

ISSN 1563-034X; eISSN 2617-7358

Индекс 75880; 25880

ӘЛ-ФАРАБИ атындағы ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ

ХАБАРШЫ

Экология сериясы

КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени АЛЬ-ФАРАБИ

ВЕСТНИК

Серия экологическая

AL-FARABI KAZAKH NATIONAL UNIVERSITY

EURASIAN JOURNAL

of Ecology

№2 (60)

Алматы
«Қазак университеті»
2019

**Бигалиев А.¹, Бекманов Б.², Шимшиков Б.¹,
Кожаметова А.¹, Адилова Л.³**

¹Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

²НИИ общей генетики и цитологии МОН РК, Казахстан, г. Алматы

³Национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, Казахстан, г. Алматы

*e-mail: aitkhazha@gmail.com

**ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ РАДИАЦИОННО-
ЗАГРЯЗНЕННЫХ ТЕРРИТОРИЙ НА БИОТУ**

Техногенные факторы, усиливая действие всех элементарных эволюционных процессов, могут приводить к качественным преобразованиям генофонда популяций. Популяционные и экспериментальные исследования позволили установить ранее неизвестный факт, что комплексы почвенных животных при хроническом облучении дозами порядка 0,5-20 мSv/сутки испытывают четко регистрируемое угнетение. В этом плане в наших исследованиях особенно чувствительными к действию радиации оказались кольчатые черви (*Polyheta's*), почвенные (*Eisenia fetida*) и морские (*Nereis diversicolor*). Установлено, общий уровень суммарной радиоактивности исследуемых тест-объектов превышает фоновый уровень β -излучения. Частота клеток с абберациями хромосом в клетках костного мозга грызунов из зоны исследования превышает спонтанный уровень в 1,5-2,5 раза. Выявлены как структурные (хромосомные абберации) мутации, так и изменения числа хромосом (анеуплоидия). Среди клеток с нарушениями структуры хромосом преобладали абберации хромосомного типа (67,04%) над хроматидными (32,95%), что указывает на преимущественное радиационное воздействие. Изучение хромосомных и генных мутаций у природных популяций приобретает особое практическое и теоретическое значение в связи с влиянием факторов изменяющейся среды обитания. Поэтому важным элементом комплекса работ по оценке степени воздействия полигонов на окружающую среду и биоту является проведение эколого-генетических и медико-биологических исследований в регионе. Ключевые слова: радиация, цитогенетика, экология, хромосома, популяция.

**Bigaliyev A.¹, Bekmanov B.², Shymshikov B.¹,
Kozhahmetova A.¹, Adilova L.³**

¹Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

²Scientific research institute of general genetics and cytology of E.Sci.M.RK Kazakhstan, Almaty

³S. Asphediyarov national medical university, Kazakhstan, Almaty

*e-mail: aitkhazha@gmail.com

**Study of genetic effects
of radiation contaminated territories on biota**

Industrial factors, the forceful action of full elementary evolutionary processes can lead to qualitative transformations of the gene pool of populations. Observations in the field and experiments made it possible to establish a previously unknown fact that complexes of soil animals with chronic irradiation with doses of the order of 0,5-20 mSv/day experience clearly recorded oppression. Especially sensitive are earthworms *Eisenia fetida*. Among the cells with chromosome structure disorders, chromosomal type aberrations (67,04%) over chromatid (32,95%) prevailed, which indicates a predominant radiation exposure. The study of chromosomal aberrations in natural populations and the human body acquires a special practical and theoretical significance in connection with the influence of factors of the changing habitat. But, an important element of the set of works to determine the degree of impact of the activities of radiation contaminated territory on the environment and public health is the conduct of ecological genetic and medical-biological research in the region. The purpose of

this publication – on the basis of scientific research results to analyze the current state on the habitat of radiation-contaminated territories and the evaluation their genetically consequence of animal and human body.

Key words: radiation, cytogenetic, ecology, chromosome, population.

© 2019 Al-Farabi Kazakh National University

Бигалиев А.¹, Бекманов Б.², Шимшиков Б.¹,

Кожухметова А.¹, Адилова Л.³

¹Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

²Жалпы генетика және цитология ғылыми-зерттеу институты, Қазақстан, Алматы қ.

³С.Д. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті, Қазақстан, Алматы қ.

*e-mail: aitkhazha@gmail.com

Радиациялық ластанған аймақтардың биотаға генетикалық әсерін зерттеу

Техногенді факторлар барлық элементарлы эволюциялық факторлардың (мутациялық процесс, миграция, оқшаулану және т.б.) әрекетін күшейте отырып, популяция генофондының сапалы өзгерістеріне алып келуі мүмкін. Экожүйеде бақылау мен тәжірибелер бұрын белгісіз болған жайтты анықтайды, яғни топырақтағы жануарларын 0,5-20 mSv/тәулігіне мөлшерде радиациямен созылмалы әсер еткен кезде анық байқалатын әсерге ұшырағаны байқалады. Әсіресе жауын құрттары сезімтал болып келеді. Зерттелген тест-жүйелердегі радиоактивтіліктің жалпы деңгейін зерттеу нәтижесінде теңіз құрты *Nereis diversicolor* мен топырақтағы *Eisenia fetida* бұылтық құрттарында β -сәулеленудің фондық деңгейінің артқаны анықталған. Хромосома құрылымы бұзылған клеткалар арасында хроматидтіге (32,95%) қарағанда хромосомды типті (67,04%) аберрациялар басым болды. Бұл көрсеткіш радиациялық әсердің жоғары екенін дәлелдейді. Қазіргі кезде табиғи популяциялар мен адам ағзасындағы хромосомалық аберрацияларды зерттеу құбылмалы тіршілік ортасының факторлары әсеріне байланысты ерекше практикалық және теориялық маңызға ие болып отыр. Сондықтан, қоршаған орта мен тұрғындар денсаулығына радиациялық ластанған аймақтардың әсер ету деңгейін анықтау кезінде аймақта эколого-генетикалық және медико-биологиялық зерттеулер жүргізу маңызды болып есептеледі. Жұмыстың мақсаты – жасалған жұмыстарының нәтижелері негізінде радиациялық ластанған аймақтардың тіршілік ортасының заманауи жағдайын зерттеп және тірі организмдерге әсер етуші генетикалық зардапты бағалау.

Түйін сөздер: радиация, цитогенетика, экология, хромосома, популяция.

