

Цитогенетические нарушения у водного растения *Elodea canadensis* в зоне техногенного загрязнения р. Енисей

М. Ю. МЕДВЕДЕВА, А. Я. БОЛСУНОВСКИЙ, Т. А. ЗОТИНА

Институт биофизики СО РАН
660036, Красноярск, Академгородок
E-mail: t_zotina@ibp.ru

Статья поступила 30.11.2013

АННОТАЦИЯ

Исследованы аномалии хромосом в ана-телофазных клетках апикальной корневой меристемы водного растения *Elodea canadensis*, собранных в 2011–2012 гг. в р. Енисей на фоновом участке и на участке, загрязненном техногенными радионуклидами, а также подверженном химическому загрязнению от промышленно-коммунального комплекса г. Красноярска. Минимальная частота клеток с нарушениями (5,2 %) зарегистрирована в корнях растений с фонового участка р. Енисей, расположенного выше г. Красноярска, максимальная (39,7 %) – в клетках элодеи, вегетирующей на донных отложениях (ДО) с самым высоким содержанием ^{137}Cs . Выявлена положительная корреляция суммарной частоты клеток с цитогенетическими нарушениями ($r^2 = 0,91-0,96$; $p < 0,0005$), а также частоты клеток с различными типами нарушений ($r^2 = 0,58-0,92$; $p < 0,05$) от суммарного содержания радионуклидов, содержания техногенных радионуклидов и ^{137}Cs в корнеобитаемом слое ДО р. Енисей.

Ключевые слова: *Elodea canadensis*, донные отложения, аномалии хромосом, техногенные радионуклиды, тяжелые металлы, генотоксичность.

В результате эксплуатации ядерных реакторов и радиохимического производства на Горно-химическом комбинате госкорпорации “Росатом” (ГХК, г. Железногорск), р. Енисей загрязнена техногенными радионуклидами, в том числе трансурановыми элементами [Bolsunovsky, Bondareva, 2007]. Во время работы реакторного производства на ГХК в биомассе погруженных макрофитов р. Енисей регистрировалось более 20 техногенных радионуклидов, характерных для сбросов ГХК [Болсуновский и др., 2002]. К числу массовых видов макрофитов, вегетирующих в р. Енисей, как в зоне техногенного загрязнения, так и на фоновых участках, относится *Elodea canadensis* Michx. (элодея канадская) [Зотина, 2014]. Цитогенетические характери-

стики *E. canadensis*, вегетирующей в р. Енисей, хорошо изучены [Муратова и др., 2006а]. Проведенные ранее исследования показали, что на участке р. Енисей, расположенном в зоне радиоактивного загрязнения, значительно возрастала частота цитогенетических нарушений в клетках корней элодеи по сравнению с растениями, вегетирующими в р. Енисей выше сбросов ГХК [Муратова и др., 2006б; Болсуновский и др., 2007; Bolsunovsky et al., 2009]. Цитогенетические нарушения в корневой меристеме растений используются как показатели цито- и генотоксичности при оценке качества среды обитания [Evseeva et al., 2003; Abdel Migit et al., 2007; Geras'kin et al., 2011; Шевцова, Гудков, 2012]. Установлена зависимость цитогенетических нару-

шений в клетках корней водных растений из водоемов Чернобыльской зоны отчуждения от дозы облучения [Shevtsova, Gudkov, 2009; Шевцова, Гудков, 2012].

После остановки реакторного производства на ГХК в апреле 2010 г. уровень радиоактивных сбросов в р. Енисей значительно снизился [Александрова, Болсуновский, 2012]. Однако за время работы ГХК в донных отложениях реки накопилась значительная активность долгоживущих техногенных радионуклидов [Bolsunovsky, Bondareva, 2007], которые формируют дозу облучения укорененных макрофитов.

Цель данной работы – оценить зависимость цитогенетических нарушений в корнях водного растения *E. canadensis* от содержания техногенных радионуклидов и тяжелых металлов в донных отложениях р. Енисей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Растения и донные отложения отбирали в р. Енисей на участке протяженностью до 330 км по течению реки от г. Красноярск до устья р. Ангара. Одна точка отбора располагалась выше г. Красноярск со стороны левого берега и рассматривалась как фоновая (табл. 1, рис. 1). Расстояние по течению реки определялось по лодии [Карта..., 2008], где за точку отсчета принят речной вокзал г. Красноярск. Пробы отбирали в 2011 и в 2012 гг.

Биомассу погруженных макрофитов *Elodea canadensis* (элодея канадская) собирали в августе–октябре, одна проба была отобрана в июне (с. Есаулово, 2012 г.), в местах их массовой вегетации в прибрежной зоне реки на глубине до 0,5 м. После отбора пробы биомассы промывали речной водой, сушили при 105 °С до постоянной массы, а затем озоляли при 450 °С. Пробы донных отложений собирали из корнеобитаемого слоя глубиной до 20 см от их поверхности и сушили при 105 °С до постоянной массы. Удельную активность радионуклидов в пробах биомассы и донных отложений измеряли на гамма-спектрометре со сверхчистым германиевым детектором (Canberra, США). Спектры анализировали с помощью программного обеспечения Genie-2000 (Canberra, США). Величины активности корректировали на дату отбора проб. Результаты приведены в Бк/кг сухой массы.

Валовое содержание металлов определяли в абсолютно сухих пробах биомассы макрофитов и донных отложений после их минерализации, как описано ранее [Анищенко и др., 2010]. Содержание Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Cr, Ni, Pb, Cd в минерализованных пробах измеряли на атомно-абсорбционном спектрофотометре “ААС Квант 2А” (ГОСТ 30692 – 2000, ИСО 8288–86). Анализ проводили в двух повторностях. Результаты приведены как среднее для двух повторностей в мг/кг сухой массы проб. Анализы выполнены в аналитической лаборатории Института биофизики СО РАН.

