

## **Оценка воздействия Горно-химического производства на древесную растительность и млекопитающих**

А.С. Шишкин, Н.В. Орешкова, Д.Н. Орешков, Е.С. Углова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН, г. Красноярск

Влияние радиации на биологические объекты неоднозначно и зависит от большого количества факторов: периодичности, мощности и вида облучения, погодных условий, популяционных характеристик растительности и животного населения, синергетического эффекта с другими отрицательными факторами (Ермакова, 2008). Важным условием и показателем радиационной чувствительности являются физиологические особенности биологического объекта, которые варьируют в широких пределах.

Общеизвестно, что радиационное воздействие не только наносит вред непосредственно организму в процессе онтогенеза, но, что особенно важно, ее влияние негативно отражается на наследственном материале, вызывая у потомства широкий спектр мутаций. Постоянное радиационное облучение мелких млекопитающих приводит к неспецифической реакции эндокринной системы, что свидетельствует об активации процессов адаптации. По данным О.В. Ермаковой (2008) высокая степень облучения ведет к ускорению полового созревания, увеличению интенсивности размножения, а также плодовитости. При этом происходит снижение продолжительности жизни, репродуктивного периода, увеличивается смертность мелких млекопитающих на стадии развития эмбрионов и снижается жизнеспособность потомства. Растительные объекты реагируют на облучение гигантизмом и морфологическими отклонениями.

Радиационное воздействие на организм мелких млекопитающих (на примере лабораторных мышей и крыс) в эмбриональной стадии оказывает патологические изменения в тканях и органах при значительно меньшей дозе, чем для взрослых – 0,05 Гр, и тяжелые последствия при 0,1 Гр (Радиационная безопасность, 1994). Столь низкие дозы связаны с наличием у эмбриона активно делящихся клеток, т.к. наибольшие поражения вызываются в клетках на различных стадиях митоза (хромосомные – до начала удвоения участка генома и хроматидные абберации – после завершения репликации).

Одновременно существует мнение (Булдаков, Калистратова, 2003) о положительном воздействии малых доз радиации, которое оспаривается современными отечественными и зарубежными исследователями (Яблоков, 1997). Это свидетельствует о недостаточной информации о специфичности данного вида воздействия и необходимости его изучения на конкретных радиационных объектах и локальных природных условиях.

В качестве наиболее подходящего объекта для оценки воздействия являются млекопитающие, более радиочувствительные, чем другие классы и типы животных (Эколого-генетический анализ..., 1997). При оценке воздействия радиации на человека хорошим биоиндикатором служат мелкие млекопитающие (Бочков, Чеботарев, 1989). Среди растительности предпочтительнее выбирать виды с достаточно хорошо изученными наследственными признаками.

### **Методика и объем выполненных работ**

Исследования воздействия ФГУП «Горно-химический комбинат» (ГХК) проводились на шести модельных объектах: окрестности деревни Балчуг, острова Балчуг и Атамановский, технологические отстойники на первой надпойменной террасе Енисея и на водоразделе, а так же золоотвал котельной.

Первая группа объектов представлена пойменными участками Енисея, которые могли быть подвержены воздействию комбината в первые годы эксплуатации при прямоточной системе охлаждения реактора. Кроме того, периодические паводковые

сбросы Красноярской ГЭС способствуют перемыванию русловых отложений и опасности выноса в активную зону радионуклидов постоянно захораниваемых речными наносами. Мониторинговые участки около деревни Балчуг и остров Балчуг представлены пойменными луговыми сообществами и тополевыми, Для Атамановского острова характерен осоково-кустарниковый берег, разнотравный луг и мелкотравный сосняк.

