

УДК 546.296:575:576.315.45

БИОИНДИКАЦИЯ ЗАГРЯЗНЕНИЯ РАДОНОМ ЖИЛЫХ ПОМЕЩЕНИЙ ВБЛИЗИ ИСТОЧНИКА МИНЕРАЛЬНЫХ ВОД «БЕЛАЯ ГОРКА» С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО МЕТОДА

© 2005 г. В.Н. Калаев, А.И. Федорова, И.С. Супрычева

Воронежский государственный университет

Проведен цитогенетический мониторинг радонового загрязнения жилых помещений вблизи источника минеральных вод «Белая горка» Богучарского района Воронежской области с использованием ядрышковых характеристик клеток апикальной меристемы корней тест-объекта *Zebrina pendula Schnizl*. Во всех исследованных одноэтажных домах у тест-объекта обнаружено достоверное возрастание ядрышковой активности, что свидетельствует о превышении радоном предельно допустимой концентрации в жилых помещениях. Путем сравнения полученных данных с разработанной ранее шкалой для биодозиметрии радона оценивается активность радона, которая в изученных помещениях составила около 1 кБк/м³. Самая высокая ядрышковая активность отмечается в домах, находящихся вблизи источника, что связано с их максимальным загрязнением.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время для оценки загрязнения окружающей среды широко применяются растительные объекты. Использование растений, как биоиндикаторов загрязнений окружающей среды было продемонстрировано Де Серресом (De Serres, 1978) и Константином и Овенсом (Constantin, Owens, 1982). Стандартными методами биоиндикации являются *Allium*-тест (Fiskesjo, 1985), тестирование с использованием *Vicia faba* (Sandhu et al., 1991), *Crepis capillaris* (Дубинин, 1994). В биомониторинге активно используются и другие растения (Gaul, 1957; Tomkins, 1976; Grant, 1978; Формы пострадиационного восстановления ..., 1980; Micieta, 1987; Abramov, Schevchenko, 1992; De Serres, 1992; Николаевский, 1998 и др.), в частности, различные виды традесканций (Grant et al., 1992). Эти исследования проводят, как правило, на волосках тычинок (Sparrow et al., 1974; Nauman et al., 1976; Ichikava et al., 1996; Евсеева, Зайнулин, 2000 и многие др.), реже – на апикальной меристеме корней (Инге-Вечтомов, 1989). На кафедре генетики, селекции и теории эволюции Воронежского государственного университета был разработан тест для биодозиметрии радиоактивного газа радона, вносящего значительный вклад в облучение населения, с использованием цитогенетических показателей зебрины повислой (*Zebrina pendula Schnizl*). Была создана шкала для определения эквивалентных равновесных объемных активностей (ЭРОА) радона по изменению цитогенетических показателей (Калаев, 1998; Буторина и

др., 1998а; 1998б). Нижняя граница этой шкалы – ЭРОА 1800 Бк/м³. Позднее проводились эксперименты по воздействию на тест-объект предельно допустимых для жилых помещений активностей радона 200 и 400 Бк/м³ (Калаев и др., 2001). При воздействии всех вышеуказанных активностей отмечено изменение ядрышковых характеристик (появление остаточного ядрышка на стадии метафазы – телофазы митоза (1 – 2 %), изменение встречаемости клеток с различным числом ядрышек в ядре при облучении ЭРОА 1800, 200 и 400 Бк/м³). Широкомасштабной практической апробации указанного тест-объекта не проводилось.

Активность радона внутри зданий определяется геологическими особенностями местности (содержанием урана в породах), типом строительного материала и качеством вентиляционных систем. В плохо вентилируемых помещениях радон и продукты его распада могут накапливаться в десятикратном количестве по сравнению с наружным воздухом (Крисюк, 1989; Gfeller et al., 1997).