Т а б л и ц а 1

Расположение точек отбора проб растений и донных отложений в р. Енисей

№ точки отбора	Берег	Расстояние от г. Краснояр- ска по течению реки, км	Расстояние от ГХК по течению реки, км	Ближайший населенный пункт
1	Западный	–14		пос. Удачный
2	Восточный	43		с. Есаулово
3		80,5	0,5	с. Атаманово
4		85	5	
5		87	7	
6		94	14	с. Бол. Балчуг
7		96	16	
8	Западный	278	192	с. Захаровка
9	Восточный	316	236	с. Новокаргино
10		324	244	пос. Стрелка



Рис. 1. Карта-схема участка р. Енисей с указанием точек отбора проб

Для исследования цитогенетических характеристик корни элодеи канадской фиксировали в уксусном спирте (3 части 96%-ного этанола и 1 часть ледяной уксусной кислоты) сразу после отбора и отделения от растений. Через несколько суток корни окрашивали 2%-ным ацетоорсеином: 2 г $C_{28}H_{24}N_2O_7$ (СИНБИАС, Украина) на 100 мл 45%-ной CH_3COOH (ХЧ, ООО "Лега", г. Дзержинск, Россия). Корешки помещали в фарфоровый тигель с ацетоорсеином, тигель накрывали часовым стеклом и нагревали 2–3 раза над пламенем спиртовки до появления конденсата на стекле, но не доводя до кипения. Затем корешки помещали в свежий раствор красителя и выдерживали в этом растворе в течение 1–2 сут при 4 °С для получения интенсивного окрашивания хромосом. Окрашенные кончики корней (длиной до 2 мм) помещали на предметное стекло в каплю 45%-ного раствора уксусной кислоты, накрывали покровным стеклом и раздавливали апикальную меристему до равномерного распределения клеток.

Полученные временные препараты просматривали сразу после их приготовления с

помощью микроскопа Микмед-2 (ЛОМО, Россия) и фотографировали. Исследовались аномалии в делящихся клетках на стадиях ана-телофазы клеточного цикла. В каждом препарате анализировалось не менее ста ана-телофазных клеток. Для каждой точки отбора макрофитов анализировали 20–40 препаратов апикальной меристемы корней. Частоту клеток с цитогенетическими аномалиями оценивали как отношение числа клеток, содержащих аномалию, к общему числу просмотренных ана-телофазных клеток и выражали в %. Долю клеток с определенным типом аномалий оценивали как отношение числа клеток с данной аномалией к общему числу клеток, содержащих аномалии, и выражали в %.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Цитогенетические нарушения в корнях растений. В пробах корней элодеи, собранных в р. Енисей выше сбросов ГХК, в точках отбора № 1 и 2 (пос. Удачный и с. Есаулово) в 2012 г., частота клеток с цитогенетическими нарушениями составляла 5,3–6,8 % (табл. 2). Между собой эти два значения достоверно не различаются ($p < 0,05$), но оба значения были достоверно ниже ($p < 0,05$) аналогичных величин в точках отбора № 3–6, 8, 10. Максимальная частота клеток с нарушениями зарегистрирована в точке отбора № 10, близи пос. Стрелка ($p < 0,05$). В пробах корней, собранных на участке р. Енисей, расположенном ниже сбросов ГХК (вблизи сел Атаманово, Бол. Балчуг, Захаровка, Новокаргино, пос. Стрелка), частота клеток с цитогенетическими нарушениями составляла 6,9–39,7 %.

Вид ана-телофазной клетки в норме приведен на рис 2, а. В спектр цитогенетических нарушений в клетках элодеи входили мосты (разорванные и целые, единичные и множественные) (см. рис. 2, б, в, г), дезориентация (=выброс) и отстаивание хромосом (см. рис. 2, д, е), асимметричное и многополюсное расхождение хромосом (см. рис. 2, ж, з), агглютинация хромосом (см. рис. 2, и), остаточные ядрышки (см. рис. 2, к), кольцевые хромосомы (см. рис. 2, л) и некоторые другие аномалии. Также встречались клетки с

Т а б л и ц а 2

Частота клеток с цитогенетическими нарушениями в корнях *E. canadensis* (%), средн. знач. \pm дов. инт. 95 %), собранной в р. Енисей на разном удалении от г. Красноярска

Участок реки	№ точки отбора	Число препаратов	Число ана-телофаз	Частота клеток с нарушениями, %					
				сумма	типы нарушений*				
					1	2	3	4	5
Выше Красноярска	1	24	1069	5,3 \pm 1,2	2,2	1,6	1,5	0,0	0,0
Ниже Красноярска	2	24	1576	6,8 \pm 1,3	4,9	1,3	0,3	0,1	0,2
Ниже ГХК	3	24	1570	14,8 \pm 4,3	11,1	1,5	1,6	0,4	0,1
	4	24	1556	11,6 \pm 2,7	6,0	3,3	0,7	0,5	1,0
	5	21	1131	15,7 \pm 4,3	7,1	6,1	2,4	0,0	0,2
	6	20	856	10,9 \pm 2,8	6,7	1,1	0,7	1,2	1,3
	7	24	922	6,9 \pm 1,6	4,1	1,9	0,9	0,0	0,0
	8	22	1481	11,7 \pm 3,0	5,9	4,3	1,3	0,1	0,2
	9	24	1312	7,5 \pm 1,9	5,0	1,8	0,2	0,2	0,5
	10	24	1546	39,7 \pm 11,0	24,4	8,6	2,1	3,1	1,5

* Типы нарушений: 1 – мосты, 2 – выброс и отставание хромосом, 3 – асимметричный и многополюсный митоз, 4 – агглютинации хромосом, 5 – прочие.

множественными аномалиями (см. рис. 2, м). Наиболее частой аномалией были мосты, минимальная частота клеток с мостами отмечена на фоновом участке, расположенном выше г. Красноярска (2,3 %), а на участке ниже сбросов ГХК частота клеток с мостами составляла 4,1–24,4 % (см. табл. 2). Доля клеток с мостами от общего числа клеток с аномалиями составляла 42–75 %. На втором месте по частоте встречаемости находились клетки, содержащие отстающие и дезориентированные хромосомы, 1,1–8,6 % от числа ана-телофазных клеток; доля клеток такими типами аномалий от общего числа клеток с аномалиями составляла 9,7–38,8 %. На третьем месте по частоте встречаемости находились клетки с многополюсным митозом и асимметричным расхождением хромосом (0,2–2,4 %), доля таких клеток от общего числа клеток с аномалиями составляла 4,7–28,1 %. Частота встречаемости клеток с агглютинацией хромосом достигала максимума в корнях элодеи вблизи пос. Стрелка (3,1 %), доля клеток с этой аномалией в общем числе аномальных клеток достигала максимума вблизи с. Бол. Балчуг (10,8 %). Кольцевые хромосомы встречались в корнях растений, отобранных в р. Енисей только в трех точках отбора ниже ГХК и частота таких клеток не превышала 0,14 % (вблизи с. Захаровка), а доля таких

клеток от общего числа клеток с аномалиями не превышала 1,1 % в той же точке отбора. Клетки с остаточными ядрышками (см. рис. 2, к) встречались как выше, так и ниже ГХК, максимальная частота таких клеток отмечена вблизи с. Бол. Балчуг (1,1 %), а их доля в числе клеток с аномалиями достигала 9,7 % в той же точке.

