs) в зоні відчуження. У наших попередніх дослідженнях [6] було встанов-

лено високий корелятивний зв'язок ($R = (0,89 - 0,95)$) між іонообмінною ємністю рослинних тканин та коефіцієнтами нагромадження радіонуклідів.

Як показано на гістограмах (рис. 7 і 8), спостерігаються значні зміни (збільшення у три - чотири рази) цього показника як для рослин шавлю, так і для рослин люпину.

У серії дослідів показано значні зміни в радіобіологічних характеристиках як рослин кінського шавлю, так і рослин люпину. Дозові залежності, побудовані в інтервалі 0 - 300 Гр, свідчать про значне підвищення радіостійкості процесу проростання всіх піддослідних популяцій насіння шавлю та люпину (рис. 9 - 13). Оцінка змін радіостійкості проростання кінського шавлю та люпину проводилася протягом двох років, вони взагалі мали 12 повторностей.

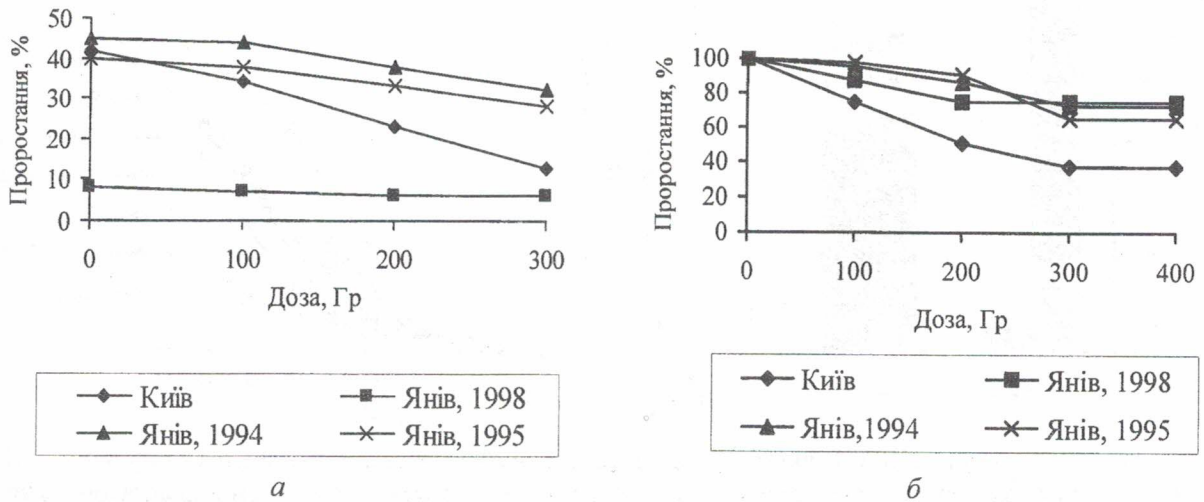


Рис. 9. Дозова залежність проростання різних популяцій насіння *Rumex confertus*. Абсолютні (а) та відносні (б) показники. Весна 1999 р.