Внутри зданий радон проникает главным образом из почвы (через щели в фундаменте), из строительных материалов, газо- и нефтепродуктов, накапливаясь, в основном, на первых – вторых этажах (Johner, Volkle, 1994). Из строительных материалов наименьшая концентрация предшественника радона – радия – отмечена у древесины (< 1 Бк/м³). Радиоактивность бетона в зависимости от исходных компонентов (песка и цемента), как правило, в 30 – 50 раз больше, чем у древесины. Величина активности радона в грани-

тах, туфах, пемзе 200 – 400 Бк/кг. Высокую удельную активность радона имеет алюмосиликатный кирпич, доменный шлак, зольная пыль (Кольтовер, 1994). Еще один источник радона – вода, особенно артезианская. Эксперты Международной комиссии по лучевой защите от радиоактивного излучения считают, что из воды в дома поступает до 20 % радона (ICRP, 1993). Концентрация радона в ванной комнате в 3 раза выше, чем на кухне, и в 40 раз выше, чем в жилых комнатах (Крышев и др., 1990).

В Германии средний уровень активности радона в воздухе жилых домов составляет около 40 Бк/м³, но в 1 % обследованных зданий он выше 250 Бк/м³, а в 0,1 % – больше 600 Бк/м³. В домах Швеции средняя активность радона – 50 Бк/м³, в 10 % зданий она больше 100 Бк/м³, а в 1 % – 400 Бк/м³ (Schmier et al., 1993). С 1989 года ведется мониторинг радона на Украине. Очень высокие концентрации радона в зданиях на территории Украинского кристаллического массива (более 1000 Бк/м³) (Кольтовер, 1996). В ряде регионов России (например, Новосибирской (Пахомов, Попов, 1996), Ивановской (Губернаторова и др., 1997), Ростовской областях (Егорова и др., 1997), в Красноярском (Коваленко, Назиров, 1998) и Алтайском (Александров и др., 1997) краях и др.) выявлены локальные зоны повышенного содержания радона, причем основными носителями критических значений являются старый жилой фонд и дома индивидуальной застройки.

В г. Воронеже и области крупномасштабных исследований загрязнения радоном помещений не про-

водилось. В связи с вышеизложенным нами была предпринята попытка оценить загрязнение радоном жилых помещений вблизи источника минеральных вод «Белая горка» Богучарского района Воронежской области, где отмечены повышенные значения активности радона в воде, с использованием в качестве тест-объекта зебрины повислой. В качестве критерия оценки использовались ядрышковые характеристики, т.к. они являются наиболее чувствительными к низким уровням мутагенов (Архипчук, 1995; Бутурина, Калаев, 2000; Соболев, 2001).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в плохо проветриваемых помещениях в 5 домах с низким фундаментом, расположенных на различном удалении от источника минеральных вод (рис. 1). В экспериментах использовали вегетативное потомство одного растения зебрины повислой (*Zebrina pendula* Schnizl.), выращенное в лаборатории на кафедре генетики, селекции и теории эволюции Воронежского госуниверситета. В тестируемых домах помещали банки (0,75 л) с зелеными черенками зебрины повислой длиной 10–12 см (4–5 отростков на банку). Дистиллированную воду в банке отделяли от окружающего воздуха двумя плотно подогнанными слоями полиэтиленовой пленки, что исключило подсос воздуха через отверстия для отростков. Время экспозиции составляло 14 суток, после чего в 15 часов по летнему времени проводили фиксацию появившихся придаточных корней в ацетоалкоголе (3 части 96 % этилового