В корнях элодеи из зоны радиоактивного загрязнения р. Енисей встречались клетки с множественными хромосомными аномалиями, например, мостами и многополюсным расхождением хромосом (см. рис. 2, м) и др. Максимальная частота таких клеток (3 %) зарегистрирована в точке отбора № 10 (вблизи пос. Стрелка); доля таких клеток от общего числа клеток с нарушениями достигала 8 %.

Содержание радионуклидов и тяжелых металлов в донных отложениях. В пробах донных отложений (ДО) р. Енисей, собранных в местах отбора проб корней и фитомассы растений, зарегистрирован природный радионуклид ^{40}K , его удельная активность составляла 502–610 Бк/кг. Из техногенных радионуклидов в пробах ДО, собранных в р. Енисей выше сбросов ГХК (вблизи пос. Удачный и с. Есаулово), зарегистрирован только ^{137}Cs , содержание которого не превышало 5 Бк/кг (табл. 3). В пробах ДО, собранных ниже

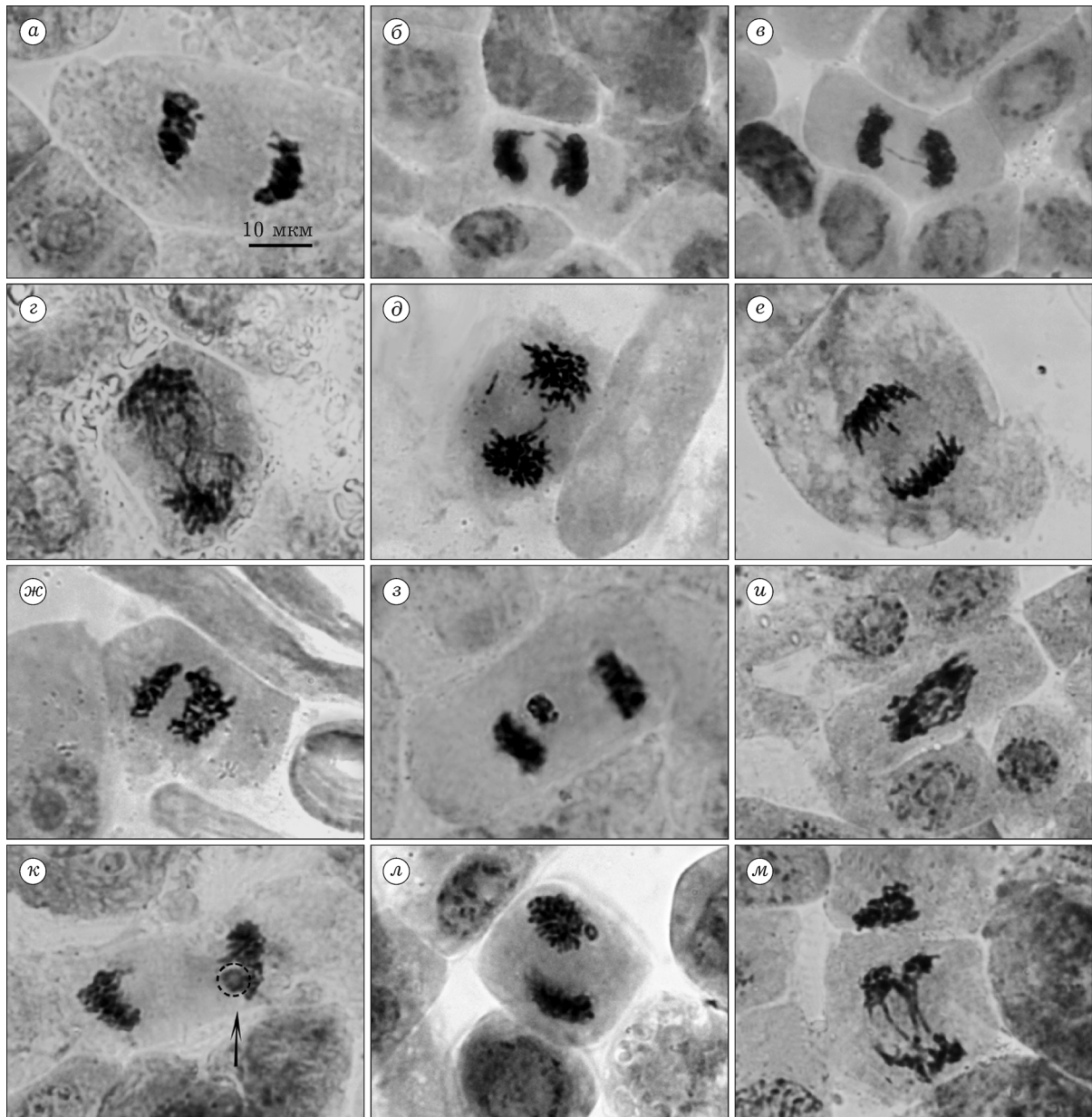


Рис. 2. Типы хромосомных аномалий, встречающиеся в ана-телофазных клетках апикальной корневой меристемы элодеи канадской из р. Енисей. а – нормальная анафаза; б – разорванные мосты; в – целый одиночный мост; г – множественные мосты; д – дезориентированная хромосома (=выброс хромосомы); е – отстающая хромосома; ж – неравномерное расхождение хромосом; з – трехполюсный митоз (третий полюс лежит в другой плоскости); и – агглютинация («склеивание» хромосом); к – остаточное ядрышко (выделено пунктиром); л – кольцевая хромосома, м – клетка с множественными аберрациями (4-полюсное расхождение хромосом и множественные мосты)

ГХК, зарегистрированы такие техногенные радионуклиды как ^{60}Co (минимальное содержание – 1 Бк/кг в точке отбора № 10, максимальное – 199 Бк/кг в точке отбора № 5); ^{152}Eu , ^{154}Eu , ^{155}Eu (с максимальной активностью этих изотопов в точке отбора № 5, равной 432, 67 и 11 Бк/кг соответственно); ^{241}Am

