



ОБЪЕДИНЕННЫЙ
ИНСТИТУТ
ЯДЕРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ

Дубна

99-83

P19-99-83

В.Л.Корогодина, В.П.Бамблевский, И.В.Гришина*,
М.В.Густова, С.А.Забалуев, В.И.Корогодин,
Т.В.Кураева, Е.Л.Лозовская*, О.Д.Маслов

ОЦЕНКА СОЧЕТАННОГО ДЕЙСТВИЯ
НА РАСТЕНИЯ РАДИОНУКЛИДНЫХ
И ХИМИЧЕСКИХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ
В БАЛАКОВСКОМ МУНИЦИПАЛЬНОМ
ОБРАЗОВАНИИ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Направлено в «Journal of Radioecology»

*Институт биохимической физики РАН, Москва

1999

Оценка сочетанного действия на растения радионуклидных и химических загрязнений в Балаковском муниципальном образовании Саратовской области

Приводятся результаты определения радионуклидных и химических (многоэлементный анализ) загрязнений почвы. Анализируются результаты исследования антиоксидантного статуса растений (*Plantago major*) совместно с данными по радионуклидным и химическим загрязнениям. Наибольшее снижение активности антиоксидантов наблюдается в направлении розы ветров. Предлагается гипотеза снижения антиоксидантного статуса при хроническом поступлении радионуклидов на территорию.

Работа выполнена в Отделении радиационных и радиобиологических исследований ОИЯИ.

Препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна, 1999

Korogodina V.L. et al.

P19-99-83

Evaluation of the Combined Effects on Plant of Radionuclide and Chemical Pollution in Balakovo Site, Saratov Region

There are results of the determination of radionuclide and chemical (multielement analysis) soil pollution. The research results of antioxidant status completely with data on radionuclide and chemical pollution are analysed. The most decrease of antioxidant activity of plants (*Plantago major*) is observed on the rose wind direction. A hypothesis of devaluation of antioxidant status by the chronic radionuclide release on the territories with chemical pollution is presented.

The investigation has been performed at the Department of Radiation and Radiobiological Research, JINR.

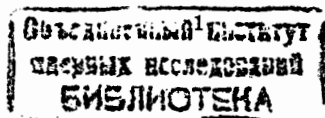
В настоящее время выяснились некоторые особенности механизмов поражения клеточных структур при малых дозах радиации. При облучении в малых дозах наблюдается конформационная перестройка генома и изменяются свойства внутриклеточной среды. В связи с этим меняется чувствительность биомакромолекул, клеток и организмов к действию других повреждающих факторов [1]. Изменяется концентрация свободных радикалов и активность антиоксидантов в системе регуляции метаболизма мембран.

Анализ изменений в клетке, вызываемых малыми дозами, показывает, что ее адаптивно-компенсаторные функции при этом исчезают либо подавляются. Прежде всего это касается адаптивного ответа клеток на облучение. В случае предварительного облучения при низких мощностях доз адаптивный ответ исчезает и клетки бывают даже сенсibilизированы [2]. Нарушение адаптивной реакции наблюдается также у населения, проживающего на загрязненных территориях [3].

Малые дозы облучения могут рассматриваться как сигналы к активации биологических процессов: дифференцировки, пролиферации, апоптоза. В иммунной системе это проявляется в виде ряда ингибирующих и стимулирующих эффектов. Облучение "вмешивается" в процесс селекции клонов лимфоцитов и влияет на основную функцию иммунной системы - дискриминацию "своего" и "чужого" [4,5].

Действие радиации и других повреждающих факторов в малых дозах может сопровождаться синергизмом. Это проявляется в пониженной способности клеток восстанавливаться от повреждений, а также в образовании дополнительных летальных или генетических повреждений за счет взаимодействия субповреждений, сформированных каждым агентом [6]. Получены также данные, демонстрирующие возрастание более "тяжелых" форм гибели клеток [7]. Это означает, что при сочетанном действии радионуклидных и химических загрязнений эффекты могут существенно превышать значения, рассчитанные путем простого суммирования.