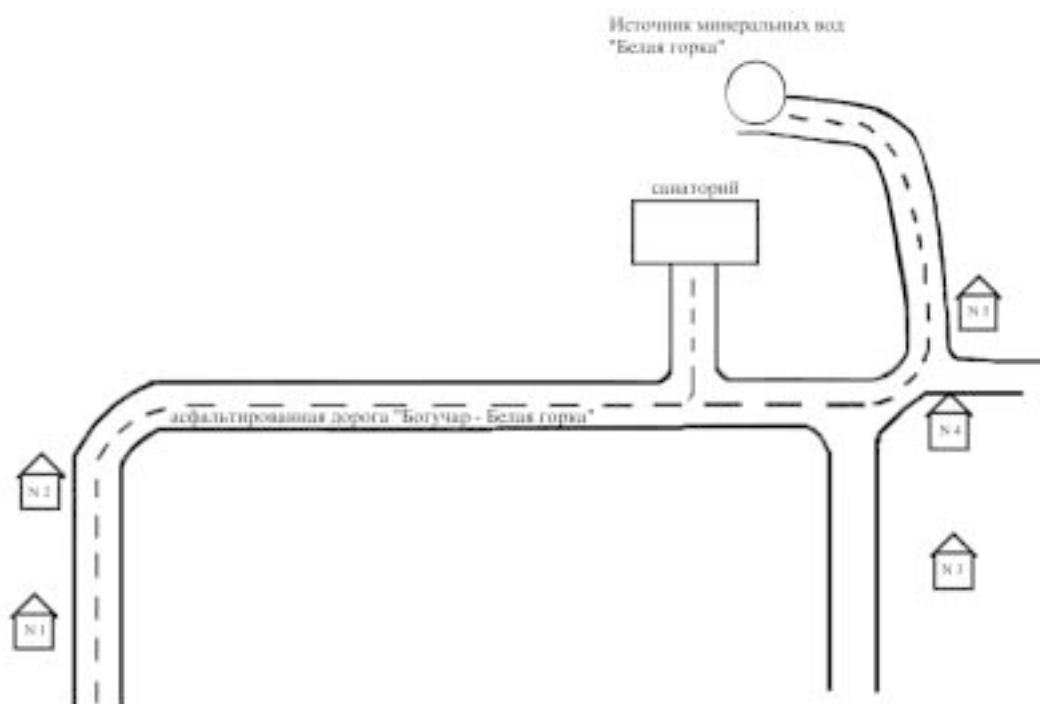


Рис. 1. Схема расположения обследованных домов около источника минеральных вод «Белая горка»

спирта и 1 часть ледяной уксусной кислоты); в нем материал хранили при температуре +4 °С. Для получения контрольных результатов проводили параллельно такой же эксперимент на кафедре генетики, селекции и теории эволюции Воронежского госуниверситета, где в контролируемых условиях (ЭРОА радона не превышала 24 Бк/м³) находились зеленые черенки зебрины повислой.

Изготовление давленных микропрепаратов и их просмотр осуществляли по описанной ранее методике (Буторина, Калаев, 2000). Для каждой опытной точки (дома) изготавливали не менее 7 микропрепаратов (1 микропрепарат – 1 корень). На препаратах анализировали не менее 200 клеток. Определяли % клеток с n ядрышками в ядре от общего числа проанализированных клеток, а также среднее число ядрышек в клетке. Статистическую обработку результатов проводили с использованием статистического пакета программ "Stadia". Процедура группировки данных и их обработка изложены в работе Кулаичева (Кулаичев, 1996). Влияние фактора места оценивали с использованием однофакторного параметрического дисперсионного анализа (силу влияния фактора определяли по Снедекору). Сравнение выборок осуществляли с использованием t -критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований было выявлено, что во всех обследованных домах наблюдается статистически достоверное увеличение по сравнению с контролем частоты встречаемости клеток с 2, 3 и 4 ядрышками в ядре и уменьшение кле-

ток с 1 ядрышком в ядре. Также в опыте обнаружено появление клеток с 5 и 6 ядрышками в ядре, чего не отмечалось в контроле (табл. 1).

Это указывает на активацию латентных ядрышкообразующих районов у данного тест-объекта, что может быть объяснено загрязнением обследованных домов радоном или синергическими эффектами этого благородного газа и других аэрополлютантов. Аналогичные эффекты отмечались у ряда видов растений в условиях сильного антропогенного загрязнения и при воздействии ряда физических факторов (Бондарь и др., 1987; Kalashnik, Khaidarova, 1998; Калашник, Хайдарова, 1999; Шафикова, 1999; Соболев, 2001 и др.).