Вторая группа - технологические водоемы с разным радиационным уровнем воздействия. К ним относятся «нижние отстойники» со слабым уровнем радиации расположенные на первой террасе со сбросом промышленных стоков в р. Енисей. Водоемы имеют хорошо развитую водную растительность, берега заросли осоками и ивняками, на них всегда присутствует большое количество гнездящихся и на пролете водоплавающих птиц. Около отстойника кроме мышевидных отлавливались пресмыкающиеся и земноводные без видимых морфологических изменений. «Верхние отстойники» имеют замкнутую систему и высокий уровень радиации, состоят из двух секций: действующей и не эксплуатируемой с частичной рекультивацией. В первой секции водная растительность отсутствует, на обваловке произрастают мелколиственные породы и ивы. Животные отмечались только по периметру отстойника. На насыпанных грунтах частично рекультивированной секции произрастают сосна, ивы, осина и береза, по урезу воды – водноболотная растительность. На этом водоеме встречался выводок краквы и в небольшом количестве отлавливались полевки-экономки.

В третью группу входит контрольный техногенный объект предположительно не имеющий радиационных источников облучения, представленный золоотвалом и отстойником котельной. На водоемах и по периметру преобладает камышковая и кустарниковая растительность, типичная для естественных водоемов. По береговой полосе, образовавшейся в результате проведения горных работ при строительстве отстойника произрастают смешанные сосново-лиственные молодняки и на склонах естественные травянистые сосновые насаждения с участием березы и осины.

Исследования на модельных участках проводились по древесной растительности и наземным позвоночным. Оценивались генетические нарушения сосны (*Pinus sylvestris* L.), морфофизиологические, популяционные показатели мелких млекопитающих (лесные и серые полевки, бурозубки) и проводилось определение содержания и состава радионуклеидов в их тканях.

Используя в качестве маркеров генов изоферменты, проведено сравнительное исследование генетической структуры и уровня генного разнообразия в 3-х ценопопуляциях сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.), произрастающей на модельных объектах ГХК. Ценопопуляция «Нижний отстойник», представлена естественным сосняком зеленомошно-разнотравным, расположенным на юго-западном склоне ориентированным к отстойнику. Древостой может испытывать прямое гамма-облучение с поверхности отстойника. Изучалось две возрастные выборки деревьев: взрослые (> 100 лет) и подрост (< 10 лет). Ценопопуляция «Верхний отстойник» - крупнотравная сосновая редица, находится на водораздельной части и она сформировалась на нарушенных участках при строительстве отстойника из семян не испытывавших радиационное воздействие. В этой ценопопуляции также исследованы взрослые деревья (около 40 лет) и подрост (< 10 лет). Радиационное воздействие проявляется в заносе в насаждения водяной пыли образующейся на поверхности отстойника в ветреную погоду. На острове Атамановский взята выборка деревьев сосны, возраст которых около 40 лет и образовавших насаждение после строительства Красноярской ГЭС и регулирования паводковых вод р. Енисей. Включение в анализ выборок взрослых деревьев и подростка сосны из одной ценопопуляции позволяет проследить динамику временных изменений генетической структуры и уровня генного разнообразия за период радиационного воздействия.

Материалом для генетических исследований послужили вегетативные почки сосны, собранные отдельно с каждого дерева. С каждого модельного участка взято по 30 деревьев.

Исследование проводилось методом горизонтального электрофореза в 13%-ном крахмальном геле. В качестве биохимических маркеров генов были использованы аллозимные варианты 12 ферментных систем сосны, кодируемые 20-ти ген-ферментными локусами.