Введение

В последние полтора десятилетия сформирована актуальность и интенсивно изучается проблема радиационно-индуцированной нестабильности генома. По данным литературы этот феномен заключается в возникновении *de novo* множественных генетических изменений (генных или хромосомных) примерно у 10-30% потомков клеток, выживших после облучения [1-3]. Установлено, что это наблюдается после облучения не только при высоких, но и так называемых малых дозах (200 мЗв и менее) радиации [4, 5].

На сегодняшний день стоят задачи оценки экологической опасности и генетических последствий совместного действия малых доз мута генов, таких как естественные радионуклиды и тяжёлые металлы, оказывающих комплексное воздействие на объекты живой природы. Генетические эффекты сочетанного действия этих факторов, в отличие от других мутагенов, изучены не достаточно, и

результаты такого рода исследования довольно противоречивы. Поэтому возникает необходимость изучения последствий хронического воздействия ионизирующих излучений на природные популяции, чтобы в полной мере оценить эффективность совместного действия факторов радиационной и нерадиационной природы.

Цель настоящей работы – на основании результатов исследований дать оценку современного состояния окружающей среды и биоты на радиационно-загрязнённых территориях.

Материал и методы исследования

В качестве тест-объектов отобраны представители природных популяций с радиационно-загрязнённых территорий: доминантные виды животных – большая песчанка *R. opimus*, гидробионты – рыбы, моллюски, насекомые, полихеты – морской червь *Nereis diversicolor* и дождевые черви *Eisenia fetida*. Проведены полевые и

лабораторные исследования современными физико-химическими (АА-спектрометрия, радиологическими), цитогенетический (метафазный анализ хромосом) и молекулярно-генетическими (ДНК анализ (RAPD, ISSR) [6-8] методами с использованием комплекса тест-систем для оценки эффективности совместного действия техногенных факторов. Изучены количественные показатели индуцированных радиацией хромосомных и геномных мутаций в клетках костного мозга мелких грызунов. Хромосомный анализ и фотографирование проводили под микроскопом (MicroOptix, Австрия, 2013 год); статистическую обработку полученных результатов общепринятыми методами биологической статистики. При отборе проб почвы, воды, образцов, животных использованы стандартные методы [9-11].

Результаты исследования и обсуждение

Первоначально дана характеристика экосистем зоны исследования (гамма съемка,

Таблица 1 – Результаты измерений гамма-излучения обследуемой территории

№ точки измерения	Координаты		Значение МЭД в мкЗв/ч
№1	43°43'18.7»С	51°10'29.3»В	0.13
№2	43°43'19.1»С	51° 9'45.3»В	0.12
№3	43°43'18.9»С	51° 8'58.7»В	0.11
№4	43°43'18.9»С	51° 8'13.6»В	0.12
№5	43°43'18.7»С	51° 7'28.8»В	0.12
№6	43°43'19.1»С	51° 6'44.3»В	0.11
№7	43°43'19.0»С	51° 5'59.9»В	0.09
№8	43°42'0.5»С	51°13'31.2»В	0.12
№9	43°41'34.6»С	51°13'57.3»В	0.13
№10	43°41'06.3»С	51°14'26.0»В	0.17
№11	43°40'21.0»С	51°14'47.3»В	0.66
№12	43°40'10.9»С	51°15'20.6»В	0.14-0.19

фотографирование и визуальная оценка территории). Исследования проведены на видах, отобранных из природных популяций зоны исследования (определение суммарной активности β-излучения и количественного содержания γ-излучающих радионуклидов в тест-объектах). Из данных литературы известно, что комплексы почвенных животных при хроническом облучении дозами порядка 0,05–0,2 мЗв/сутки испытывают четко регистрируемое угнетение [12, 13]. Впервые получены данные, что особенно чувствительными являются дождевые черви [14]. Уровень γ-излучения определяли в полевых условиях с помощью портативного дозиметра (РКС-01 «СТОРА-ТУ», Россия, 2014 г.) (таблица 1), а активность β-излучения тест-объектов в лаборатории радиологических исследований Научного центра Республиканской Санитарно-эпидемиологической службы и мониторинга (НЦ РСЭС и мониторинга), город Алматы.

№13	43°39'42.9»С	51°15'50.1»В	0.08-0.10
№14	43°39'17.7»С	51°16'19.9»В	0.08-0.12
№15	43°38'52.0»С	51°16'47.7»В	0.11-0.13
№16	43°43'08.5»С	51°14'2.7»В	0.11
№17	43°43'18.7»С	51°14'47.6»В	0.10
№18	43°43'18.9»С	51°15'30.8»В	0.15
№19	43°43'19.2»С	51°16'10.4»В	0.13
№20	43°43'18.3»С	51°17'18.2»В	0.12
№21	43°43'18.4»С	51°18'3.7»В	0.10

Исследуемый район характеризуется не – 0,66 мкЗв/ч – зарегистрирован в точке № 11 значительным уровнем радиационного фона, территория завода ГХМЗ, г. Акта. В результате среднее значение МЭД в целом по району со- тате определения общего уровня суммарной ставляет 0,14 мкЗв/ч. Абсолютный максимум радиоактивности у исследуемых тест-объектов отмечается превышение фонового уровня черви отобраны с прибрежной зоны акватории β-излучения у представителей кольчатых чер- Каспия, дождевые черви также с прибрежной вей – *Nereis diversicolor* и *Eisenia fetida* морские зоны (таблица 2).

Таблица 2 – Суммарный уровень β-излучения тест-объектов

Название пробы	β-излучение, 1/мин*см ²	Название пробы	β-излучение, 1/мин*см ²	Название пробы	β-излучение, 1/мин*см ²
Лещ	0,88±0,003	Перловица	0,86±0,004	Слепни	1,24±0,005
Судак	1,41±0,007	Дрейсена	0,86±0,003	Дождевые черви	8,81±0,021
Берш	1,42±0,007	Нереис	6,24±0,021	ПДК	5
Примечание: в качестве контроля взят общепринятый естественный радиационный фон – 0,16 мкРентген/час					

Эти результаты в основном совпадают с данными по абсолютным показателям количества γ-излучающих радионуклидов и суммарной радиоактивности в тест-объектах. В наших исследованиях результаты всех измерений выше или близки к ПДК за исключением цезия-137 (таблица 3).