Полученные данные подтверждают результаты однофакторного дисперсионного анализа, который выявил влияние фактора места (расположения дома) на частоту встречаемости ядрышек в ядре. Значимость и сила влияния фактора места представлены в табл. 2.

Наибольшее влияние оказывает фактор места взятия проб на встречаемость клеток с 1 ядрышком в ядре, наименьшее – на частоту клеток с 4 ядрышками. При проведении дисперсионного анализа без учета контроля также отмечается влияние фактора расположения дома на частоту встречаемости ядрышек в ядре, за исключением клеток с двумя ядрышками. Это указывает на неоднородность загрязнения домов радоном. Уменьшение числа клеток с 1 ядрышком в ядре и возрастание – с большим их числом можно объяснить усилением транскрипционной активности рибосомальных генов в условиях стрессового воздействия. Отсутствие влияния фактора

Таблица 1

Частота встречаемости клеток с различным числом ядрышек в ядре в обследованных домах и в контроле

№ обследуе- мого дома	n=1
1	56,2±2,6 ***
2	35,8±3,0 **
3	48,3±5,7 ***
4	22,7±0,8 ***
5	11,8±1,8 ***
контроль	75,6±1,8

Обозначения:

* – различия с контролем достоверны ($P < 0,05$);

** – различия с контролем достоверны ($P < 0,01$);

*** – различия с контролем достоверны ($P < 0,001$).

Сила влияния фактора (%) расположения строения на частоту встречаемости ядрышек в ядре у исследованного тест-объекта

Анализ данных	
С учетом контроля	1
Без учета контроля	1

Обозначения:

- * – влияние фактора места достоверно ($P < 0,01$);
- ** – влияние фактора места достоверно ($P < 0,001$).

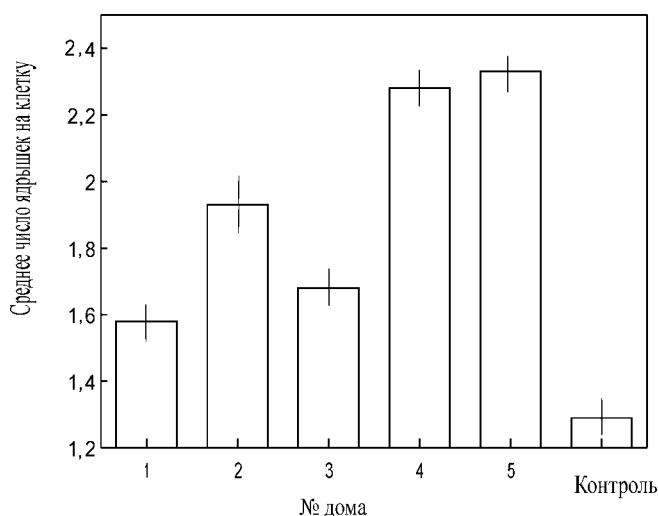


Рис. 2. Среднее число ядрышек в клетках апикальной меристемы проростков корней зебрины повислой (*Zebrina pendula* Schnizl.) в обследованных домах и в контроле

места на частоту встречаемости клеток с 2 ядрышками в ядре, скорее всего, связано с тем, что этот показатель является чувствительным к пороговым значениям стрессового воздействия, при недостаточности компенсации на этом уровне происходит активация других ядрышкообразующих районов (появляются клетки с большим числом ядрышек в ядре).

Использование интегрального показателя встречаемости ядрышек в ядре – среднего числа ядрышек в клетке – также показывает значительные эффекты у опытных образцов (рис. 2). Дисперсионный анализ показал влияние фактора места на этот цитогенетический критерий (сила влияния – 17,5 %; $P < 0,001$), что подтверждает наше предположение об усилении ядрышковой активности у тест-объекта и, соответственно, неблагоприятной радиационной обстановке в обследованных домах. Наличие достоверного влияния фактора места при проведении однофакторного дисперсионного анализа без учета контроля на количество ядрышек в клетке (сила влияния – 18,0 %; $P < 0,001$) связано с неоднородным загрязнением домов.