Таблица 1. Изученные ферментные системы, числа кодирующих их локусов и аллелей

Фермент	Код фермента	Изученные локусы	Число аллелей
Малатдегидрогеназа (MDH)	1.1.1.37	Mdh-1	1
		Mdh-2	1
		Mdh-3	2
		Mdh-4	2
		Mdh-5	2
Глутаматоксалоацетаттрансаминаза (GOT)	2.6.1.1	Got-2	5
Шикиматдегидрогеназа (SKDH)	1.1.1.25	Skdh-1	8
		Skdh-2	2
Лейцинаминопептидаза (LAP)	3.4.11.1	Lap-1	1
		Lap-2	4
6-фосфоглюконатдегидрогеназа (6-PGD)	1.1.1.44	6-Pgd-2	3
Изоцитратдегидрогеназа (IDH)	1.1.1.42	Idh	2
Формиатдегидрогеназа (FDH)	1.2.1.2	Fdh	4
Фосфоглюкомутаза (PGM)	2.7.5.1	Pgm-1	4
		Pgm-2	1
Глутаматдегидрогеназа (GDH)	1.4.1.2	Gdh	2
Фосфоенолпируваткарбоксилаза (PEPCase)	4.1.1.31	PePca	1
Алкогольдегидрогеназа (ADH)	1.1.1.1	Adh-1	2
		Adh-2	4
Сорбитолдегидрогеназа (SDH)	1.1.1.14	Sdh	1

Используя в качестве маркеров генов изоферменты, проведено сравнительное исследование генетической структуры и уровня генного разнообразия в 3-х ценопопуляциях сосны, произрастающей на модельных объектах (табл. 1). Всего обработано 270 образцов из 6 ценогических группировок и возрастных групп.

Для оценки воздействия радиации на мелких млекопитающих производился их отлов по общепринятым методикам (Карасева, Тоцигин, 1993). Среди тестовых видов предпочитались оседлые виды с небольшими участками обитания разных трофических групп: зеленоядные, семеноядные, насекомоядные, хищники. Кроме того, не высокая подвижность, особенно серых полевков, предполагает их постоянное обитание и возможность отследить наследственное накопление изменений, вызванных радиационным воздействием. В Центральной заводской лаборатории ГХК проанализировано 20 образцов мелких млекопитающих. В связи с необходимостью навески большой массы в один образец объединялись несколько особей одного вида близкого возраста. Тушки зверьков подвергались озолению и затем анализировались на гамма-спектрометре 92X SM с GMX 30190-S. Длительность измерения каждого образца составляла 6 часов. Определялись концентрации следующих изотопов: Cs-137, Co-60, Zn-65, Mn-54, Co-58, Ru-106, Cs-134, Ce-144, Eu-152, Eu-154, K-40.

Дополнительно для оценки радиационного воздействия на скелет мелких млекопитающих проведена рентгеновская съемка отловленных зверьков различных трофических групп.

## Результаты и обсуждение.

Полученные данные проведенных генетических исследований свидетельствуют, что произрастающая в окрестностях ГХК сосна характеризуется достаточно высоким уровнем генетического разнообразия, не отличающимся от других районов Красноярского края (табл. 2).

Таблица 2. Значения основных показателей генетического разнообразия в изученных популяциях сосны обыкновенной

Выборки ГХК	P95	P100	A	H <sub>o</sub>	H <sub>e</sub>	n <sub>e</sub>
Нижний отстойник: взрослые	55	65	2,1	0,193	0,185	1,3
подрост	50	65	2,1	0,195	0,184	1,3
Верхний отстойник: взрослые	55	60	2,2	0,162	0,170	1,3
подрост	65	70	2,3	0,195	0,191	1,3
Атамановский остров	50	65	2,1	0,183	0,181	1,3
В целом	50	70	2,6 ±0,4	0,186 ±0,044	0,184 ±0,043	1,3 ±0,1
Красноярский край						
Боготол	55	60	1,9	0,161	0,174	1,3
Ирбей	60	65	2,2	0,212	0,197	1,3
Енисейск	60	65	1,9	0,149	0,169	1,3

Примечание: P<sub>100</sub>-процент полиморфных локусов при 100-% критерии значимости; P<sub>95</sub>-процент полиморфных локусов при 95-% критерии значимости; A-среднее число аллелей на локус; H<sub>o</sub>-наблюдаемая гетерозиготность; H<sub>e</sub>- гетерозиготность, ожидаемая в соответствии с законом Харди-Вайнберга; n<sub>e</sub> – эффективное число аллелей.