Как видно из данных таблицы 3, концентрация цезия-137 во всех тест-объектах значительно ниже ПДК (взята ПДК для рыбохозяйственных водоемов). Содержание калия-40 в моллюсках и слепнях меньше ПДК, а

в остальных организмах – существенно больше. Содержание радия-226 и тория-232 в тканях моллюсков перловицы, дрейсены находятся в пределах ПДК. Следовательно, из всех исследованных видов рыб судак накапливает относительно меньше ($P_{>0.05}$) радионуклидов, хотя как активный хищник этот вид должен получать с пищей больше радионуклидов. Повидимому, низкая концентрация радионуклидов у данного тест-объекта связана с особенностями механизмов выведения из организма. Среди беспозвоночных количество

исследуемых радионуклидов (кроме цезия) существенно выше ПДК у видов более тесно контактирующих с почвой и грунтом: дождевого червя *Eisenia fetida* и морского червя *Nereis diversicolor*. Радионуклиды оседают и накапливаются на дне и в прибрежной почве, откуда они и попадают с пищей в организм вышеуказанных видов [14,15]. Наличие высоких концентраций радия-226 в исследуемых объектах объясняется еще и наличием данного изотопа во всех горных и осадочных породах. Соответственно, этот радионуклид всегда сопутствует загрязнению добывающей промышленности [15,16].

На основании данных по содержанию радиоизотопов в организме гидробионтов можно судить о неблагоприятной радиационной обстановке в прибрежной зоне Каспия. Особое опасение вызывают большие концентрации радионуклидов в дождевых червях, что говорит о радиационной загрязненности почвы исследуемой территории. Соответственно, можно предположить поступление радионуклидов в продукты питания населения области не только с промысловыми рыбами, но и по следующей цепочке: почва – растения – домашние животные – мясные и молочные продукты [12,17].

При оценке воздействия факторов,

[18]. Химические соединения также вызывают в той или иной степени структурные нарушения хромосом (по данным базы данных комитета ЮНЕСКО FOOD на начало XXI века свыше 60 000 синтезированных химических веществ используются сельхозпроизводителями и включаются в пищевые цепи [19-21].

Цитогенетический анализ проводили у грызунов, отловленных на территориях, подверженных влиянию нефтяного загрязнения, в составе которых присутствуют сопутствующие нефти радионуклиды и тяжелые металлы. Кариотип большой песчанки (*Rhombomus opimus*) состоит из 40 хромосом (рисунок 1). 8 хромосом – крупные субметацентрические или метацентрические. 15 пар хромосом по размерам уменьшаются постепенно и по форме являются субметацентриками или метацентриками. Одна пара хромосом – самая наименьшая по размерам и по морфологии они являются акроцентрическими хромосомами.

Таблица 3 – Содержание γ -излучающих радионуклидов в тест-объектах

Тест-объекты	Содержание радионуклидов, Бк/кг			
	Cs-137	Ra-226	Th-232	K-40
Лещ	64,5±0,5; P>0,05	155±0,4; P<0,05	119±0,5; P<0,05	1296±12,3; P<0,05
Судак	63±0,4; P>0,05	123±0,4; P<0,05	70±0,4; P>0,05	1124±12,4; P<0,05
Берш	65±0,4; P>0,05	164±0,5; P<0,05	124±0,4; P<0,05	1300±11,9; P<0,05
Перловица	109±0,5; P<0,05	31±0,3; P>0,05	43±0,4; P>0,05	625±9,9; P<0,05
Дрейсена	76±0,3; P>0,05	32±0,5; P>0,05	45±0,4; P>0,05	624±9,8; P<0,05
Нереис	111±0,5; P<0,05	100±0,3; P>0,05	100±0,3; P>0,05	850±9,8; P<0,05
Дожд. черви	125±0,4; P<0,05	185±0,6; P<0,05	169±0,5; P<0,05	1332±12,5; P<0,05
Слепни	89±0,5; P>0,05	29±0,4; P>0,05	40±0,3; P>0,05	594±12,3; P>0,05
ПДК	370	32	45	700

загрязняющих среду обитания, на здоровье человека особое значение придается ионизирующей радиации, так как все типы радиации вызывают хромосомные aberrации в зародышевых и соматических клетках человека

устойчивости генома биоты и человека. Это и обуславливает необходимость познания механизмов мутагенности радионуклидов, проведение популяционно-генетических исследований оценки реального риска для населения [22,23].

Таким образом, в местах обитания мышевидных грызунов на территориях, прилегающих к хвостохранилищу, мощность эквивалентной дозы гамма-излучения превышает показатели контрольных участков. Активность радионуклидов ^{238}U , ^{226}Ra , ^{232}Th и ^{210}Pb в почве, воде и растениях в опытных участках превышает контроль в 2 – 2,5 раза. Величина поглощенной дозы ионизирующего излучения у мышевидных грызунов, обитающих на территориях, прилегающих к хвостохранилищу больше показателей у контрольных животных. Так, частота встречаемости клеток с гиподиплоидным и гипердиплоидным набором клеток костного мозга у большой песчанки превышает контрольные показатели в 1,8 и 3,5 раза. Количество полиплоидных клеток у большой песчанки, отловленной на загрязненных участках, в среднем 1,7 раза больше, чем у контрольных животных. Величина хромосомных перестроек клеток костного мозга у популяции большой песчанки в среднем в 2 раза превышает показатели у контрольных животных, что указывает на хронический характер воздействия ионизирующего излучения. Сравнительный анализ полученных результатов с данными литературы позволяет прогнозировать реальную опасность генетических эффектов на видовом и популяционном уровнях. В частности, несмотря на то, что цитогенетический мониторинг с помощью диких мелких грызунов разных видов широко используется для изучения мутагенного потенциала среды [24, 25]. Максимальные величины изученных цитогенетических показателей были отмечены на сильно загрязненных территориях. У отловленных животных вблизи источника загрязнения частота хромосомных aberrаций в костном мозге большой песчанки составляет $(5,03 \pm 1,3)\%$ при $t=3,83$; $p<0,003$, что превышает спонтанный уровень в 2,5 раза. Грызуны, обитающие по соседству, на прилегающей территории (с.Акшукыр, с.Мангыстау 1, с.Баскудык, территория завода ГХМЗ) к хвостохранилищу Кошкар-ата действительно обнаруживают индивидуальную вариабельность по цитогенетическому поражению. Уровень

цитогенетических нарушений у *R.opimus*, обитающих на прилегающей территории, в 1,5 раза ниже, чем у грызунов с территории хвостохранилища. Так у исследуемых животных прилегающей территории на расстоянии 500 м (пункт 1,2) частота метафазных клеток с aberrациями составила $(4,97 \pm 1,21)\%$ при $(t=2,58$; $p<0,01)$, то есть в 2,3 раза превышает спонтанный уровень, а пунктах 3,4 (1000 м) – $(4,05 \pm 1,02)\%$ при $(t=2,01$; $p<0,05)$, в 1,5 раза превышает уровень спонтанных хромосомных мутаций. Это непосредственное влияние, так как животные отловлены с данной территории и подвергались длительное время воздействию малых доз радиации (см. таблицу 2 суммарная доза гамма облучения).