Таким образом, можно констатировать, что в исследованных домах близ источника минеральных вод «Белая горка» сложилась неблагоприятная радиационная обстановка, возможен генетический риск для проживающих в них людей, обусловленный радоновым загрязнением жилых помещений. Особенно это касается домов № 4 и № 5, наиболее близко расположенных к источнику минеральных вод, наименьшее по показаниям тест-объекта загрязнение отмечено в доме № 1. Сравнивая полученные данные по ядрышковой активности в обследованных домах с созданной ранее шкалой для дозиметрии радона в жилых помещениях по цитогенетическим показателям *Zebrina pendula* Schnizl. (Буторина и др., 1998а; 1998б), можно полагать, что во всех обследованных домах цитогенетические эффекты аналогичны или близки к тем, которые обнаруживаются при облучении активностями радона 1 кБк/м³ (выше нормы в 2 – 2,5 раза).

Результаты исследований являются первой апробацией разработанной тест-системы с использованием зебрины повислой (*Zebrina pendula* Schnizl.) для биодозиметрии радона в жилых помещениях по цитогенетическим показателям этого растения и подтверждают возможность практического применения данного метода.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александров В.Н. Исследование радонового фактора на Алтае как фрагмент первичной онкогигиенической профилактики / В.Н. Александров, Ю.Л. Азаев, Б.А. Баладович и др. // Актуальные вопросы онкологии. – Томск, 1996. – С. 63 – 65.
2. Архипчук В.В. Использование ядрышковых характеристик в биотестировании / В.В. Архипчук // Цитология и генетика. – 1995. – Т. 29, № 3. – С. 6 – 9.
3. Бондарь Л.М. Популяционный анализ активности ядрышкового организатора у растений *Vicia cracca* L. / Л.М. Бондарь, Л.В. Частокленко, В.А. Баранова / Генетика. – 1987. – Т. 23, № 2. – С. 317 – 324.
4. Буторина А.К. Способ биотестирования жилых помещений / А.К. Буторина, В.Н. Калаев, В.М.

Вахтель, А.Г. Бабенко // Инф. листок Воронежского ЦНТИ. № 155 – 98. – 1998 – 2 с.

5. *Буторина А.К.* Анализ чувствительности различных критериев цитогенетического мониторинга / А.К. Буторина, В.Н. Калаев // Экология. – 2000. – № 3. – С. 206 – 210.

6. *Буторина А.К.* Использование растительных тест-объектов для дозиметрии радона в жилых помещениях / А.К. Буторина, В.Н. Калаев, В.М. Вахтель, А.Г. Бабенко // Физика и радиоэлектроника в медицине и биотехнологии: материалы 3 международного научно-технич. конференции. – Владимир, 1998. – С. 284 – 286.

7. *Губернаторова В.В.* Ограничение облучения населения области от естественных источников радиации / В.В. Губернаторова, О.А. Даричева, О.В. Афинеевская и др. // Вестник Ивановской Медицинской Академии. – 1997. – Т. 2, № 1 – 2. – С. 21 – 23.

8. *Дубинин Н.П.* Некоторые проблемы современной генетики / Н.П. Дубинин. – М.: Наука, 1994. – 224 с.

9. *Евсеева Т.И.* Исследования мутагенной активности атмосферного воздуха и снежного покрова г. Сыктывкара по тесту соматических мутаций в волосках тычинок традесканции (клон 02) / Т.И. Евсеева, В.Г. Зайнулин // Экология. – 2000. – № 5. С. 343 – 348.

10. *Егорова И.П.* Содержание радона в воздухе жилых помещений и заболеваемость злокачественными новообразованиями органов дыхания / И.П. Егорова, Г.В. Масляева, Л.В. Роменская и др. // Гигиена и санитария. – 1997. – № 6. – С. 59 – 60.

11. *Инге-Вечтомов С.Г.* Генетика с основами селекции / С.Г. Инге-Вечтомов. – М., 1989. – С. 592 – 594.