В районе воздействия ГХК наибольшее аллельное разнообразие и гетерозиготность наблюдаются у подроста сосны около «Верхнего отстойника», а наименьшие значения этих показателей здесь же у взрослых деревьев. Для сосняков «Нижнего отстойника» такой закономерности не выявлено. На наш взгляд увеличение аллельного разнообразия и частоты гетерозиготных генотипов у подроста сосны по сравнению с взрослыми деревьями «Верхнего отстойника» может быть результатом радиационного воздействия. Для уточнения этого вывода требуются дополнительные исследования подроста сосны, образовавшегося от деревьев и из семян испытывавших облучение с более высоким уровнем радиации, а также использование более современных молекулярно-генетических маркеров.

Анализ степени подразделенности популяций с помощью индексов фиксации С. Райта (Wright, 1965; Guries, Ledig, 1982), показал, что невысокие средние значения коэффициентов инбридинга особи относительно популяции (F<sub>is</sub> = -0,0368) и инбридинга особи относительно вида (F<sub>it</sub> = -0,0126), свидетельствуют о том, что изученные выборки сосны находятся в состоянии, близком к равновесному. Большая часть генетической изменчивости, выявленной у сосны в исследованном районе реализуется внутри выборки и только 2,3% (F<sub>st</sub>=0,0233) изменчивости распределяется между выборками, что свидетельствует о низком уровне генетических различий между ними.

Таким образом, генетическая дифференциация изученных выборок сосны характеризуется как слабая. Несмотря на выявленные различия в уровнях аллельного разнообразия и гетерозиготности, изученные выборки сосны около «Верхнего отстойника», обладают сходной генетической структурой. Наблюдаемые между ними различия в частотах аллелей статистически недостоверны.

В результате проведения более длительных и системных исследований наиболее полная информация получена для группы мелких млекопитающих. В меньшей степени охвачены исследованиями птицы, поскольку не большие площади отстойников не могут оказывать на них существенного влияния за исключением водоплавающих и околоводных видов.

Мелкие млекопитающие. Среди техногенных объектов наибольшее видовое богатство отмечено на «Верхнем отстойнике», где высокое разнообразие условий обитания (прибрежная часть отстойников, луговые и лесные участки) (табл. 3). Наименьшее видовое разнообразие отмечено на золоотвале – радиационно безопасном техногенном объекте.

Таблица 3. Зоомасса мелких млекопитающих (гр. на 100 ловушко-суток) и индекс видового богатства.

Объект	Индекс видового разнообразия	Зоомасса мелких млекопитающих		
		июль	август	сентябрь
Нижний отстойник	0,46	0	164,0	
Верхний отстойник	1,54	0	192,9	54,5
Остров Б. Балчуг	3,4	170,8	206,6	127,5

В ходе исследований выявлена специфическая сезонная динамика зоомассы мелких млекопитающих. На объектах с повышенным радиационным фоном в начале сезона размножения зверьки не были отловлены. В середине вегетационного сезона происходит значительное увеличение зоомассы со значительным снижением в конце. При этом на контрольных участках указанные колебания не выражены. Такая сезонная динамика, противоречащая естественным природным циклам размножения, вызвана только не пригодностью условий для сохранения маточного поголовья в зонах радиационного воздействия и формированием населения мышевидных за счет мигрантов с соседних участков.

Техногенное воздействие в большей степени отражается на физиологическом состоянии животных, что проявляется на состоянии внутренних органов. В естественных условиях индекс сердца полевок уменьшается с возрастом, что связано с меньшей подвижностью и со снижением интенсивности обмена веществ. Для землероек наблюдается постепенное увеличение индекса до взрослого состояния, а потом – постепенное снижение. Индекс печени у полевок от рождения до перехода на зеленый корм увеличивается, а затем снижается. Взрослые особи землероек обладают большим индексом печени, чем молодые (Шварц, 1968).