Выявленный в данной работе количественный и качественный состав увеличение частоты цитогенетических нарушений по мере удаления от источника загрязнения в исследуемых пунктах свидетельствует о наличии здесь сильных кластогенных эффектов загрязнителей. Изученные мутагенные факторы радионуклиды, как сопутствующие нефти являются причиной высокой частоты хромосомных мутаций у грызунов (*R.opimus*) обследованных территорий. Однако, трудно однозначно утверждать, какой именно из перечисленных мутагенных факторов окружающей среды вызвал наблюдаемые изменения. Вместе с тем выявленный уровень генетических нарушений у диких грызунов с соответствующей экстраполяцией можно рассматривать как потенциальный мутагенный фактор среды по отношению к людям, населяющим эти районы [26, 27, 28]. На рисунках 2, 3 приведены типы хромосомных и геномных нарушений.

На приведенных метафазных клетках показаны изменения числа и структуры хромосом, т.е. качественные показатели цитогенетического анализа (рисунок 2) терминальной делецией, изменение числа хромосомного набора (гиподиплоидная) и одиночные фрагменты (рисунок 3). Хромосомные перестройки играют важную роль в дивергенции кариотипов и адаптации популяции у многих видов животных и растений, а также существуют разные мнения о роли хромосомного полиморфизма в природных популяциях [29]. Aberrации хромосом – общепризнанный биомаркер, используемый в целях биологической

дозиметрии. Этот метод прекрасно зарекомендовал себя при аварийном облучении. Например, у пациентов, облученных вследствие чернобыльской аварии, дозы уточнялись именно с помощью цитогенетической дозиметрии. Маркером облучения являются дицентрические хромосомы. Таким образом, через митоз они проходят лишь с вероятностью 50%. Каждое последующее клеточное деление также приводит к элиминации половины поврежденных клеток [30, 31].



Рисунок 2 – Метафазная клетка хромосом большой песчанки с терминальной делецией



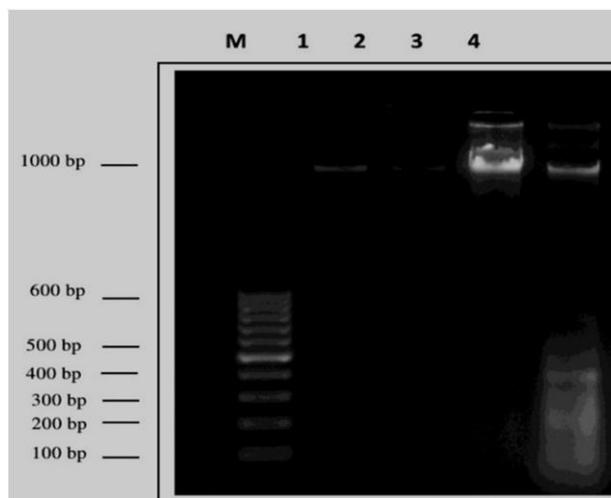
Рисунок 3 – Метафазная клетка с гиподиплоидным набором хромосом (2n=39)

Результаты рестрикционного анализа геномной ДНК большой полевки. Рестрикционный анализ ДНК любого организма широко используется в молекулярно-генетических исследованиях и является одним из наиболее важных инструментов при изучении эффектов загрязнителей на молекулярном уровне. Многие рестриктазы позволяют проводить расщепление ДНК по более чем 150 сайтам узнавания. Мы провели исследование распределения фрагментов хромосомной ДНК после ее расщепления по сайтам узнавания ряда

рестриктаз на примере генома большой песчанки. Получены экспериментальные данные по расщеплению хромосомных ДНК соответствующими эндонуклеазами рестрикции. Первоначально проведены эксперименты по изучению картин рестрикции по расщеплению ДНК грызунов (*R. opimus*-большая песчанка) эндонуклеазами с соответствующими сайтами узнавания. Для этого были выделены ДНК из клеток периферической крови (рисунок 5).



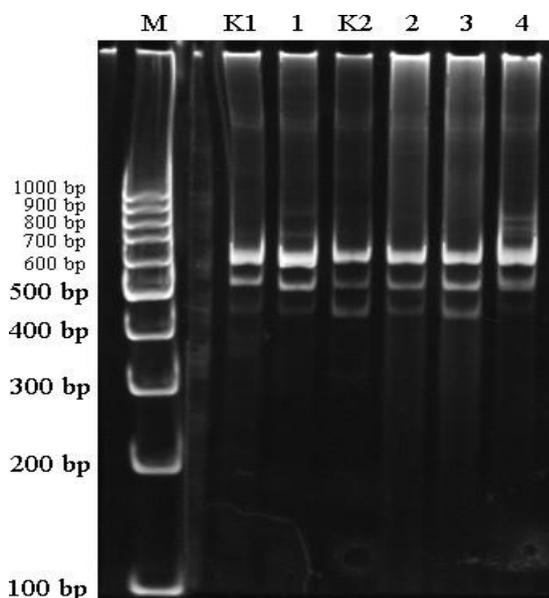
Рисунок 4 – Полиплоидная клетка



М – маркер GeneRuller 100 bp DNA Ladder («Fermentas», Вильнюс, Литва);
1-4 – образцы геномной ДНК

Рисунок 5 – Электрофореграмма геномной ДНК грызуна (*Rhombomys opimus*-большая песчанка) Приведенные на рисунке 5 картины рестрикции показывают, что обычный фенол-хлороформный метод, с помощью которого были

выделены все ДНК, вполне может быть использован для получения препаратов ДНК, пригодных для рестрикционного анализа *in vitro*. При этом, частичная деградация ДНК, обычно приводящая к размыванию картины рестрикции, в данном случае компенсируется большим числом доминирующих повторов в геномах эукариот. В 2014 году повторно изучено влияние радиоактивного загрязнения на геномную ДНК грызунов, отловленных из зоны исследования. Использован праймер с нуклеотидной последовательностью ОРА-02 (5'-TGCCGAGCTG-3'). Далее результаты проведенного анализа variability случайно амплифицированной ДНК методом RAPD-PCR.



М – ДНК маркер (*GeneRuler 100 kb DNA Ladder*) маркер; 1-4 – контрольные линии.