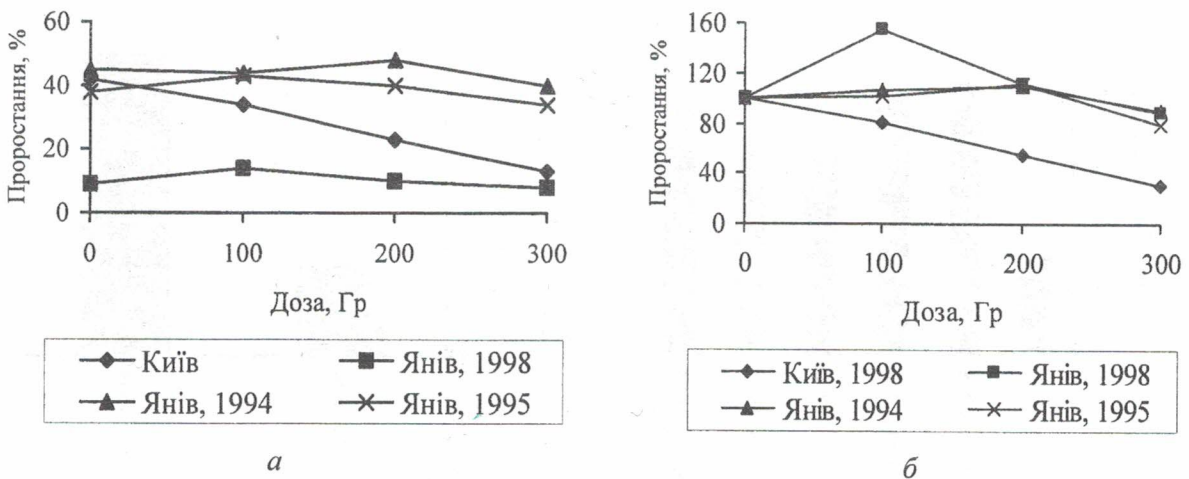


Рис. 10. Дозова залежність проростання різних популяцій насіння *Rumex confertus*. Абсолютні (а) та відносні (б) показники. Літо 1999 р.

Виявлено цікаву особливість дозових залежностей: якщо у весняні місяці спостерігалися монотонні дозові залежності, то в літні місяці мав місце яскравий ефект радіостимуляції у чорнобильських варіантів в інтервалі доз 100 - 200 Гр. Немонотонний, нетиповий характер дозових залежностей, що спостерігався в "чорнобильській" зразків у діапазоні "великих" доз нагадує дозові залежності різноманітних об'єктів, що не одержували попереднього тривалого опромінення низької потужності, але були опромінені малими дозами [7]. На графіках одержані дані представлені як в абсолютних (% проростання від

загальної вибірки, що пророщувалася), так і у відносних показниках (% від проростання при 0 дозі). Такий спосіб представлення даних обумовлено необхідністю відзначити поступові зміни в абсолютних показниках проростання, які спостерігалися в насінні кінського щавлю збору 1998 р. Для цієї популяції насіння спостерігалися дуже низькі показники проростання, що поступово підвищилися за два роки з 9 до 16 %. Для контрольного та насіння 1994 - 1995 рр. збору цей ефект не спостерігався. З порівняння цих змін у характері дозових залежностей за абсолютними показниками та даними кінетики проростання можна зробити висновок про існування стійкого ефекту затримки проростання в насінні "чорнобильського" походження. Можливо це явище відображає підвищення гетерогенності популяції насіння за строками проростання, що теж слід віднести до адаптаційних явищ.