По нашим данным, полученным на различных техногенных объектах, индекс печени растет с увеличением степени радиационного воздействия, что указывает на напряженность физиологических процессов мышевидных. Индекс сердца менее изменчив, но также увеличивается, что свидетельствует о высокой двигательной активности зверьков на техногенных территориях и стабильной не комфортности. Установлена большая изменчивость физиологических показателей по видам и возрастным группам мелких млекопитающих, что свидетельствует об избирательности радиационного воздействия и неоднородности населения со значительным колебанием в его составе аборигенных особей и мигрантов.

Хорошо известно, что у высших позвоночных животных компоненты системы кроветворения и сама кровь с ее форменными элементами в первую очередь реагируют на повышение радиационного фона [Ярмоненко, Вайнсон, 2004]. Одним из таких органов является селезенка. В выборках животных из импактной зоны, обитающих в условиях слабого, хронического  $\gamma$ -облучения, распределения индексов селезенки у всех трех видов трансформированы из нормальных – в резко асимметричные кривые, что согласуется и с различиями выборочных параметров. Асимметрия сопровождается накоплением частот в крайних левых классах, содержащих минимальные или близкие к ним значения индексов. Все это в совокупности свидетельствует о достаточно мощном воздействии радионуклидов на относительную массу селезенки (Екимов, Шишкин, 2010).

Проведено сравнение содержания радионуклидов в тушках зверьков отловленных на модельных объектах с санитарными нормами (для Cs-137 в мясе 160 Бк/кг) принятыми в ФГУ «Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора в Красноярском крае» (табл. 4).

Таблица 4. Содержание гамма-излучающих радионуклидов у позвоночных, кБк/кг (Бк/г) и отклонение их содержания от санитарных норм по Cs-137.

Объект и место отбора	Вид	Cs-137	Co-60	Zn-65	K-40	Отклонение от нормы
Верхний отстойник: зона выноса;	Бурозубки	1,04±0,10			< 0,01	6,5
	Мышовка	0,31±0,03			< 0,01	1,9
	Лягушка	2,4±0,3			0,74±0,07	15,0
	Погадки	0,06±0,01			< 0,01	0,4
обваловка;	Мышовка	0,37±0,04	0,10±0,04		< 0,01	2,3
	Полевки	0,05±0,01			< 0,01	0,4
	Синицы	0,12±0,012			< 0,01	0,8
рекультивированный.	Бурозубки	9,6±0,9	0,029±0,003	0,88±0,09	0,41±0,05	60,0
	Полевки	3,2±0,3	0,055±0,006	1,64±0,16	< 0,08	20,0
Нижний отстойник: обваловка;	Бурозубки	0,10±0,01			< 0,041	0,6
	Жужелицы	0,37±0,04			0,15±0,04	2,3
наружная часть обваловки;	Бурозубки	0,02±0,005			< 0,1	0,1
	Мыши	0,02±0,005			0,19±0,05	0,1
внутренняя часть обваловки	Бурозубки	1,12±0,11			< 0,01	7,0
	Мыши	0,04±0,004			0,41±0,06	0,3
Балчуг: берег Енисея;	Бурозубки	0,09±0,01			0,15±0,07	0,6
	Полевки	0,19±0,02	0,07±0,01		0,49±0,06	1,2
терраса Енисея.	Крот	0,39±0,04		0,46±0,06	< 0,01	2,4

Резко выделяется по превышению допустимой дозы образцы с верхнего отстойника. Наибольшее содержание нуклидов обнаружено в тушках мелких млекопитающих на рекультивированном верхнем отстойнике и на внутренней части обваловок нижних отстойников. Повышенные концентрации радионуклидов в тканях зверьков установлены в зоне выноса и распространения водной пыли с верхнего отстойника.