В настоящее время многие регионы в России загрязнены отходами предприятий атомной и химической промышленности. В Балаковском районе Саратовской области концентрируются и радионуклидные, и химические



загрязнения такими высокотоксичными агентами, как бензапирен, сероуглерод, тяжелые металлы и другие. Здесь находятся АЭС, производство химических удобрений из апатитов Кольского полуострова, крупнейшие в России производства резины и химического волокна. На этих предприятиях работают около 30 тыс. человек.

Для оценки опасности экологической обстановки, сложившейся в регионе, весьма целесообразно обследование территории, включающее исследование сочетанного действия радионуклидных и химических загрязнений на человека и биоту. Для этого предполагается выполнить проект "Комплексная оценка последствий сочетанного действия радионуклидных и химических загрязнений в Объединенном Балаковском муниципальном образовании Саратовской области" [8]. В результате выполнения этого проекта будет определена программа первоочередных мероприятий по улучшению состояния здоровья населения и окружающей природной среды.

В настоящем сообщении мы публикуем предварительные результаты исследований на растениях.

Объект и методы исследований

Для предварительных исследований влияния антропогенных факторов на биоту был выбран *подорожник большой (Plantago major)*, один из радиочувствительных видов [9]. В случае радиоактивных выпадений у этого вида в отдельных ценопопуляциях были выявлены признаки нарушения семенного воспроизводства [9,10]. Данные о повышенной чувствительности семян *P. major* к острому гамма-облучению встречаются также в [10,11]. Преимуществом этого вида является и то обстоятельство, что популяции подорожника можно найти и в населенных пунктах, и в лесу, и в поле.

Были выбраны 6 опытных площадок и 3 контрольных (одна из них на территории, загрязненной чернобыльским следом). Две первые площадки расположены по линии розы ветров в г. Балаково (№1, Больничные пруды) и на границе с хозяйственной зоной АЭС (№2, с. Натальино). Две следующие площадки (№3, с.Коржаковка и №6, дорога Балвиско-Иргиз) расположены параллельно первой паре, одна из них (№6) находится на равном расстоянии от предприятий по производству резины и химволокна и минеральных удобрений. Еще дальше на том же расстоянии параллельно расположены

№4 (с.Грачи) и №5 (с.Кормежка). Направление розы ветров совпадает с направлением АЭС – с. Натальино – г. Балаково. Были взяты также площадки на левом берегу Волги (№7, с.Тепловка, чернобыльский след) и правом берегу Волги (№8, с.Золотовка, направление по розе ветров), и в г. Дубне (№9). Популяции были взяты из одинаковых биотопов (берега водоемов). В каждом случае описывались биотопы и популяции.

С каждой площадки для тестирования были выбраны 20-30 растений средних размеров, у каждого из них были взяты зрелые колоски. Было также выбрано по одному среднему растению с площадки для гербария. Семена с каждой площадки были тестированы для определения активности антиоксидантов.

С каждой площадки были отобраны пробы почвы (10-12см верхнего слоя). В пробах определяли pH, наличие тяжелых металлов и радиоактивность (^{40}K и ^{137}Cs).

Исследование радиоактивности проводили по методике, аналогичной [12], на низкофоновом сцинтилляционном γ -спектрометре с кристаллом NaI(Tl), диаметром 150 и высотой 100 мм.

Сцинтилляционный блок детектирования (СБД) располагался в защитном боксе из свинца и меди с толщиной стенок 100 мм. Импульсы с эмитерного повторителя СБД подавали на АЦП (аналогово-цифровой преобразователь), установленный в персональном компьютере.

Рентгенофлуоресцентный анализ образцов почв проводили на установке ЛЯР ОИЯИ. Для возбуждения рентгеновского излучения использовали стандартные радиоизотопные источники ^{109}Cd ($E=22,16$ кэв, $T_{1/2}=453$ дня) и ^{241}Am ($E=59,6$ кэв, $T_{1/2}=458$ лет). Характеристическое рентгеновское излучение регистрировали полупроводниковым Si(Li) детектором с разрешением 250 эв на линии Fe (6,4 кэв). Для измерения была использована методика одновременного определения в насыщенных слоях вещества всех элементов, возбуждаемых радиоизотопным источником, по единой калибровочной кривой [13]. Для построения калибровочных кривых использовали стандартные образцы почв.