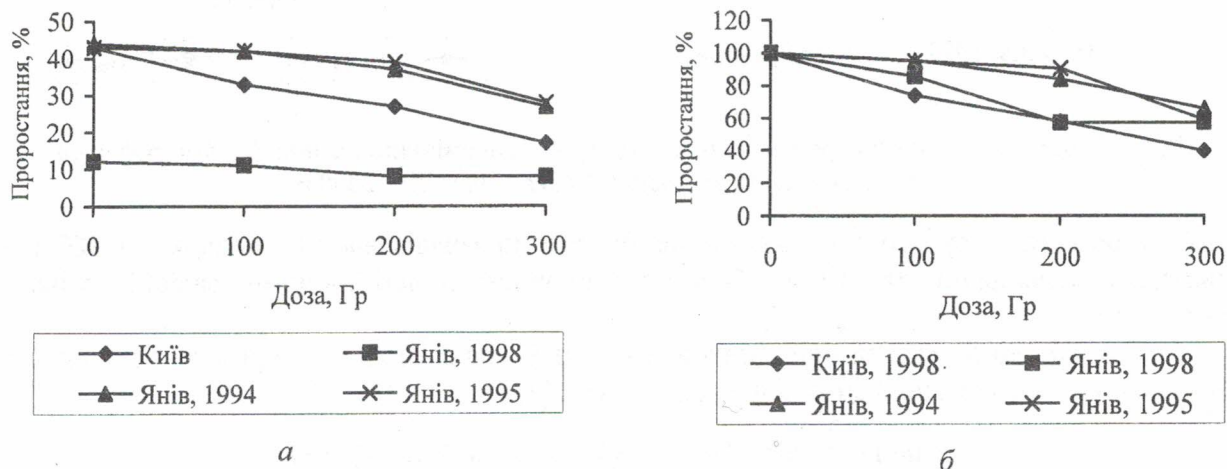


Рис. 11. Дозова залежність проростання різних популяцій насіння *Rumex confertus*. Абсолютні (а) та відносні (б) показники. Весна 2000 р.

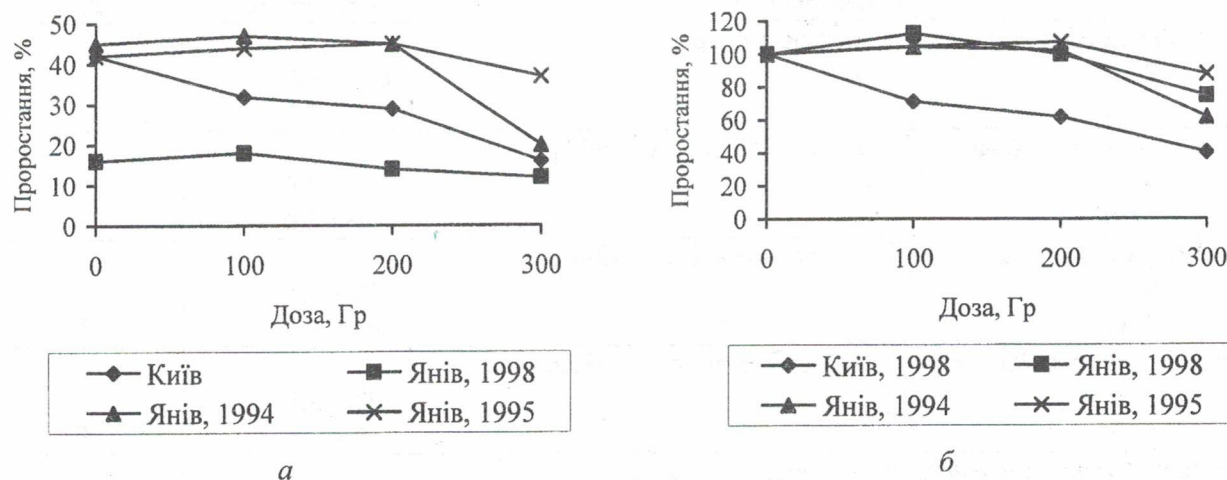


Рис. 12. Дозова залежність проростання різних популяцій насіння *Rumex confertus*. Абсолютні (а) та відносні (б) показники. Літо 2000 р.

Проведено оцінку реакції на фракціонування дози процесу проростання як насіння кінського щавлю, так і насіння люпину. Одержані результати свідчать про незначне, але достовірне зростання фактора зменшення дози (ФЗД) (таблиця), особливо для насіння щавлю 1998 р. збирання та люпину. Як відомо, реакцію на фракціонування розглядають як непряме свідчення інтенсивності – індукованих або конститутивних – репараційних процесів. З підвищенням інтенсивності репараційних процесів пов'язують ефект радіоадаптації й авторитетні автори роботи, проведеної на природних популяціях рослин Східно-Уральського радіоактивного сліду [2]. Разом з тим таке пояснення важко прийняти у випадку як фракціонованого опромінення так і опромінення в режимі "адаптуюча - провокуюча доза" метаболічно неак-