(до 11 ± 1 Бк/кг). Максимальное содержание ^{137}Cs в ДО зарегистрировано в точке отбора № 10 (2676 Бк/кг) (см. табл. 3). Доля ^{137}Cs в суммарной активности техногенных радионуклидов в пробах ДО, отобранных ниже ГХК составляла 54–99%. Максимальная суммарная активность техногенных радионукли-

Содержание радионуклидов (Бк/кг сухой массы, средние значения \pm стандартное отклонение) и тяжелых металлов (средние значения для двух повторностей) в донных отложениях р. Енисей в местах отбора проб корней *E. canadensis*

№ точки отбора	Содержание металлов в донных отложениях, мг/кг										Содержание радионуклидов в донных отложениях, Бк/кг	
	Fe	Cu	Mn	Zn	Ni	Pb	Co	Cr	Cd	Сумма	Техногенные	¹³⁷ Cs
1	19 550	7,6	289	56	34	10,1	11,7	24,7	0,75	503 \pm 27	1,0 \pm 0,2	1,0 \pm 0,2
2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	489 \pm 30	5 \pm 1	5 \pm 1
3	15 197	8,9	214	58	28	7,1	9,0	24,4	0,53	915 \pm 47	305 \pm 11	88 \pm 4
4	27 984	25,4	594	105	42	24,8	15,3	30,1	1,31	886 \pm 50	380 \pm 17	317 \pm 14
5	19 309	18,0	272	113	34	12,8	12,6	29,9	0,91	2070 \pm 83	1467 \pm 49	748 \pm 32
6	17 394	10,3	253	59	29	5,9	9,9	21,6	0,63	814 \pm 43	214 \pm 10	174 \pm 8
7	21 556	20,6	301	111	38	16,4	14,6	34,3	1,10	1176 \pm 49	518 \pm 18	282 \pm 12
8	23 551	16,1	854	84	31	6,0	10,5	12,9	0,03	607 \pm 14	99 \pm 2	72 \pm 1
9	22 670	16,9	588	63	30	7,0	11,7	10,5	0,04	609 \pm 12	82 \pm 2	60 \pm 1
10	29 653	20,7	876	85	34	13,3	12,2	13,2	0,10	3196 \pm 165	2682 \pm 134	2676 \pm 134

Примечание. Прочерк – не определяли.

дов зарегистрирована в ДО вблизи пос. Стрелка (2682 Бк/кг), основу активности составлял ¹³⁷Cs. Вблизи сбросов ГХК (точка отбора № 5) содержание техногенных радионуклидов в корнеобитаемом слое ДО достигало 1467 Бк/кг.

Содержание тяжелых металлов варьировало в пробах ДО в 1,3–2,0 раза для Fe, в 1,2–3,3 раз для Cu, в 1,5–4,1 раза для Mn, до 2,0 раза для Zn, в 1,1–1,5 раза для Ni, в 1,5–4,2 раза для Pb, до 1,7 раза для Co, в 1,1–3,3 раза для Cr, в 1,2–43,7 раза для Cd (см. табл. 3). Минимальные концентрации меди и цинка зарегистрированы в пробе ДО, собранной в р. Енисей выше Красноярска, минимальные концентрации других металлов зарегистрированы в пробах ДО, собранных на участке реки, расположенном ниже ГХК.

Содержание радионуклидов в биомассе растений. В биомассе элодеи канадской из р. Енисей зарегистрирован природный радионуклид ⁴⁰K, которому принадлежала самая высокая удельная активность (841–1528 Бк/кг) (табл. 4). На участке реки, расположенном ниже ГХК, в период работы реакторного производства (2003–2009 гг.) в биомассе элодеи регистрировались техногенные радионуклиды с наведенной активностью (⁴⁶Sc, ⁵¹Cr, ⁵⁴Mn, ⁵⁸Co, ⁶⁰Co, ⁶⁵Zn, ¹⁵²Eu) и продукт ядерного распада ¹³⁷Cs. После остановки реактора (в 2010–2012 гг.) в пробах достоверно регистрировались ⁶⁰Co, ⁶⁵Zn, ¹³⁷Cs и изотопы европия. Максимальная удельная активность техногенных радионуклидов зарегистрирована в биомассе элодеи, собранной вблизи сбросов ГХК (см. табл. 4). Содержание ¹³⁷Cs в биомассе элодеи не уменьшилось после прекращения работы реактора на ГХК и не уменьшалось по мере удаления от сбросов ГХК.

Корреляция цитогенетических нарушений у элодеи с уровнем техногенного загрязнения донных отложений р. Енисей. Корреляционный анализ показал положительную зависимость ($p < 0,05$) суммарной частоты клеток в корнях элодеи, содержащих цитогенетические нарушения, и частоты клеток с различными типами нарушений от содержания ¹³⁷Cs, суммы техногенных радионуклидов, и суммарного содержания природных и техногенных радионуклидов в пробах ДО р. Енисей с достоверно сильной ($r^2 > 0,7$) и средней в единичном случае ($r^2 = 0,58$) кор-

Т а б л и ц а 4

Содержание радионуклидов в пробах биомассы *E. canadensis* (Бк/кг сух. массы, среднее значение \pm стандартное отклонение), собранной в р. Енисей в 2003–2009 гг. и в 2010–2012 гг. вблизи пос. Удачный и сел Есаулово, Атаманово, пос. Стрелка

Радионуклид	пос. Удачный – с. Есаулово		с. Атаманово		пос. Стрелка	
	2003–2009 гг.	2010–2012 гг.	2003–2009 гг.	2010–2012 гг.	2003–2009 гг.	2012 г.
⁴⁰ K	1082 \pm 118	1475 \pm 342	1528 \pm 83	1317 \pm 4	1392 \pm 77	841 \pm 41
⁴⁶ Sc	–	–	37 \pm 1	–	–	–
⁵¹ Cr	–	–	229 \pm 13	–	80 \pm 12	–
⁵⁴ Mn	–	–	30 \pm 6	–	3 \pm 1	–
⁵⁸ Co	–	–	36 \pm 3	–	1,7 \pm 0,3	–
⁶⁰ Co	–	–	185 \pm 31	28 \pm 3	18 \pm 1	–
⁶⁵ Zn	–	–	235 \pm 24	–	8 \pm 1	–
¹³⁷ Cs	–	–	19 \pm 3	62 \pm 27	20 \pm 5	50 \pm 2
¹⁵² Eu	–	–	13 \pm 3	9 \pm 6	3 \pm 1	–
¹⁵⁴ Eu	–	–	–	6 \pm 1	–	–
Сумма техногенных	0	0	784	105	134	50
Сумма	1082	1475	2312	1422	1526	891
Число проб	<i>n</i> = 5	<i>n</i> = 4	<i>n</i> = 3	<i>n</i> = 3	<i>n</i> = 4	<i>n</i> = 1

П р и м е ч а н и е. Прочерк – содержание радионуклида в пробе меньше предела обнаружения.