Гамма-активационный анализ. Образцы почв и стандартные образцы в виде порошка помещали в полиэтиленовые цилиндрические кассеты $\varnothing 35$ мм и высотой 5 мм, закрытые с торцов лавсановой пленкой толщиной 6-10 мкм.

В качестве эталонов использовали стандартные образцы почв СП-3 и БИЛ-1. Количество образцов вместе со стандартными при одном облучении составляло не более 12 штук.

Образцы со стандартами облучали одновременно в течение 4 ч тормозными γ -квантами микротрона МТ-25 ЛЯР ОИЯИ [14]. Максимальная энергия ускоренных электронов была 24 МэВ. Средний ток ускоренных электронов составлял 15 мкА. Распределение потока тормозных γ -квантов по образцам определяли с помощью медных мониторов. Измерения спектров γ -излучения облученных образцов осуществляли на полупроводниковых Ge(Li)- детекторах: объем $\sim 70 \text{ см}^3$; разрешение 3,5 кэВ на линии 1332 кэВ ^{60}Co ; объем $\sim 28 \text{ см}^3$, разрешение 3 кэВ на линии 1332 кэВ ^{60}Co ; и тонком детекторе: разрешение 0,6 кэВ на линии 122 кэВ ^{57}Co . Накопление и обработку γ -спектров производили на ПК. Для количественного определения содержания элементов использовали относительный метод анализа и формулу

$$C_x = C_{cm} \cdot \frac{I_x \cdot \mu_{cm} \cdot m_{cm}}{I_{cm} \cdot \mu_x \cdot m_x} \cdot \exp\left(0,693 \cdot \frac{\Delta t_x - \Delta t_{cm}}{T_{1/2}}\right),$$

где C_{cm} - содержание определяемого элемента в стандарте, % или г/г; m_x , m_{cm} - массы образца и стандарта, г; μ_x , μ_{cm} - коэффициенты поправки потока γ -квантов на образце и стандарте, полученные из результатов измерения активности мониторов; I_x , I_{cm} - площадь аналитического пика γ -излучения радиоактивного изотопа в образце и стандарте; Δt_x , Δt_{cm} - интервал времени (мин) между началом серии измерений и началом измерения образца и стандарта, соответственно.

Результаты многоэлементного анализа образцов почв, полученные на основании рентгенофлуоресцентного и γ -активационного анализов, усреднялись.

Для определения рН каждый образец почвы смешивали с дистиллированной водой (в объемном отношении 1:2) и перемешивали на магнитной мешалке в течение 4 часов. Затем пробу фильтровали через бумажный фильтр и рН фильтрата измеряли на рН-метре MV 870 [15].

Методика приготовления препарата семян для исследования антиоксидантной активности. Очищенные семена растений заливали горячей водой в соотношении 1 г. семян на 200 мл воды. Охлаждали при комнатной температуре 1 час, фильтровали и получали исходный препарат.

Методика определения антиоксидантной активности. Исследование антиоксидантных свойств проводили фотохемиллюминесцентным методом, разработанным в лаборатории химической биофизики ИБХФ РАН [16]. Метод моделирует окисление триптофансодержащих белков и влияние антиоксидантов на этот процесс.

В качестве соединения, моделирующего белок, использован пептид глицилтриптофан (*Gly-Trp*). Окисление *Gly-Trp* инициируется с помощью фотосенсибилизатора. В зависимости от типа сенсibilизатора окисление протекает либо по радикальному пути (активные частицы – пероксидные радикалы RO_2 , супероксид O_2^-), либо при участии синглетного кислорода.

Концентрации рибофлавина составляют $2 \cdot 10^{-6}$ М, концентрации *Gly-Trp* $2 \cdot 10^{-4}$ М. Измерения проводили в фосфатном буфере (рН=7,4). Растворы *Gly-Trp* рибофлавина с добавлением различных объемов настоев сухих растений, экстрактов зеленых растений либо настоев семян облучали при перемешивании светом ртутной лампы ДПК-120 ($\lambda=436$ нм). После облучения в течение 60 сек раствор перекачивали в измерительную кювету метрической установки и измеряли хемиллюминесценцию.