K1 и K2 – материалы из загрязненной территории.

Рисунок 6 – RAPD-полиморфизм большой песчанки, выявленный с помощью праймера ОРА-02

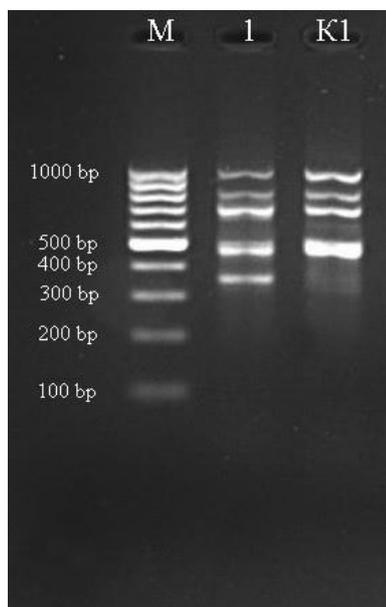
RAPD-PCR – это ПЦР со случайной амплификацией полиморфной ДНК – используется для изучения изменчивости близких по генетической последовательности организмов, например, разных сортов культурных растений, пород животных или близкородственных микроорганизмов. В этом методе обычно используют один праймер небольшого размера (около 10 п.н.). Этот праймер может оказаться частично

комплементарным случайным участкам ДНК исследуемых организмов. На рисунке 6 видно, что по амплифицированным аллелям во всех линиях нет особых отличий. Это говорит о том, что данные праймеры с нуклеотидной последовательностью ОРА-02 менее информативны. Далее было проведено ПЦР с помощью ISSR-маркеров. При проведении ISSR-анализа для полимеразной цепной реакции (ПЦР) в качестве праймеров использовали два олигонуклеотида, различающихся по нуклеотидному составу: (AG)₉C и (GA)₉C (рис. 7).

В результате с использованием этих праймеров были получены многополосные спектры фрагментов ДНК большой песчанки. Число фрагментов ДНК у индивидуальных особей варьировало от 3 до 9. В общей сложности у большой песчанки в популяции г. Актау было выделено 26 отчетливых фрагментов ДНК. По праймеру (AG)₉C по сравнению из зоны Кошкар-Ата линии у объекта под №1 появилась аллель с размером 350 п.о. А с использованием праймера (GA)₉C у объекта №1 по сравнению из хвостохаранилища Кошкар-Ата обнаружена аллель размером 750 п.о. У объекта №2 обнаружено всего 3 аллеля. Эти результаты показывают, что с использованием таких маркеров можно характеризовать генетическую структуру популяции большой песчанки.

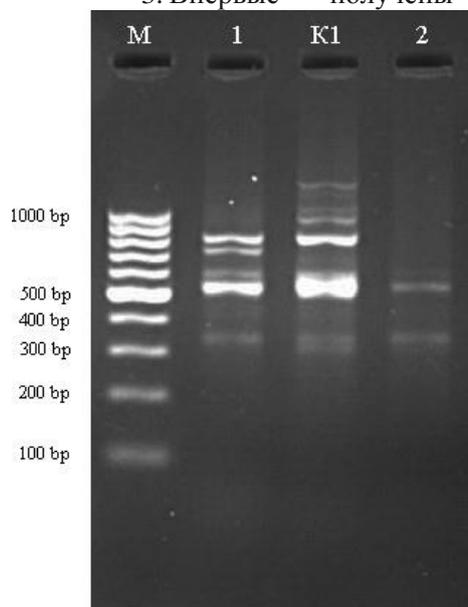
По данным литературы, исследования молекулярных механизмов появления мутаций позволили сделать обобщения идеи гипотезы обмена, гипотезы разрыв-соединение, данных о роли первичных повреждений ДНК и работе ферментов репарации [29, 30, 31]. Для обоснования молекулярных основ структурного мутагенеза основополагающее значение имеет идея о потенциальных изменениях в ДНК. Н.П. Дубинин разработал учение о потенциальных повреждениях в свете молекулярных механизмов образования хромосомных aberrаций. Это позволило создать новую концепцию о потенциальном повреждении, реализация которого в мутацию происходит через некоторое время при наличии определенных условий метаболизма в клетке. Полученные нами результаты по учету индуцированных хромосомных aberrаций в клетках костного мозга грызунов, подвергающихся воздействию радиационных факторов среды обитания, а также результаты

рестрикционного анализа ДНК этих животных являются подтверждением потенциальных повреждений.



повышенные концентрации указанных изотопов.

3. Впервые получены данные, что



М – ДНК маркер (*GeneRuler 100 kb DNA Ladder*).
К1 из загрязненной территории. 1-2 – контрольные линии

Рисунок 7 – ISSR-спектр большой песчанки (*Rhombomys opimus*), полученный при амплификации ДНК с праймером (AG)₉C и (GA)₉C

Заключение

1. Результаты измерения радиационной активности по гамма-излучению показали, что по периметру хвостохранилища Кошкар-Ата и в близлежащих населенных пунктах уровень радиации в пределах 50-10 мSv/час. Высокий радиационный фон на территории и вблизи ХГМЗ – 1730 мSv/час., среднее значение мощности экспозиционной дозы в целом по району составляет 120 мSv/час.

2. Высокая удельная активность по ¹³⁷Cs в пробах почвы с населенного пункта Кызыл-Тобе и Sr-90 отмечается в пробах почвы с пунктов Баянды и ХГЗМ, а максимальная удельная активность по ²²⁶Ra в пробах всех населенных пунктов. В почвах хвостохранилища Кошкар-Ата в среднем уровни радиоактивности в несколько раз выше, чем в почвах фонового участка. Соотношение удельной активности ²³²Th к ²²⁶Ra находится в диапазоне: в п. Баянды – от 16 к 32,5 Бк/кг; п. Акшукур – от 23 до 39,8; п. Кызыл-Тобе – от 18 до 33,3; п. Мангистау – от 14 до 31. На прилегающей территории, по периметру хвостохранилища, также отмечаются

превышение фонового уровня β-излучения отмечается у представителей кольчатых червей – *Nereis diversicolor* и *Eisenia fetida*. Содержание калия-40 в моллюсках меньше ПДК, а в остальных организмах – существенно больше. Содержание радия-226 и тория-232 в тканях перловицы, дрейсены находятся в пределах ПДК; на рыбах количественное содержание радионуклидов не превышает ПДК. Концентрация цезия-137 в организме гидробионтов, взятых в качестве всех тест-объектов, значительно ниже ПДК для рыбохозяйственных водоемов.