По трофическим группам проявилась известная закономерность нарастания содержания нуклидов от растительных, семенных, насекомоядных до хищников. Среди насекомоядных у долгоживущих видов (крот) концентрация возрастает в четыре раза относительно бурозубок с жизненным циклом 1,5 года, что свидетельствует об аккумуляции радионуклидов.

Несмотря на превышение доз облучения, не были обнаружены стандартные морфофизиологические изменения тела и органов животных, а также строения их скелетов по данным рентгеновской съемки.

**Выводы.** Воздействие объектов ФГУП «ГХК» на генетическую изменчивость сосны обыкновенной не выявлено, что вероятнее всего связано с более высокой устойчивостью к радиационному воздействию этой древесной породы. Кроме того, за время функционирования комбината сосна способна дать только 1-2 поколения, которое могло бы испытывать радиационное воздействие. Эти факторы не позволили накопить достаточного количества мутаций для улавливания их методом молекулярного электрофореза. В тоже время по морфологическим показателям (прирост) для сосны и осины произрастающих около «Верхнего отстойника» характерно проявление гигантизма и последующее обламывание годичных побегов не успевающих одревеснеть. В результате

кроны сосны имеют шаровидную форму, а осины пирамидальную. Выращивание семян собранных с деревьев в зоне воздействия также показали мутационные отклонения. Эти эпизодические исследования требуют более системного продолжения.

В сезонной динамике населения мелких млекопитающих на техногенных объектах отмечено снижение зоомассы в сентябре не характерное для естественных условий. Исследования патологических изменений мышевидных не выявило статистически достоверных отличий по большинству показателей. Изменения индексов внутренних органов отмечено лишь для селезенки. При радиационном воздействии, которое подтверждено данными содержания радиоактивных веществ в тканях животных, вес селезенки снижается, что приводит к понижению иммунитета. Основные изменения населения мелких млекопитающих происходят преимущественно на популяционном уровне, что проявляется в отклонениях половозрастного состава и динамике численности.

#### Литература:

Бочков Н.П., Чеботарев А.Н. Наследственность человека и мутагены внешней среды. М.: Медицина, 1989.- 270 с.

Булдаков Л. А., Калистратова В. С. Радиоактивное излучение и здоровье. М. Информ-Атом, 2003. – С. 165.

Ермакова О. В. Структура перестройки периферических эндокринных желез мышевидных грызунов в условиях хронического облучения в малых дозах, автореф. дисс. докт. биол. наук. – М., 2008. – 42 с.

Екимов Е.В., Шишкин А.С. Относительный вес селезенки мелких млекопитающих как тестовый показатель загрязнения среды радиоактивными веществами. Вестник КрасГАУ. Вып. 10. Красноярск, 2010. с. 87-91.

Карасева Е.В., Тоцигин Ю.В. Грызуны России. - М.: Ин-т морфологии животных им. А.Н. Северцова РАН, 1993. - 166 с.

Радиационная безопасность. Рекомендации МКРЗ 1990 г. Публикация 60 МКРЗ. Ч.2. - М.: Энергоатомиздат, 1994. - 208 с.

Шварц С.С., Смирнов В.С., Добринский Л.Н. Метод морфофизиологических индикаторов в экологии наземных позвоночных // Труды Ин-та биологии УФАН СССР. - Свердловск, 1968. - Вып. 58. - 395 с.

Эколого-генетический анализ отдаленных последствий Тоцкого ядерного взрыва в Оренбургской области в 1954 г. (факты, модели, гипотезы) / А. Г. Васильев, В. М. Боев, Э. А. Гилева и др. — Екатеринбург, Изд-во «Екатеринбург», 1997. — 192 с.

Яблоков А.В. "Атомная мифология. Заметки эколога об атомной индустрии". М., 1997.

Ярмоненко С.П., Вайнсон А.А. Радиобиология человека и животных. М., 2004. – 549 с.