В качестве характеристики антиоксидантной активности использовали величину $C_{1/2}$ – концентрацию 50%-го ингибирования, при которой интенсивность хемиллюминесценции снижалась в 2 раза. Чем меньше $C_{1/2}$, тем эффективнее препарат как антиоксидант.

Для определения загрязнений и активности антиоксидантов все образцы были зашифрованы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты определения радионуклидных загрязнений образцов почв приведены в табл.1. Анализ этих данных показывает, что на двух площадках (№1, Больничные пруды и №7, с. Тепловка) наблюдается значительное превышение среднего фона этой местности по ^{137}Cs (10-12 Бк/кг). Эти

отличия легко объяснимы: Больничные пруды находятся примерно в 8 км от АЭС, и это направление совпадает с розой ветров. Можно предположить, что осаждение выбросов АЭС происходит, в основном, в этом районе. Контрольная площадка в с.Тепловка расположена в пределах Чернобыльского следа, и этим объясняется наличие ^{137}Cs , концентрация которого даже несколько больше, чем на площадке «Больничные пруды».

Табл. 1. Результаты анализа радиоактивности проб почв

Площадка									
Bк/kg	1	2	3	4	5	6	7	8	9
^{137}Cs	42.6	6.9	12.7	10.2	10.1	7.8	52.0	12.2	12.2
^{40}K	491.5	728.9	637.8	601.1	658.2	905.7	617.1	477.0	786.9

В табл. 2 приведены результаты определения pH и многоэлементного анализа образцов почв.

Загрязнения по Cr и As являются индикаторными, присутствующими во всех образцах по региону. Максимальные отличия от фонового уровня по этим элементам наблюдаются у образцов №2 и №4. Отношение содержания элемента на данной площадке к фоновому содержанию в регионе составляет по Cr (1,9; 1,6) и As (2,3; 2,4) соответственно, минимальное содержание (пл.№1) превышает предельно допустимую концентрацию (ПДК) в 50 раз. Необходимо отметить превышение фонового содержания Cr на площадке №8 ($K_n = 3,6$). Площадки №1 и №2 отличаются накоплением Zn (превышение в несколько раз ПДК), Cu и Pb (небольшое превышение). Такое положение может быть связано с тем, что площадка рядом с с. Натальино расположена в относительной близости от шоссе. Площадка №1 (Больничные пруды) в этом отношении гораздо менее загрязнена, чем другие площадки: здесь превышение ПДК меньше, чем на остальных площадках. Площадка возле Больничных прудов расположена вдали от автомагистрали, в тихом месте, и сам район является островной частью Балаково. Следует выделить также площадку №6, которая, находясь близко от производства

минеральных удобрений из Хибинских апатитов, отличается по содержанию I, Cs, U, Sr от фоновых по региону. Площадка №7 (с. Тепловка) не отличается по химическим загрязнениям от других по региону.

Табл. 2. Результаты анализа образцов почв

Элемент	Образцы							
	1	2	3	4	5	6	7	8
	Содержание, мг/кг							
pH	8.1	7.7	7.6	7.2	7.9	7.9	8.3	7.9
Fe,%	2.38	1.40	2.54	3.90	2.52	2.15	3.40	1.83
Ca,%	11.0	5.7	3.8	-	1.75	9.5	4.5	-
Na,%	0.04	0.9	0.9	1.17	0.66	0.82	0.71	1.3
Mg,%	2.66	1.0	0.62	1.33	0.83	0.85	1.1	0.5
Ti,%	0.39	0.35	0.38	0.57	0.58	0.43	0.51	0.27
Mn	616	883	622	1182	617	782	561	460
Cr	117	223	113	189	160	148	137	425
Zn	175	210	-	-	-	-	-	53
Cu	50	-	-	-	-	-	-	-
As	119	273	131	289	203	255	238	129
Pb	30	60	-	-	-	-	-	-
Br	-	54	-	-	-	-	-	-
Sr	218	155	168	120	106	275	240	133
Rb	34	40	36	78	54	54	58	29
Y	20	5	10	25	10	12	19	10
Nb	17	15	18	39	20	18	17	18
Ba	210	310	380	460	360	360	400	330
Ce	43	19	45	103	62	50	54	21
La	12	20	31	28	-	10	-	-
I	-	-	-	-	-	28	-	-
Cs	2.3	4	4	8	3.4	10.6	5.6	3
U	15	15	13	15	16	26	10	12
Hg	-	<5	-	10	-	5	7	-

Резюмируя данные табл. 2, можно заключить, что наиболее загрязненными в регионе являются пл. №2 и 4.