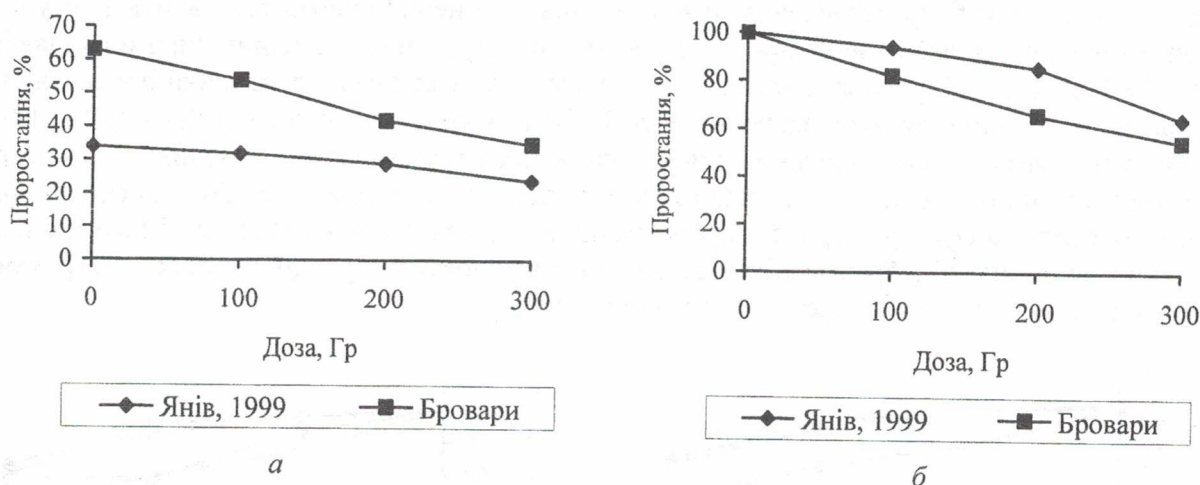


Рис. 13. Дозова залежність проростання при гострому опроміненні насіння *Lupinus polycolor*. Абсолютні (а) та відносні (б) показники. Літо 2000 р.

тивного об'єкта – сухого насіння, як це було в проаналізованому випадку. Найбільш вірогідне пояснення цих ефектів ми вбачаємо у використанні добре відомих радіобіологічних фактів, а саме:

а) до 80 - 90 % радіаційного ушкодження ДНК пов'язано не з непрямою дією опромінення, а з опосередкованою дією вільних радикалів [7, 8];

Реакція насіння *Rumex confertus* та *Lupinus polycolor* на фракціонування дози 200 Гр (літо 2000 р.)

Місце збору, вид рослин та інтервал між фракціями опромінення	Показники зміни дози	
	% проростання	ФЗД
Київ. <i>Rumex confertus</i> , насіння врожаю 1998 р.	0	61 ± 4,2
	4 год	73,2 ± 3,9
Зона відчуження. <i>Rumex confertus</i> , насіння врожаю 1998 р.	0	1,07 ± 4,6
	4 год	1,10 ± 5,0
Зона відчуження. <i>Rumex confertus</i> , насіння врожаю 1994 р.	0	102 ± 3,1
	4 год	103 ± 3,7
Зона відчуження. <i>Rumex confertus</i> , насіння врожаю 1995 р.	0	102 ± 3,1
	4 год	110 ± 3,8
Бровари. <i>Lupinus polycolor</i> , насіння врожаю 1995 р.	0	66,0 ± 4,5
	4 год	83 ± 2,8
с. Янів. <i>Lupinus polycolor</i> , насіння врожаю 1995 р.	0	85,5 ± 3,2
	4 год	100 ± 3,4

б) стимуляції опроміненням вільнорадикальних процесів, включаючи й перекисне окислення ненасичених жирних кислот як у вегетуючих рослин, так і в сухого насіння [9];

в) зниженні таким чином вмісту ненасичених жирних кислот – основного субстрату для утворення вільних радикалів як у мембранах клітин зародка, так і в запасних тканинах;

г) за рахунок останнього факту вихід вільних радикалів після другого опромінення (у схемах фракціонованого опромінення або дії “адаптуєчого – провокуєчого” опромінення) буде значно знижені;

д) подальше замочування насіння, підвищення вмісту води та активізація метаболізму приводить до підвищення рухливості вільних радикалів та можливостей до утворення ушкоджень ДНК.