реляционной связью (табл. 5). Наиболее сильная корреляционная связь отмечена для зависимости суммарной частоты клеток с нарушениями ($r^2 = 0,91$ – $0,96$; $p < 0,0005$) от суммарного содержания природных и техногенных радионуклидов в ДО.

С содержанием железа в ДО положительно коррелировала суммарная частота клеток с цитогенетическими нарушениями ($r^2 = 0,69$; $p < 0,025$), частота клеток с мостами ($r^2 = 0,74$; $p < 0,025$) и частота клеток с агглютинацией хромосом ($r^2 = 0,62$; $p < 0,05$). Также получе-

Т а б л и ц а 5

Корреляционная матрица частоты клеток с цитогенетическими нарушениями в корнях *E. canadensis* и содержания радионуклидов в донных отложениях р. Енисей

Наименование параметра	№	1	2	3	4	5	6	7	8
Суммарное содержание радионуклидов, Бк/кг	1	1							
Содержание техногенных радионуклидов, Бк/кг	2	1	1						
Содержание ¹³⁷ Cs, Бк/кг	3	0,95	0,97	1					
Суммарная частота клеток с нарушениями, %	4	0,91	0,92	0,96	1				
Частота клеток с мостами, %	5	0,85	0,86	0,92	0,98	1			
Частота клеток с отстающими и забегаящими хромосомами, %	6	0,89	0,91	0,87	0,86	0,74	1		
Частота клеток с асимметричным и многополюсным митозом, %	7	0,71	0,70	0,58	0,62	0,53	0,71	1	
Частота клеток с агглютинацией хромосом, %	8	0,75	0,77	0,88	0,91	0,92	0,63	0,34	1

П р и м е ч а н и е. Жирным шрифтом выделены коэффициенты корреляции параметров растения с содержанием радионуклидов в ДО. Для $r^2 > 0,55$ корреляция достоверна при $p < 0,05$, $n = 10$.

на достоверная положительная корреляция суммарной частоты клеток с нарушениями ($r^2 = 0,66$; $p < 0,05$), частоты клеток с мостами ($r^2 = 0,63$; $p < 0,025$) и частоты клеток с отстающими и дезориентированными хромосомами ($r^2 = 0,70$; $p < 0,025$) с содержанием марганца в ДО. Достоверной корреляционной зависимости частоты клеток с цитогенетическими нарушениями в корнях элодеи с содержанием других исследованных металлов в ДО не выявлено.

ОБСУЖДЕНИЕ

Погруженные макрофиты только входят в арсенал экотоксикологов в качестве индикаторов генотоксического и мутагенного действия факторов окружающей среды. Работы, в которых водные растения используются для цитогенетического мониторинга техногенного загрязнения водоемов, пока немногочисленны [Муратова и др., 2006б; Болсуновский и др., 2007; Bolsunovsky et al., 2009; Shevtsova, Gudkov, 2009; Шевцова, Гудков, 2012].

На исследованном нами участке р. Енисей (от г. Красноярска до устья р. Ангара) присутствует техногенное загрязнение двух типов: химическое от промышленно-коммунального и сельскохозяйственного комплексов г. Красноярска и других населенных пунктов, находящихся в зоне водосбора, и радиационное – от ГХК. Оба фактора – химический и радиационный – могут вызвать цитогенетические нарушения в делящихся клетках. В корнях элодеи канадской, произрастающей в р. Енисей, самый низкий уровень цитогенетических нарушений обнаружен на фоновом участке отбора, расположенном выше источников техногенного радиационного и химического загрязнения (выше г. Красноярска). Наиболее высокая частота клеток с цитогенетическими нарушениями зарегистрирована в зоне совместного действия факторов радиационной и химической природы. В результате изучения индукции хромосомных нарушений в лейкоцитах человека под действием ионизирующего излучения были выявлены специфические маркеры недавнего воздействия радиационного фактора, к числу которых относятся аберрации хромосомного типа: дицентрики и центрические кольца

[Rodrigues et al., 2005]. Парные фрагменты и двойные мосты также считаются повреждениями хромосомного типа [Evseeva et al., 2003; Geras'kin et al., 2011]. Парные фрагменты и мосты, а также множественные нарушения в одной делящейся клетке преобладали в корнях тростника обыкновенного из водоемов Чернобыльской зоны отчуждения, характеризующихся наибольшей мощностью дозы облучения, что является свидетельством воздействия радиационного фактора [Шевцова, Гудков, 2011]. Мы не смогли однозначно идентифицировать дицентрические хромосомы ни в метафазе, ни в ана-телофазе клеточного цикла элодеи. Также мы не можем однозначно идентифицировать двойные мосты и фрагменты. Кольцевые структуры мы регистрировали в небольшом числе клеток в корнях элодеи, собранных в р. Енисей в зоне радиационного загрязнения (ниже ГХК) в 2012 г. Кольцевые хромосомы отмечались в корнях элодеи на том же участке и ранее [Болсуновский и др., 2007].

Показателями загрязнения среды обитания ксенобиотиками нерадиационной природы считают аберрации хроматидного типа. К числу аномалий, вызванных повреждением хромосом, возникающих в результате токсического действия таких кластогенных факторов, как тяжелые металлы, относят одиночные мосты. В спектре хромосомных аномалий, зарегистрированных нами в клетках элодеи из р. Енисей мосты преобладали как на фоновом участке, так и в зоне радиационного и химического загрязнения. Частота клеток с мостами в корнях растений, собранных на участке с радиационным и химическим загрязнением была самой высокой. Мосты могут появиться в результате разрыва хромосом, агглютинации (слипания) хромосом, а также разрыва и последующего воссоединения разорванных концов хромосом [Yildiz et al., 2009].