4. Цитогенетические исследования грызунов показывают, что частота клеток с нарушениями хромосом, индуцированные радионуклидами у животных, отловленных с территорий Кошкар-Ата, примерно в 1,5-2 раза превышает при сравнении с контрольной группой. Отмечается также индукция анеуплоидных клеток, в частности гипо- и гипердиплоидные, частота которых значимо превышает контроль. Встречаются полиплоидные клетки примерно с одинаковой частотой, как и у контрольных животных.

5. Получены многополосные спектры фрагментов ДНК большой песчанки. Число фрагментов ДНК у индивидуальных особей делены амплифицирующиеся аллели с размером 350 b.p. и 750 b.p. Эти результаты показывают, что с использованием специфических молекулярных маркеров праймеров можно характеризовать генетическую структуру популяции. bp – пары оснований

варьировало от 3 до 9, что указывает на проявление полиморфизма в условиях антропогенного пресса. Опре-

Перечень сокращений, используемых в

mSV – millisievert (миллизиверт) зовать

Литература

- Дубинин Н.П. и др. Генофонд человека и мутагены окружающей среды // Доклады Академии Наук СССР. Сообщение 1. – 1990. – С.19-31.
- Рихванов Л.П. Радиоактивные элементы в окружающей среде и проблемы радиоэкологии. – Томск: Издательство Томский политехнический университет, 2009. – 428 с.
- Bigaliev A.B. Ecological genetics, publisher “Kazakh Universities”. – 2017. – P.346.
- Яблоков А.В. Неадекватность официальной концепции радиационной защиты в области влияния малых доз // Материалы IV Международной конференции. – Томск. – 4–8 июня 2013. – С.580-587.
- Mosse I., Dubovic B., Kostrova L., Molophei V. Melanin can be used for people protection against chronic irradiation and low radiation doses // 4th International Workshop on Space Radiation Research and 17th Annual NASA Space Radiation Health Investigators' Workshop, Book of Abstracts. – Dubna, 2006. – P.81.
- Коваленко С. П. Наследственные и соматические мутации как молекулярные маркеры для диагностики и лечения рака молочной железы: автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 03.01.07 / Коваленко Сергей Петрович. – Новосибирск, 2014. – 35 с.
- Глазко В. И., Гладырь Е. А., Феофилов А. В. ISSR-PCR маркеры и мобильные генетические элементы в геномах сельскохозяйственных видов млекопитающих // Сельскохозяйственная биология. – 2013. – № 2. – С. 71-76.
- Shi A., Kantartzis S., Mmbaga M., Chen P. Development of ISSR PCR markers for diversity study in dogwood (*Cornus* spp.) // Agriculture and biology journal of North America. – 2010. – № 1 (3). – P. 189-194.
- Preston J. K., Dean B. J., Galloway S. Mammalian in vivo cytogenetic assays. Analysis of chromosome aberrations in bone marrow cells. // *Mutat. Res.* -1987. – Vol. 189. – P. 157-165.
- Lloyd, D.C., Edwards, A.A., Moquet, J.E., Guerrero-Carbajal Y.C. The role of cytogenetics in early triage of radiation casualties // *Appl Radiat Isot.* – 2000. – Vol. 52, № 11.
- Levan A., Fregda K., Sandberg A.A. Nomenclature for centric position on chromosomes // *Hereditas.* – 2006. – Vol. 52. – P.201-220.
- Ерошов А. И., Марцель И. Н., Антоненков А. И. Миграция цезия в звене почва – растение – животное // Материалы 12-й международной научной конференции: Сахаровские чтения 2012 года: экологические проблемы XXI. (17-18 мая 2012 г., г. Минск, Республика Беларусь). – Минск, 2012. – С. 233-234.
- Bigalyev A.B., Shalabaeva K.Z., Kulumbetov A.K., Jiyenbekov A.K., Adylova L.M., Kozhahmetova A.N., Myrzakhan A.G. and Ishanova N.E. Ecology-genetical evaluation of radiation and chemical pollution (associated with heavy metals) on biota and man. Review. *International Journal of research advanced. Impact Factor: 6.118.* -Vol 5. – Issue 10. – October 2017. – P.819-825.
- Синтюрина А., Бигалиев А.Б. Особенности аккумуляции радионуклидов гидробионтами и обитателями прибрежной зоны Северо-Каспийского региона // *Вестник КазНУ, серия экологическая* – 2009. – №1(24). – С.97-100.
- Кожаметова А.Н., Бигалиев А.Б., Шаметов А.К. Биоиндикационные исследования аккумуляции нефтепроизводных, радионуклидов, тяжелых металлов в организме гидробионтов казахстанской зоны Каспия // *Фундаментальные исследования.* – 2015. – №2 – С.59-61.
- Шаметов А.К., Кожаметова А.Н., Бигалиев А.Б. Рекогносцировочное и радиоэкологическое обследование объектов окружающей среды хвостохранилища Кошкар-Ата // *Биологические науки. Фундаментальные исследования.* – 2014. – № 12. – С.1938-1941.
- Аверин В.С., Кухтевич А.Б., Васьковцова В.А., Тагай С.А., Царенок А.А., Буздалкин К.Н., Гвоздик А.Ф., Макаровец И.В., Нилова Е. К. Поступление трансураниевых элементов Чернобыльского происхождения в молоко жвачных животных (коров и коз) // Материалы 12-й международной научной конференции: Сахаровские чтения 2012 года: экологические проблемы XXI. (17-18 мая 2012 г., г. Минск, Республика Беларусь). – Минск, 2012. – С. 227-228.
- Nordic Study Group. A Nordic data base on somatic chromosome damage in humans. Nordic Study Group on the Health Risk of Chromosome Damage. // *Mutation Research.* – 1990. – V.241. – № 3. – P.325-337.
- Hagmar L., Stromberg U., Bonassi S., Hansteen I.L., Knudsen L.E., Lindholm C., Norppa H. Impact of types of lymphocyte chromosomal aberrations on human cancer risk: results from Nordic and Italian cohorts// *Cancer Research.* – 2004. – V. 64. – № 6. – P.2258-2263.
- Agency, I. A. E. (2001) Cytogenetic analysis for radiation dose assessment, Vienna.

«Ecological and genetic assessment of the impact of the Koshkar-ata tailing dump on the health of the population of adjacent territories», annual scientific report. – Almaty, – 2016. – P.119.