Величина pH почвы показывает небольшие различия.

Нами была определена активность антиоксидантов в семенах растений. По этим результатам мы можем судить о популяциях подорожника. Результаты тестирования представлены в табл.3.

Табл.3 Антиоксидантная активность подорожника по тесту хемолюминесценции, $C_{1/2},\%$ – концентрация 50% ингибирования

Площадка							
1	2	3	4	5	6	7	8
6,0	5,0	2,0	1,25	1,3	1,5	1,2	4,5

Самая низкая АО по семенам (табл.3) наблюдается у растений пл.№1. На втором и третьем местах по угнетению АОА растений стоят площадки №№2 и 8. Попробуем разобраться в причинах снижения АОА в этих местах. Площадка №1 характеризуется присутствием ^{137}Cs и некоторым загрязнением химическими агентами, как и №7. Площадка №7 с повышенным радионуклидным загрязнением (чернобыльский след) и «чистая» в отношении химических загрязнений, не выделяется снижением АОА. АОА на площадке №1 минимальная и максимальная на площадке №7. Поэтому одним радионуклидным загрязнением эти данные не объяснить. Площадка №2, как и №4, характеризуется самым высоким содержанием химических загрязнений, но низким уровнем радионуклидов. АОА на площадке №2 высокая, а на площадке №4 – низкая. Без учета сочетанного действия химических агентов и радионуклидных загрязнений трудно объяснить полученные данные. Чем можно объяснить снижение АОА на площадках Натальино, Больничные пруды и Золотовка? Одной из гипотез может служить влияние хронических радионуклидных выбросов (в том числе радиоактивных инертных газов). Площадки №№1,2,8 расположены внутри конуса шлейфа АЭС. Можно предположить, что именно хроническое поступление малых концентраций радионуклидов в сочетании с химическими загрязнениями является причиной понижения АОА, которое на других площадках наблюдается в значительно меньшей степени. В наибольшей степени это касается площадки «Больничные пруды» (№1), где наблюдается наибольшее осаждение выбросов АЭС.

Мы провели также наблюдения за состоянием популяций подорожника. Стоит отметить высокую гетерогенность по размерам растений в популяциях в с. Натальино (№2). Растения с площадки «Больничные пруды» – средних

размеров, а на площадках №№4, 5, 6 угнетены и наблюдается смещение вегетационного цикла (№№5,6). На площадке №5 (с. Грачи) много растений с множественными точками роста. Площадка №3 отличается небольшими размерами растений, однако это может быть объяснено недостаточным увлажнением почвы. Обратная картина наблюдается на площадке №8 – болотистая почва, легкая пастбищная депрессия, благоприятная для подорожника, который там достигает предельных размеров. Эти предварительные наблюдения допускают предположение об изменении variability морфологических признаков подорожника при действии радиации (как отмечалось и другими авторами [17,18]) и угнетения растений при химических загрязнениях.

Обследование состояния здоровья населения г. Балаково также показывает, что динамика заболеваемости в городе значительно сильнее выражена, чем в контроле (г. Лысье Горы Саратовской области), сходном по демографическим, социальноэкономическим и климатическим показателям [19].

Результаты нашего исследования позволяют с большой степенью достоверности предполагать наличие сочетанного действия радионуклидных и химических загрязнений.

Авторы благодарят за личную помощь В.А. Маленкова и за обсуждение результатов В.Г. Цыцугину, а также за постоянное содействие Госкомитет по охране окружающей среды Саратовской области и Балаковского муниципального образования.