Агглютинацию (слипание хромосом) также относят к аберрациям хроматидного типа, и возникает она в результате повреждений молекул ДНК [Yildiz et al., 2009]. Агглютинация хромосом наблюдалась в корнях лука после воздействия высоких концентраций ионов меди и кобальта [Fiskesjo, 1988; Yildiz et al., 2009]. Мы регистрировали клетки с аг-

глютинацией хромосом в корнях элодеи, отобранных в р. Енисей ниже г. Красноярска, но максимальная частота клеток с данным типом аномалий хромосом зарегистрирована у элодеи из зоны радиоактивного загрязнения р. Енисей.

Кроме повреждения непосредственно хромосом мутагены химической природы могут вызывать повреждения митотического аппарата посредством ингибирования веретена деления. В результате в анафазе клеточного цикла возникают дезориентированные хромосомы, микроядра, отстающие хромосомы [Abdel et al., 2007]. К числу аномалий, обусловленных нарушением работы веретенового механизма, относят также многополюсный митоз [Yildiz et al., 2009]. Нарушения работы веретена деления обусловлены связыванием иона металла с SH-группой белка микротрубочек тубулина. Из числа аномалий, вызванных нарушением веретена деления в корнях элодеи из р. Енисей были зарегистрированы дезориентированные (выброшенные) и отстающие хромосомы, а также многополюсные (чаще трехполюсные) митозы. Частота асимметричных и многополюсных митозов в клетках элодеи достигала 2,4 %. В клетках корней тростника из водоемов Чернобыльской зоны отчуждения отмечают практически полное отсутствие трехполюсных митозов, другие типы аномалий митоза (отстающие хромосомы) авторы не анализировали [Шевцова, Гудков, 2012].

Таким образом, в клетках элодеи, вегетирующей в р. Енисей, преобладали цитогенетические нарушения, обусловленные повреждениями митотического аппарата и хромосом, характерными для действия мутагенных факторов химической природы. Следует отметить, что техногенные радионуклиды, присутствующие в донных отложениях р. Енисей, в том числе трансурановые элементы, а также уран по своей природе являются тяжелыми металлами. Поэтому они могут действовать как химические мутагены. Так, ^{137}Cs относят к числу кластогенов [Шевцова, Гудков, 2012].

В корнях тростника из водоемов Чернобыльской зоны также зачастую преобладали aberrации хроматидного типа, однако в отличие от элодеи из р. Енисей, у растений из Чернобыльской зоны регистрировалась высо-

кая частота клеток с множественными нарушениями – до половины от числа клеток с нарушениями [Шевцова, Гудков, 2012]. Максимальную частоту клеток (3 %, что составляет около 8 % от числа клеток с нарушениями) с множественными нарушениями мы регистрировали в корнях элодеи, собранной на ДО р. Енисей с самым высоким содержанием техногенных радионуклидов.

Анализ ДО р. Енисей показал, что техногенные радионуклиды распределены на исследованном нами участке реки крайне неравномерно и их содержание в ДО не убывает при удалении от ГХК – источника радиоактивного загрязнения. Так, зарегистрирована аномалия с самым высоким содержанием ^{137}Cs , в 3,5 раза превышающим содержание этого радионуклида в ДО вблизи ГХК, на удалении более двухсот км от ГХК (вблизи пос. Стрелка). Наиболее разнообразный радионуклидный состав обнаружен в ДО вблизи сбросов ГХК. Ранее вблизи ГХК в ДО р. Енисей зарегистрировано самое большое содержание трансурановых элементов [Bolsunovsky, Bondareva, 2007]. Следует отметить, что состав техногенных радионуклидов в ДО не изменился после остановки реакторного производства, так как все техногенные радионуклиды, регистрируемые в ДО р. Енисей, кроме ^{60}Co , имеют большой период полураспада. В отличие от ДО, в биомассе растений самые высокие удельные активности техногенных радионуклидов регистрировались вблизи сбросов ГХК как до, так и после остановки реакторного производства, в основном за счет более высокого содержания относительно короткоживущих техногенных радионуклидов с наведенной активностью, образующихся в контуре охлаждения реактора (см. табл. 4).

Цитогенетические нарушения, обнаруженные нами в корнях элодеи из р. Енисей, характерны для действия мутагенов химической природы. Однако частота клеток элодеи с цитогенетическими аномалиями в целом, а также с отдельными типами аномалий митоза и мутации хромосом положительно коррелировали с суммарной активностью радионуклидов, суммарной активностью техногенных радионуклидов и с активностью ^{137}Cs в ДО.

Положительная корреляционная связь суммарной частоты клеток с нарушениями и

частоты клеток с некоторыми типами нарушений с содержанием тяжелых металлов в ДО выявлена только для железа и марганца. Суммарная частота аберрантных клеток в корневой меристеме тростника обыкновенного из водоемов Чернобыльской зоны отчуждения положительно коррелировала с дозой внутреннего облучения растений, т. е. с содержанием радионуклидов ^{137}Cs и ^{90}Sr в биомассе растений [Шевцова, Гудков, 2012].

В 2011 и 2012 гг., когда мы отбирали пробы корней элодеи в р. Енисей для цитогенетических исследований, прошло один-два года после остановки реакторного производства на ГХК, что привело к значительному снижению содержания техногенных радионуклидов в биомассе элодеи (см. табл. 4). Содержание ^{137}Cs в биомассе макрофитов, собранных вблизи ГХК и вблизи пос. Стрелка после остановки реакторного производства на ГХК, значительно не различались, так же как суммарное содержание техногенных радионуклидов. Во время работы реакторного производства на ГХК, в 2003–2004 гг. частота клеток с цитогенетическими нарушениями в корнях элодеи, собранных в р. Енисей вблизи ГХК, была в 2–3 раза выше, чем через 1–2 года после остановки реакторного производства на ГХК (рис. 3). Уменьшение частоты клеток с цитогенетическими нарушениями в корнях элодеи после остановки ре-