Шевченко В.А., Асеева Е. А., Снигирева Г. П., Неверова А. Л. Клетки с множественными хромосомными нарушениями в группах лиц, подвергшихся облучению при различных ситуациях, и их возможная биологическая роль // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2000. – Т. 40, №5. – С. 630-639.

Снигирева Г.П. Последствия воздействий ионизирующих излучений: цитогенетические изменения в лимфоцитах крови человека : автореф. дисс. ... д-ра биол. наук : 03.00.01-03 / Снигирева Галина Петровна. – Москва, 2009. – 48 с.

Ломаева М. Г., Васильева Г. В., Фоменко Л. А., Антипова В. Н., Газиев А. И., Безлепкин В. Г. Повышенная вариабельность генома в соматических клетках у потомства самок мышей, подвергнутых острому рентгеновскому облучению в прекоцептивный период // Генетика. – 2011. – Т. 47, №10. – С. 1371-1377.

Кудяшева А. Г., Шишкина Л. Н., Шевченко О. Г., Башлыкова Л. А., Загорская Н. Г. Мониторинг популяций полевокэкономок (*Microtus oeconomus* Pall.), обитающих в условиях повышенного радиационного фона // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2004. – Т. 44, № 3. – С. 262-268.

Костюченко В. А. Радиационно-экологические последствия аварии на Южном Урале : автореф. дис. ... докт. биол. наук: 03.00.01 / Костюченко Владимир Алексеевич. – М., 2005. – 46 с.

Кострова Л. Н., Молофеев В. П., Моссе И. Б. Влияние водорастворимого меланина на генетические эффекты облучения в половых и соматических клетках мышей // Межд. научн. конф.: От классических методов генетики и селекции к ДНКтехнологиям. – Гомель, 2007. – С. 172 – 173.

Кострова Л. Н., Моссе И. Б., Ушакова Д. А., Анощенко И. П. Цитогенетические эффекты углеродных наночастиц в клетках костного мозга мышей // Молекулярная и прикладная генетика. – 2009. – Т. 10. – С.131-135.

Камлюк А. Н., Ширко А. В., Жаворонков И. С. О механизмах определения разрывов, вызванных ионизирующим излучением, в структуре молекулы ДНК // Материалы 12-й международной научной конференции: Сахаровские чтения 2012 года: экологические проблемы XXI. (17-18 мая 2012 г., г. Минск, Республика Беларусь). – Минск, 2012. – С. 260-261.

Хандогина Е.К. Изучение генетического контроля радиочувствительности // Генетика. – 2010. – Т. 46, №3. – С. 293-301.

Vaurijoux A., Gruel G., Roch-Lefevre S., Voisin P. Biological dosimetry of ionizing radiation // Current topics in ionizing radiation research. – 2012. – P. 31-50.

References

Agency I. A. E. (2001) Cytogenetic analysis for radiation dose assessment, Vienna.

«Ecological and genetic assessment of the impact of the Koshkar-ata tailing dump on the health of the population of adjacent territories», annual scientific report. Almaty, 2016, pp.119.

Averin V.S., Kukhtevich A. B., Vaskovtsova V. A., Tagay S. A., Tsarenok A. A., Buzdalkin K. N., Gvozdik A. F., Makarovets I. V., Nilova E.K. (2012) Postuplenie transuranovykh elementov Chernobyl'skogo proishozhdeniya v moloko zhvachnykh zhyvotnykh [Injection of transuranic elements of Chernobyl origin into milk of ruminants (cows and goats)]. Materials of the 12th International Scientific Conference: Sakharov Readings 2012: Environmental Problems XXI. (May 17-18, 2012, Minsk, Republic of Belarus). Minsk, pp. 227-228 (In Russian).

Bigaliev A.B. (2017) Ecological genetics, publisher “Kazakh Universities”, P.346.

Bigaliev A.B., Shalabaeva K.Z., Kulumbetov A.K., Jiyenbekov A.K., Adylova L.M., Kozhahmetova A.N., Myrzakhan A.G. and Ishanova N.E. (2017) Ecology-genetical evaluation of radiation and chemical pollution (associated with heavy metals) on biota and man. Review. International Journal of research advanced., vol 5, issue 10, pp.819-825.

Dubinin N.P. et al. (1990) Genofond cheloveka i mutageny okruzhayushchei sredy [Human gene pool and environmental mutagens]. Reports of the Academy of Sciences of the USSR. Communication 1., pp.19-31 (In Russian).

Eroshov A. I., Martsul I. N., Antonenkov A. I. (2012) Migration of cesium in the soil – plant – animal link. Materials of the 12th International Scientific Conference: 2012 Sakharov Readings: Environmental Problems XXI. (May 17-18, 2012, Minsk, Republic of Belarus), Minsk, pp. 233-234.

Glazko V. I., Gladyr E. A., Feofilov A. V. (2013) ISSR-PCR marker i mobilnye geneticheskie elementy v genomah selskokozyaistvennykh vidov mlekopitayushchih [ISSR-PCR markers and mobile genetic elements in the genomes of agricultural mammalian species]. Agricultural Biology, no. 2, pp. 71-76 (In Russian).

Hagmar L., Stromberg U., Bonassi S., Hansteen I.L., Knudsen L.E., Lindholm C., Norppa H. (2004) Impact of types of lymphocyte chromosomal aberrations on human cancer risk: results from Nordic and Italian cohorts. Cancer Research., vol. 64, no 6, pp. 2258-2263.

Kamlyuk A.N., Shirko A.V., Zhavoronkov I.S. (2012) O mehanizmah opredeleniya razryvov, vyzvannykh ioniziruyushchim izlucheniem, v strukture molekuly DNK [On mechanisms for determining discontinuities caused by ionizing radiation in the structure of a DNA molecule]. Materials of the 12th International Scientific Conference: 2012 Sakharov Readings: Environmental Problems XXI. (May 17-18, 2012, Minsk, Republic of Belarus). Minsk, pp. 260-261 (In Russian).

Khandogina E.K. (2010) Izlucheniye geneticheskogo kontrolya radiochuvstvitelnosti [Studying the genetic control of radiosensitivity]. Genetics, vol. 46, no. 3, pp. 293-301 (In Russian).

Kostrova L.N., Molofey V.P., Mosset I. B. (2007) Vliyaniye vodorastvorimogo melanina na geneticheskiye efekty oblucheniya v polovykh i somaticheskikh kletkakh myshei [Effect of water-soluble melanin on the genetic effects of radiation in the reproductive

and somatic cells of mice]. Int. scientific Conf.: From classical methods of genetics and selection to DNA technology. Gomel, pp. 172 – 173 (In Russian).