Литература

1. Бурлакова Е.Б., и др. Особенности биологического действия малых доз облучения. - В кн.: Последствия Чернобыльской катастрофы: Здоровье человека. М., 1996, Т.1, С. 149-182.
2. Корогодина В.Л., Пантелеева А., Ганичева И.А. и др. Влияние мощности дозы слабого гамма-облучения на митоз и адаптивный ответ клеток меристемы корешков проростков гороха. - Радиационная биология. Радиозкология, 1998, Т.38. Вып.5. С.643-649.
3. Пелевина И.И., Афанасьев Г.Г., Готлиб В.Я. и др. Цитогенетические изменения в периферической крови населения, проживающего в регионах, пострадавших в результате аварии на Чернобыльской АЭС. - В кн.: Последствия Чернобыльской катастрофы: Здоровье человека. Ред. Е.Б.Бурлакова, М.: 1996, Т.1, С. 229-244.
4. Ярилин А.А. Радиация и иммунитет. Современный взгляд на старые проблемы. - Радиационная биология. Радиозкология, 1997, Т.37, Вып. 4, С. 597-603.
5. Ярилин А.А. Иммунологические нарушения у пострадавших от последствий Чернобыльской аварии и анализ их природы. - В кн.: Последствия Чернобыльской катастрофы: Здоровье человека. Ред. Е.Б.Бурлакова, М.: 1996, Т.1, С.68-95.
6. Петин В.Г., Комаров В.П. Количественное описание модификации радиочувствительности - М.: Энергоатомиздат. 1989. 192 с
7. Петин В.Г. Чувствительность дрожжевых клеток к одновременному действию ионизирующей радиации и повышенной температуры. - Радиобиология, 1977, Т.17, Вып. 3, С. 360-366.
8. Бурлакова Е.Б. и др. О проблеме действия малых доз ионизирующих излучений и химических загрязнений на человека и биоту. Проект «Оценка сочетанного действия радионуклидных и химических загрязнений»// Атомная энергия, 1999 (в печати).
9. Преображенская Е.И. Радиоустойчивость семян растений. // М.: Атомиздат. 1971. 232 с.
10. О.Н. Попова, Н.П. Фролова. Тератологическая изменчивость в потомстве *Plantago lanceolata* L. из аварийной зоны Чернобыльской АЭС. В:

Воздействие радиоактивного загрязнения на наземные экосистемы в зоне аварии на Чернобыльской АЭС (1986-1996 гг.). // Сыктывкар 1996. Т.2. С.38-46. (Тр. Коми научного центра УрО РАН. № 145).

11. Дмитриева С.А., Парфенов В.И., Скуратович А.Н. Изучение адаптогенеза природных популяций растений к повышенному радиационному фону вследствие аварии на Чернобыльской АЭС: Тез. докл. междунар. рабоч. совещ. "Экологический статус загрязненных радионуклидами территорий" // Минск. 1995. С.44.

12. Аленицкая С.И., Бамблевский В.П., Каргин А.Н., Комочков М.М. Исследование радиоактивности внешней среды в районе ОИЯИ. // Сообщение ОИЯИ, 1977. Дубна, 16-10539

13. Журавлева Е.Л. - ОИЯИ, 14-80-358, Дубна, 1980.

14. Maslov O.D., Belov A.G., Starodub G.Ya., Dmitriev S.N.. Activation Analysis of Environmental Samples Using the MT-25 Microtron of the FLNR. Asianalysis III, The Third Asian Conference on Analytical Sciences, Abstracts, Seoul, Korea, August 20-24, 1995, p.217.

15. Honlon E.A., Bartos J.M., Soil pH and Electrical Conductivity. Circular 1081, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, April 1993.

16. Лозовская Е.Л., Сапегинский И.И. Сравнительная эффективность некоторых лекарственных препаратов как акцепторов супероксидных радикалов. // Биофизика, 1993. Т. 38. в. 1. С. 31-36.

17. Шевченко В.А., Печкуренков В.Л., Абрамов В.И. Радиационная генетика природных популяций. Генетические последствия Кыштымской аварии. М: Наука, 1992. 220 с.

18. Позолотина В.Н. Действие ионизирующих излучений на сообщества организмов. В: Проблемы радиозкологии и пограничных дисциплин. Ред. Трапезников А.В., Вовк С.М. // 1998. Вып.1. С.183-200

19. Додина Л.Г. Нарушения здоровья населения и механизмы адаптации в условиях воздействия антропогенных факторов малой интенсивности// Автореферат дис. на соискание ученой степени доктора мед. наук, Санкт-Петербург, 1998.

Рукопись поступила в издательский отдел
1 апреля 1999 года.