акторного производства на ГХК отмечены также в двух других точках отбора, вблизи сел Бол. Балчуг и Захаровка (см. рис. 3). Однако частота клеток с нарушениями в корнях элодеи, собранной вблизи пос. Стрелка, на участке с самым высоким содержанием ^{137}Cs в ДО не изменилась после остановки реактора. Данный эффект можно объяснить тем, что во время работы реакторного производства на ГХК, содержание техногенных радионуклидов в биомассе макрофитов, вегетирующих вблизи пос. Стрелка был значительно ниже (в 6 раз), чем вблизи ГХК, в то время как содержание радионуклидов в ДО было очень высоким, т. е. вклад в дозу облучения от инкорпорированных в биомассу радионуклидов был незначителен по сравнению с вкладом от внешних источников излучения. Таким образом, регистрируемый нами в корнях растений радиационный эффект зависит от соотношения внешней и внутренней дозы облучения. Вклад внутренней дозы относительно быстро убывает после прекращения радиоактивных сбросов ГХК в р. Енисей, в то время как внешняя доза от радионуклидов, находящихся в ДО, остается практически неизменной. Данное предположение требует проверки с помощью расчета доз облучения. Также следует отметить, что в настоящей работе не учтено содержание урана и трансурановых элементов в био-

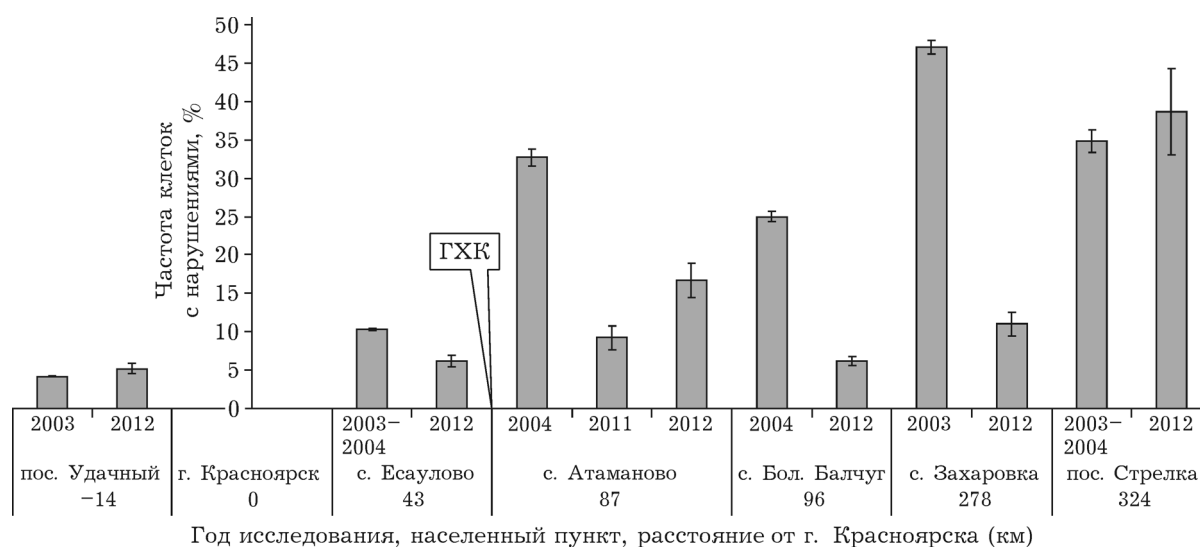


Рис. 3. Частота ана-телофазных клеток с цитогенетическими нарушениями (%), средн. знач. \pm станд. ошиб.) в корнях *E. canadensis*, отобранных в р. Енисей на разном удалении от г. Красноярска в 2003–2004 гг. ([Болсуновский и др., 2007]) и в 2011–2012 гг.

массе растений и ДО, известных, помимо радиационной, также химической токсичностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование цитогенетических нарушений в ана-телофазных клетках апикальной корневой меристемы погруженного водного растения *Elodea canadensis* из р. Енисей показало, что частота клеток с цитогенетическими нарушениями значительно возрастает в корнях растений, вегетирующих в зоне радиационного и химического загрязнения. В спектре цитогенетических нарушений преобладали аномалии, обусловленные повреждением хромосом (мосты, агглютинация хромосом), а также были зарегистрированы аномалии, обусловленные повреждением митотического аппарата (отстающие и дезориентированные хромосомы, многополюсные митозы). Минимальная частота клеток с нарушениями (5 %) зарегистрирована в корнях растений с фонового участка р. Енисей, расположенного выше г. Красноярск. Максимальная частота клеток с цитогенетическими нарушениями (40 %) зарегистрирована в корнях элодеи, вегетирующей на донных отложениях с самым высоким содержанием ^{137}Cs . Выявлена положительная корреляция суммарной частоты клеток с цитогенетическими нарушениями ($r^2 = 0,91-0,96$; $p < 0,0005$), а также частоты клеток с различными типами нарушений ($r^2 = 0,58-0,92$; $p < 0,05$) от суммарного содержания радионуклидов, содержания техногенных радионуклидов и ^{137}Cs в корнеобитаемом слое донных отложений р. Енисей. Достоверная положительная корреляция суммарной частоты клеток с цитогенетическими нарушениями и частоты клеток с некоторыми типами аномалий хромосом в корнях элодеи с содержанием тяжелых металлов в донных отложениях выявлена только для железа ($r^2 = 0,62-0,74$; $p < 0,05$) и марганца ($r^2 = 0,63-0,70$; $p < 0,05$). Для выявления причин зарегистрированных нами хромосомных аномалий необходимо оценить соотношение внешней и внутренней доз облучения, а также учесть возможность токсического действия урана и трансураниевых элементов.

Авторы благодарят коллег из лаборатории радиоэкологии и аналитической лаборатории ИБФ СО РАН за гамма-спектрометрический и химический анализ проб. Авторы признательны О. В. Квитко (Институт леса СО РАН, г. Красноярск) за ценные методические консультации. Исследование частично поддержано грантом РФФИ-р_сибирь_а № 13-04-98004 и проектом № 30.5 Программы Президиума РАН “Биологическое разнообразие”.