Kostrova L. N., Mosset I. B., Ushakova D. A., Anoshenko I. P. (2009) Citogeneticheskiye efekty uglerodnykh nanochastich v kletkah kostnogo mozga myshei [Cytogenetic effects of carbon nanoparticles in mouse bone marrow cells]. *Molecular and Applied Genetics.*, vol. 10, pp.131-135 (In Russian).

Kostyuchenko V. A. (2005) Radiacionno-ekologicheskkiye posledstviya avarii na Yuzhnom Urale [Radiation-ecological consequences of the accident in the Southern Urals]: author. dis. ... doc. biol. Sciences: 03.00.01 . Kostyuchenko Vladimir Alekseevich. M., 46 p (In Russian).

Kovalenko S. P. (2014) Nasledstvennyye I somaticheskie mutacii kak molekulyarnye marker dlya diagnostiki I lecheniya raka molochnoi zhelezy [Hereditary and somatic mutations as molecular markers for the diagnosis and treatment of breast cancer], abstract. Dis. ... Dr. Biol. Sciences: 03.01.07 . Kovalenko Sergey Petrovich. – Novosibirsk, 35 p (In Russian).

Kozhakhmetova A.N., Bigaliev A.B., Shametov A.K. (2015) Bioindikatsionnyye issledovaniya akkumulyatsii nefteproizvodnykh radionuklidov, tyazhelykh metallov v organizme gidrobiontov kazakhstanskoy zony Kaspiya [Bioindication studies of the accumulation of oil derivatives, radionuclides, heavy metals in the body of aquatic organisms in the Kazakhstan zone of the Caspian]. *Basic research*, no. 2, pp. 59-61 (In Russian).

Kudyasheva A. G., Shishkina L. N., Shevchenko O. G., Bashlykova L. A., Zagorskaya N. G. (2004) Monitoring populations of vole-housekeepers (*Microtus oeconomus* Pall.) Living in conditions of increased background radiation. *Radiation biology. Radioecology*, vol. 44, no. 3, pp. 262-268.

Levan A., Fregda K., Sandberg A.A. (2006) Nomenclature for centric position on chromosomes. *Hereditas*, vol. 52, pp.201-220.

Lloyd, D.C., Edwards, A.A., Moquet, J.E., Guerrero-Carbajal Y.C. (2000) The role of cytogenetics in early triage of radiation casualties. *Appl Radiat Isot.*, vol. 52, № 11.

Lomaeva M. G., Vasilieva G. V., Fomenko L. A., Antipova V. N., Gaziev A. I., Bezlepkin V. G. (2011) Povyshennaya variabelnost genoma v somaticheskikh kletkakh u pototmstva samok myshei, podvergnutykh ostromu rentgenovskomu oblucheniyu v prekonceptivnyi period [Increased genome variability in somatic cells in offspring of female mice subjected to acute X-ray exposure in the preconceptive period]. *Genetics.*, vol. 47, no. 10, pp. 1371-1377 (In Russian).

Mosse I., Dubovic B., Kostrova L., Molophei V. (2006) Melanin can be used for people protection against chronic irradiation and low radiation doses. 4th International Workshop on Space Radiation Research and 17th Annual NASA Space Radiation Health Investigators' Workshop, Book of Abstracts. Dubna, pp.81.

Nordic Study Group. (1990) A Nordic data base on somatic chromosome damage in humans. Nordic Study Group on the Health Risk of Chromosome Damage. *Mutation Research*, vol.241, no. 3, pp.325-337.

Preston J. K., Dean B. J., Galloway S. (1987) Mammalian in vivo cytogenetic assays. Analysis of chromosome aberrations in bone marrow cells. *Mytat.Res.*, vol. 189, pp. 157-165.

Rikhvanov L.P. (2009) Radioaktivnyye elementy v okruzhayushchei srede I problem radioecologii [Radioactive elements in the environment and problems of radioecology], monograph. Publishing house Tomsk Polytechnic University, pp. 428 (In Russian).

Shametov A.K., Kozhakhmetova A.N., Bigaliev A.B. (2014) Rekognosirovochnoe I radioekologicheskoe obsledovaniye ob'ektov okruzhayushchei sredy khvostokhranilichsha Koshkar Ata [Reconnaissance and radioecological examination of environmental objects of the Koshkar-Ata tailing dump]. *Biological sciences. Basic research.*, no. 12, pp. 1938-1941 (In Russian).

Shevchenko V. A., Aseeva E. A., Snigireva G. P., Neverova A. L. (2000) Kletki s mnozhestvennyimi khromosomnymi narusheniyami v gruppah lic, podvergavshisya oblucheniyu pri razlichnykh situatsiyah, I ih vozmozhnaya biologicheskaya rol [Cells with multiple chromosomal abnormalities in groups of individuals exposed to radiation in various situations, and their possible biological role]. *Radiation Biology. Radioecology*, vol. 40, no. 5, pp. 630-639 (In Russian).

Shi A., Kantartzis S., Mmbaga M., Chen P. (2010) Development of ISSR PCR markers for diversity study in dogwood (*Cornus* spp.). *Agriculture and biology journal of North America*, no.1 (3), pp. 189-194.

Sintyurina A. Bigaliev A.B. (2009) Osobennosti akkumulyatsii radionuklidov gidrobiontami I obitatelnyimi pribrezhnoy zony Severo-kaspiiskogo regiona [Features of the accumulation of radionuclides by hydrobionts and inhabitants of the coastal zone of the North Caspian region], *Vestnik KazNU, environmental series*, no. 1 (24), pp.97-100 (In Russian).

Snigireva G.P. (2009) Posledstviya vozdeystviya ioniziruyushchikh izluchenii: citogeneticheskiye izmeneniya v limfocitah krovi cheloveka [Consequences of exposure to ionizing radiation: cytogenetic changes in human blood lymphocytes]: abstract. diss. ... Dr. Biol. Sciences: 03.00.01-03 . Snigireva Galina Petrovna. Moscow, 2009, 48 p (In Russian).

Vaurijoux A., Gruel G., Roch-Lefevre S., Voisin P. Biological dosimetry of ionizing radiation .. Current topics in ionizing radiation research. – 2012. – P. 31-50 (In Russian).

Yablokov A.V. (2013) Neadekvatnost oficialnoi koncepcii radiacionnoi zachshity v oblasti vliyaniya malyh doz [Inadequacy of the official concept of radiation protection in the field of low dose effects]. *Materials of the IV International Conference.* – Tomsk, pp.580-587 (In Russian).