12. *Калаев В.Н.* Сравнительная характеристика радиочувствительности двух видов традесканции при облучении малыми дозами γ -радиации с целью отбора для создания тест-объекта радиоактивного загрязнения жилых помещений / В.Н. Калаев // Эколого-физиологические и физико-биохимические основы взаимодействия биосистем с окружающей средой. – Воронеж, 1998. – С. 43 – 48.

13. *Калаев В.Н.* О возможности нестохастических биологических эффектов при облучении радоном в эквивалентных равновесных объемных активностях 200 и 400 Бк/м³ зебрины повислой (*Zebrina pndula Schnizl.*) / В.Н. Калаев, А.К. Буторина, А.В. Мильшин, В.М. Вахтель, А.Г. Бабенко // Вестник ВГУ. Серия химия, биология. – 2001. – № 2. – С. 109 – 113.

14. *Калашник Н.А.* Ядрышковые организаторы хромосом как адаптивные элементы хвойных видов / Н.А. Калашник, Т.Г. Хайдарова // Методы оценки состояния и устойчивости лесных экосистем: тез. докл. международ. совещания, 8 – 13 августа, 1999, Красноярск. – Красноярск, 1999. – С. 79 – 80.

15. *Коваленко В.В.* Первые результаты оценки радоноопасности на территории Красноярского края / В.В. Коваленко, Р.А. Назиров // Изв. вузов. Строительство. – 1998. – № 2. – С. 115 – 120.

16. *Кольтовер В.К.* Радиологические проблемы радона / В.К. Кольтовер // Радиаци. биол. Радиоэкол. – 1994. – Т. 34, № 2. – С. 257 – 264.

17. *Кольтовер В.К.* Радоновая радиация: источники, дозы, биологические эффекты / В.К. Кольтовер // Вестник РАН. – 1996. – Т. 66, №2. – С. 114 – 128.

18. *Крисюк Э.М.* Радиационный фон помещений / Э.М. Крисюк. – М.: Энергоатомиздат, 1989. – 176 с.

19. *Крышев И.И.* Радиоактивное загрязнение районов АЭС / И.И. Крышев, Р.М. Алексахин, И.Н. Рябов и др. – М.: Ядерное общество СССР, 1990. – 150 с.

20. *Кулаишев А.П.* Методы и средства анализа данных в операционной среде Windows. Stadia 6.0. / А.П. Кулаишев. – М.: Информатика и компьютеры, 1996. – 257 с.

21. *Николаевский В.С.* Экологическая оценка загрязнения среды и состояния наземных экосистем методами фитоиндикации / В.С. Николаевский. – М.: Изд – во МГУЛ, 1998. – 193 с.

22. *Пахомов В.Г.* Районирование территории Новосибирской области и г. Новосибирска по степени радоноопасности / В.Г. Пахомов, Ю.П. Попов // АНРИ. – 1996. – № 3. – С. 89 – 92.

23. *Соболь М.А.* Роль ядрышка в реакциях растительных клеток на действие физических факторов окружающей среды / М.А. Соболь // Цитология и генетика. – 2001. – Т. 35, № 3. – С. 72 – 84.

24. *Формы пострадиационного восстановления растений* / Под ред. Гродзинского Д.М. – Киев: Наукова думка, 1980. – 186 с.

25. *Шафикова Л.М.* Цитогенетические особенности сосны обыкновенной в условиях промышленного загрязнения: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Красноярск, 1999. – 20 с.

26. *Abramov V.J.* Genetic consequences of radioactive contamination for populations of Arabidopsis / V.J. Abramov, V.V. Schevchenko // Science of the Total Environm. – 1992. – V. 112. – P. 19 – 29.

27. *Constantin M.J.* Introduction and perspectives of plant genetic and cytogenetic assays / M.J. Constantin, E.T. Owens // Mutat. Res. – 1982. – V. 99, № 1. – P. 1 – 12.

28. *De Serres F.J.* Higher plants as effective monitors of environmental mutagens / F.J. De Serres // Mutat. Res. – 1992. – V. 270. – P. 1 – 6.