ЛИТЕРАТУРА

- Александрова Ю. В., Болсуновский А. Я. Радионуклиды в воде реки Енисей // Радиоэкология XXI века: мат-лы Междунар. науч.-практ. конф. / под ред. С. В. Куркаторова и др. Красноярск: Изд-во Сиб. фед. ун-та, 2012. С. 190–194.
- Анищенко О. В., Гладышев М. И., Кравчук Е. С., Калачева Г. С., Грибовская И. В. Оценка антропогенного загрязнения р. Енисей по содержанию металлов в основных компонентах экосистемы на участках, расположенных выше и ниже г. Красноярск // Журн. Сиб. фед. ун-та. Сер. Биология. 2010. Т. 3, № 1. Р. 82–98.
- Болсуновский А. Я., Ермаков А. И., Бургер М., Дегерменджи А. Г., Соболев А. И. Накопление техногенных радионуклидов водными растениями р. Енисей в зоне влияния Горно-химического комбината // Радиационная биология. Радиоэкология. 2002. Т. 42, № 2. С. 194–199.
- Болсуновский А. Я., Муратова Е. Н., Суковатый А. Г., Пименов А. В., Санжараева Е. А., Зотина Т. А., Седельникова Т. С., Паньков Е. В., Корнилова М. Г. Радиоэкологический мониторинг реки Енисей и цитогенетические характеристики водного растения *Elodea canadensis* // Там же. 2007. Т. 47, № 1. С. 63–73.
- Зотина Т. А. Фитомасса и видовое разнообразие макрофитной растительности реки Енисей на участке от г. Красноярск до устья р. Ангара // Журн. Сиб. фед. ун-та. Сер. Биология. 2014. Т. 7, № 1. С. 1–7.
- Евсеева Т. И., Гераськин С. А., Майстренко Т. А., Белых Е. С. Проблемы количественной оценки биологических эффектов совместного действия факторов радиационной и химической природы // Радиационная биология. Радиоэкология. 2008. Т. 48, № 2. С. 203–211.
- Карта реки Енисей от Красноярской ГЭС до устья реки Ангара. ФГУ “Енисейречтранс”. СПб.: Изд-во ГБУ “Волго-Балт”, 2008. 91 с.
- Муратова Е. Н., Корнилова М. Г., Пименов А. В., Седельникова Т. С., Владимирова О. С. Цитогенетические эффекты влияния Горно-химического комбината на клетки элодеи канадской (*Elodea canadensis* Michx.) // Вестн. КрасГАУ. 2006. Т. 14. С. 159–164.
- Муратова Е. Н., Корнилова М. Г., Пименов А. В., Седельникова Т. С. Числа хромосом *Elodea canadensis* (Hydrocharitaceae) в протоках реки Енисей // Ботан. журн. 2006. Т. 91, № 3. С. 483–486.
- Шевцова Н. Л., Гудков Д. И. Цитогенетические нарушения у тростника обыкновенного *Phragmites aust-*

- ralis* в водоемах Чернобыльской зоны отчуждения // Гидробиол. журн. 2012. Т. 48, № 6. С. 99–113.
- Abdel Migit H. M. A., Azab Y. A., Ibrahim W. M. Use of plant genotoxicity bioassay for the evaluation of efficiency of algal biofilters in bioremediation of toxic industrial effluent // *Ecotoxicol. and Environ. Safety*. 2007. Vol. 66. P. 57–64.
- Bolsunovsky A., Bondareva L. Actinides and other radionuclides in sediments and submerged plants of the Yenisei River // *J. of Alloys and Compounds*. 2007. Vol. 444–445. P. 495–499.
- Bolsunovsky A., Muratova E., Sukovaty A., Kornilova M. The effect of radionuclide and heavy metal contamination of the Yenisei River on cytogenetics of aquatic plant *Elodea canadensis* // *Radioprotection*. 2009. Vol. 44, N 5. P. 83–88.
- Fiskesjo G. The *Allium*-test – an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions // *Mutation Res*. 1988. Vol. 197. P. 243–260.
- Geras'kin S., Oudalova A., Michalik B., Dikareva N., Dikarev V. Genotoxicity assay of sediment and water samples from the Upper Silesia post-mining areas Poland by means of *Allium*-test // *Chemosphere*. 2011. Vol. 83. P. 1133–1146.
- Evseeva T. I., Geras'kin S. A., Shuktomova I. I. Genotoxicity and toxicity assay of water sampled from radium production industry storage cell territory by means of *Allium*-test // *J. of Environ. Radioactivity*. 2003. Vol. 68. P. 235–248.
- Rodrigues A. S., Oliveira N. G., Gil O. M., Léonard A., Rueff J. Use of cytogenetic indicators in radiobiology // *J. Radiat. Prot. Dosim*. 2005. Vol. 115, N 1–4. P. 455–460.
- Shevtsova N. L., Gudkov D. I. Cytogenic effects of long-term radiation on higher aquatic plants within the Chernobyl accident Exclusion Zone // *Radioprotection*. 2009. Vol. 44, N 5. P. 937–940.
- Yildiz M., Ciğerci I. H., Konuk M., Fidan A. F., Terzi H. Determination of genotoxic effects of copper sulphate and cobalt chloride in *Allium cepa* root cells by chromosome aberration and comet assays // *Chemosphere*. 2009. Vol. 75, N 7. P. 934–938.

Cytogenetic Abnormalities of an Aquatic plant *Elodea Canadensis* in the Zone of Anthropogenic Contamination of the Yenisei River

M. Yu. MEDVEDEVA, A. Ya. BOLSUNOVSKY, T. A. ZOTINA

*Institute of Biophysics SB RAS
660036, Krasnoyarsk, Akademgorodok
E-mail: t_zotina@ibp.ru*

Chromosomal abnormalities in a-telophase cells of apical root meristem of the aquatic plant *Elodea canadensis* (elodea), sampled in 2011–2012 in the Yenisei River at a site with background level of contamination and at several sites on the stretch contaminated with artificial radionuclides, and with chemical pollutants from municipal and industrial discharges of the Krasnoyarsk city were studied. Lowest rate (5.2 %) of cells with chromosome abnormalities was registered at sampling site with background level of contamination upstream of the Krasnoyarsk, highest rate of cells with abnormalities (39.7 %) was registered in roots of elodea sampled in bottom sediments with highest concentration of ^{137}Cs . Sum of rates of cells with cytogenetic abnormalities and rates of cells with different types of abnormalities positively correlated with total concentration of artificial and natural radionuclides, with concentration of artificial radionuclides and ^{137}Cs in bottom sediments of the Yenisei River ($r^2 = 0.91–0.96$, $p < 0.0005$ for sum of rates of cells with cytogenetic abnormalities; $r^2 = 0.58–0.92$, $p < 0.05$ for different types of abnormalities).

Key words: *Elodea canadensis*, artificial radionuclides, bottom sediments, chromosome aberrations, genotoxicity.