Таким чином, із залученням даних по фракціонованому опроміненню та опроміненню в режимі “адаптуюча - провокуюча доза” зміни радіочутливості насіння, що походить від рослин зони відчуження, можна несуперечливо пояснити не підвищенням репараційних процесів ушкоджень, що вже утворилися, а створенням такої біохімічної ситуації, яка приводить до зниження виходу ушкоджень у зв'язку зі зниженням вмісту субстрату для вільнорадикальних процесів. Великий обсяг сучасних даних з радіаційної біохімії адаптивної відповіді свідчить на користь цієї гіпотези [7, 8].

Весь комплекс спостережень свідчить про те, що за період існування в умовах підвищеного радіаційного фону у двох досліджених видів відбулися певні зміни біологічних властивостей і значні зміни радіостійкості досліджених популяцій рослин. У даному конкретному випадку кумулятивні ефекти набули форми адаптації, зміни радіочутливості та радіостійкості представників досліджених видів. Виникає питання про дозову “вартість” цього феномену, тобто про дози, нагромадження яких обумовлює виявлену зміну біологічних та радіобіологічних характеристик об'єкта. Їх оцінка є складним і дискусійним питанням. Популяції дикоростучих рослин радіоактивно забруднених територій є складним об'єктом опромінення й оцінка міри дозового навантаження має певні невизначеності та ускладнення. По-перше, ці оцінки мають відображати той факт, що мала місце безперервна дія опромінення на низьку покоління, яке опромінювалося в різних функціональних станах: у стадії насіння та вегетуючих рослин. По-друге, важливо, але важко відокремити ефект дії опромінення на рослини певного покоління, оскільки не відомо, який час насіння, що дало вегетуючі рослини, перебувало у стані спокою. Відомо, що насіння рослин-дикунів має розтягнутий період проростання, що може тривати декілька років, а в умовах підвищеного екологічного навантаження цей час може значно змінюватися [9]. У зв'язку з цим вважаємо доцільним як міру дозового навантаження використовувати не середню дозу за рік [10], а дозу, нагромаджену усіма попередніми поколіннями.

Розрахунок нагромаджених доз тільки зовнішнього опромінення свідчить про нагромадження 12 поколіннями рослин доз, що дорівнюють 40 та 185 Гр. Крім того мало місце внутрішнє опромінення за рахунок інкорпорованих радіонуклідів, яке нами не враховано.

Формування адаптації до дії певного фактора (групи факторів) є яскравим прикладом процесів самоорганізації, включаючи прояви механізмів самозбереження живого. Відповідно до сучасних уявлень існує генетична та фізіологічні форми адаптації; у свою чергу фізіологічну адаптацію розділяють на функціональну, при якій змінюються тільки реакції біосистем організму або його поведінка на короткому проміжку часу, та структурно-функціональну, при якій у результаті постійної дії фактора функціональні зміни закріплюються в структурі біосистем, що пов'язано з епігенетичними змінами в організмі.

Те, що в радіобіології дістало назву адаптивної відповіді (АВ) належить, безумовно до функціональної адаптації, а швидше за все комплекс явищ, що спостерігаються в цьому випадку, слід відносити до реакцій підтримки гомеостазу – постійності внутрішнього середовища організму.

Таким чином у рамках існуючих уявлень для пояснення виникнення адаптації можна припустити такі можливості: 1) радіаційний мутагенез, що привів до появи відповідної мутації(й) та радіостійкості в окремих індивідуумів з наступним відбором у поколіннях; 2) відбір у поколіннях уже існуючих радіостійких індивідуумів із формуванням радіостійких рас; 3) поступові епігенетичні перебудови в поколіннях, що пов'язані зі зміною в результаті конкуренції експресивності генів та “підгонкою” оптимумів функціонування окремих ферментативних систем до змін оточуючого середовища [11]; 4) поступові зміни частоти епігенетичних модифікацій у поколіннях за рахунок дії природного добору.