29. *De Serres F.J.* Utilization of higher plant systems as monitors of environmental mutagens / F.J. De Serres // Environ. Health Perspect. – 1978. – V. 27. – P. 3 – 6.

30. *Fiskesjo G.* The Allium test as a standard in environmental monitoring / G. Fiskesjo // Hereditas. – 1985. – V. 102. – P. 99 – 102.

31. *Gaul H.* Fur Frage der ontogenetischer zellen nach Rontgenbestrahlung von Samen / H. Gaul // *Naturwissenschaften*. – 1957. – Bd. 11, № 21. – S. 566–571.
32. *Gfeller W.* Radon / W. Gfeller, M. Holliger, G. Pillar et al. // *Umweltradioaktivitat und Strahlendosen in der Schweiz*. – Fribourg, 1997. – S. B.2.1. – B.2.9.
33. *Grant W.F.* Chromosome aberration in plants as a monitoring system / W.F. Grant // *Environ. Health Perspect.* – 1978. – V. 27. – P. 37–43.
34. *Grant W.F.* The use of *Tradescantia* and *Vicia faba* bioassays for the in situ detection of mutagens in an aquatic environment / W.F. Grant, H.G. Lee, D.M. Logan et al. // *Mutat. Res.* – 1992. – V. 270. – P. 53–64.
35. *Ichikawa S.* Variation of spontaneous somatic mutation frequency in the stamen hairs of *Tradescantia* clone BNL 02 / S. Ichikawa, N. Shima, C. Ishii et al. // *Genes & Genetic systems*. – 1996. – V. 71, № 3. – P. 159–165.
36. ICRP. Protection against Radon-222 at Home and Work. – ICRP Publication 65, *Annals of ICRP*. – V. 24, № 4. Oxford: Pergamon Press, 1993. – 30 p.
37. *Johner H.U.* Die naturliche terrestrische und kosmische Strahlung im Hausinnern / H.U. Johner, H. Volke // *Umweltradioaktivitat und Strahlendosen in der Schweiz* 1993. – Fribourg, 1994. – S. B.3.14.1 – B.3.14.11.
38. *Kalashnik N.A.* The study of chromosome nucleolar organizers of Sukachev larch under air pollution / N.A. Kalashnik, T.G. Khaidarova // *Larix-98: World Resources for Breeding, Resistance and Utilisation: Abstracts IUFRO Interdivisinal Symposium*. – Krasnoyarsk, 1998. – P. 45.
39. *Micieta K.* Increased aberration capacity of chromosomes in *Vicia faba* L. under the influence of combination of some herbicides after treatment in field cultures / K. Micieta // *Agriculture (Nitra)*. – 1987. – V. 35, № 7. – P. 1094–1100.
40. *Nauman C.H.* Comparative effects of ionizing radiation and two gaseous chemical mutagens on somatic mutation induced in one mutable and two non-mutable clones of *Tradescantia* / C.H. Nauman, A.H. Sparrow, L.A. Schairer // *Mutat. Res.* – 1976. – V. 38, № 1. – P. 53–70.
41. *Sandhu S.S.* Status report of the International Programme on Chemical Safety's Collaborative study on plant test system / S.S. Sandhu, F.J. De Serres, H.N.B. Gopalan et al. // *Mutat. Res.* – 1991. – V. 257. – P. 19–25.
42. *Schmier H.* Results of radon-measurements in buildings and recommended action in the Federal Republic of Germany / H. Schmier, K. Koenig, A. Schmitt-Hannig, J. Schwibach et al. // *High levels of Natural Radiation*. – Vienna, 1993. – P. 353–363.
43. *Sparrow A.H.* Comparison of somatic mutation rates induced in *Tradescantia* by chemical and physical mutagens / A.H. Sparrow, L.A. Schairer, R. Villalobos-Piltrini // *Mutat. Res.* – 1974. – V. 26, № 4. – P. 265–276.
44. *Tomkins D.J.* Monitoring natural vegetation for herbicide-induced chromosomal aberrations / D.J. Tomkins, W.F. Grant // *Mutat. Res.* – 1976. – V. 36. – P. 73–84.