Імовірність першої з перерахованих можливостей є настільки низькою, що її можна розглядати як цілком нереальну.

Характер проведення досліджень виключає можливість остаточного вибору між наступними можливостями, хоча ми вважаємо більш реалістичним пояснення кумулятивних ефектів, що спостерігаються, поступовими епігенетичними змінами, підсиленими природним добром.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Шевченко В.А., Печкуренков В.Л., Абрамов В.И. Радиационная генетика природных популяций. Генетические последствия Кыштымской аварии. - М.: Наука, 1992. - 221 с.
2. Кальченко В.А., Рубанович А.В., Шевченко В.А. Генетические процессы в хронически облучаемых популяциях *Centaurea scabiosa* L., произрастающих на Восточно-Уральском радиоактивном следе // Рад. биол. Радиоэкология. - 1995. - Т. 35, вып. 5. - С. 708 - 720.
3. Шевченко В.А., Кальченко В.А., Абрамов В.И. и др. Генетические эффекты в популяциях растений, произрастающих в зонах Кыштымской и Чернобыльской аварии // Рад. биол. Радиоэкология. - 1999. - Т. 39, № 1. - С. 162 - 177.
4. Абрамов В.И., Динева С.Б., Рубанович А.В., Шевченко В.А. Генетические последствия радиоактивного загрязнения популяций *Arabidopsis thaliana*, произрастающих в 30-километровой зоне аварии на ЧАЭС // Рад. биол. Радиоэкология. - 1995. - Т. 35, вып. 5. - С. 690 - 688.
5. Лысенко Е.А., Кальченко В.А., Шевченко В.А. Изменчивость полиморфных систем *Centaurea scabiosa* L. под действием хронического облучения // Там же. - 1999. - Т. 39, № 6. - С. 623 - 630.
6. Кравец А.П. Факторы физиологического контроля накопления радионуклидов культурными растениями // Физиология и биох. культурных растений. - 1999. - Т. 31, № 5. - С. 455 - 462.
7. Бурлакова Е.Б., Голощанов А.Н., Жижина Г.П., Конрадов А.А. Новые аспекты закономерностей действия низкоинтенсивного облучения в малых дозах // Рад. биол. Радиоэкология. - 1999. - Т. 39, № 1. - С. 26 - 35.
8. Эйдус Л.Х. Мембранный механизм биологического действия малых доз // М., 2001. - 82 с.
9. Бідзіля М.І. Вільні радикали в опромінених рослинах та насінні. - К.: Наук. думка, 2000. - 208 с.
10. Миркин Б.М. Что такое растительные сообщества. - М.: Наука, 1986. - 164 с.
11. Лежачий Э. Элементы общей теории адаптации. - Вильнюс: Моклас, 1986. - 272 с.

КУМУЛЯТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ РАСТЕНИЙ ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ ЗОНЫ ОТЧУЖДЕНИЯ

А. П. Кравец, Д. М. Гродзинский, Л. А. Мазур

На примере щавеля конского (*Rumex confertus*) и люпина (*Lupinus polycolor*) исследовано трансформацию биологических и радиобиологических свойств растений зоны отчуждения ЧАЭС, которые на протяжении нескольких поколений произрастали в условиях повышенного радиоактивного фона.

CUMULATIVE EFFECTS OF PROTRACTED IRRADIATION OF CHORNOBYL EXCLUSIVE ZONE PLANTS

A. P. Kravets, D. M. Grodzinsky, L. A. Mazur

The biological and radiobiological peculiarities of seeds and seedlings of the *Rumex confertus* and *Lupinus polycolor* plants, which grown during several generations in plots with different level of radionuclide pollution of the Chornobyl exclusive zone have been investigated.

Надійшла до редакції 22.07.04,
після доопрацювання – 11.02.05.