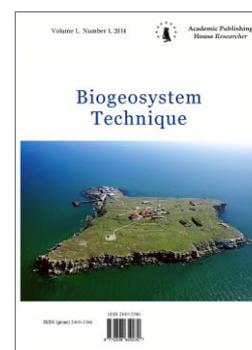


Copyright © 2015 by Academic Publishing House *Researcher*



Published in the Russian Federation
Biogeosystem Technique
Has been issued since 2014.
ISSN: 2409-3386
E-ISSN: 2413-7316
Vol. 6, Is. 4, pp. 316-326, 2015

DOI: 10.13187/bgt.2015.6.316
www.ejournal19.com



Relevant Topic

UDC 575.82

Reproductive “Success” and Population-Genetic Consequences of Environmental Stress on the Example of Accidents in Chernobyl and Fukushima

¹Valery I. Glazko

²Tatiana T. Glazko

¹⁻² Russian State Agrarian University – Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev; 127550, Timiryazevskaya st., 49, Moscow, Russian Federation

¹⁻² Center of Experimental Embryology and Reproductive Biotechnologies, Russian Academy of Agricultural Science, 127422, Kostyakow st., 12, Bl. 4, Moscow, Russian Federation

¹ Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Academician of Russian Academy of Science (foreign participator)

E-mail: vglazko@yahoo.com

² Dr. of Agricultural Sciences, Professor, Senior Researcher

E-mail: tglazko@rambler.ru

Abstract

The analysis of inheritance of ISSR-PCR markers, the frequency of the cytogenetic anomaly occurrences in two generations (F₁, F₂) of cattle which were born in the experimental vivarium of the "Novoshepelichy" in the conditions of high levels of ionizing irradiation in the result of the accident on the Chernobyl Nuclear Power Plant was carried out. Genotyping was performed with using as primers in polymerase chain reaction the fragments of 5 dinucleotide and 6 trinucleotide microsatellite loci, in total on the 162 genomic DNA fragments flanked by inverted repeats of microsatellites. On average, the proportion of polymorphic loci, polymorphic information content (PIC) of the spectra of amplification products were not reduced in two generations of descendants in compared with the parent generation (F₀), despite the all animals had the same father (F₀). Average PIC values from the spectra of amplicons of all 11 primers revealed a significant increase in PIC per locus per individual in the F₂ generation compared to the F₀ generation ($P < 0.001$). The decrease of the cytogenetic anomaly frequencies in blood cells in F₁ and F₂ generations was observed, that corresponded to identified in different species which reproduced in a number of generations in conditions of chronic action of unfavourable environmental stress factors (zones of "risky breeding" in South Gobi – cattle, sheep, yaks; a high level of radioactive contamination – species of voles). The obtaining data indicated that such conditions lead to the preferred reproduction of multi-locus heterozygotes in the spectra of DNA markers and animals with a relatively increased stability of the chromosomal apparatus. The prospects of using the reproduction success of the carriers of these characteristics as an integral indicator of selective effect of environmental stress factors were discussed.

Keywords: ionizing radiation, ISSR-PCR markers, cytogenetic anomalies, reproductive "success", ecological stress

Введение

Экологические изменения лежат в основе преобразования внутренних структур отдельных видов, видовых сообществ, и, в конечном итоге, событий макроэволюционного ранга. В связи с техническим прогрессом, увеличением антропогенного загрязнения, экологические изменения приобрели глобальный масштаб. В этой связи особую важность приобретает выяснение последствий для биоты такого масштабного радионуклидного загрязнения, как авария на Чернобыльской АЭС, оценка которых до сих пор остается дискуссионной [1]. Более того, в результате международной конференции Европейского Комитета по оценке радиационных рисков проведенной 6-го мая 2009 г. в Лесвосе, Греция, опубликована декларация, получившая название «Лесвосовской Декларации», центральным положением которой является утверждение о необходимости разработки новой теории рисков, связанных с ионизирующим излучением [2]. В этой декларации отмечается, что стандарты оценок таких рисков были разработаны достаточно давно, до многих существенных открытий биологических эффектов радионуклидов, механизмов их реализации и модификаций. Кроме того, ряд исследователей полагает, что необходима разработка новой парадигмы оценок последствий биологических эффектов ионизирующего излучения в низкодозовом диапазоне [3, 4]. В то же время, представление о таком диапазоне достаточно условно, поскольку зависит от фонового уровня ионизирующего облучения объекта, характеристик радиочувствительности клеток и тканей, видовой принадлежности, острого или хронического воздействия и т.д. Проблема осложняется еще и тем, что до сих пор остаются недостаточно изученными вопросы внутривидовой гетерогенности по радиоустойчивости, спектры прямых и косвенных внутриклеточных мишеней действия ионизирующего облучения, последствия повреждения разных мишеней и клеточных популяций для многоклеточных организмов.

К настоящему времени наиболее подробный многолетний обзор последствий для здоровья человека действия резкого повышения ионизирующего облучения представлен в работах японских исследователей под общим названием «От Хиросимы и Нагасаки до Фукусимы» [5–6]. Важным результатом, который требует объяснений, является тот факт, что несмотря на многочисленные данные о мутациях в соматических клетках, развитии раковых и нераковых заболеваний у людей, попавших под резкое увеличение ионизирующего излучения, у детей, рожденных от родителей, получивших высокие дозы ионизирующего облучения, не обнаруживается повышенной смертности или онкологических заболеваний [7–9].

Очевидно, что оценка риска ионизирующего облучения могла бы быть существенно упрощена в случае выявления интегрального показателя его повреждающего действия на многоклеточный организм. К настоящему времени в качестве таких показателей используют, в основном, частоту встречаемости онкологических заболеваний, цитогенетических аномалий, врожденных уродств [10–12]. В то же время, характеристикой, обобщающей состояния всех уровней организации многоклеточного организма, может быть его репродуктивный «успех», или приспособленность в популяционно-генетическом понятии – вклад аллельных вариантов по разным генам в следующее поколение по сравнению с частотой его представленности в родительском поколении. Для того, чтобы оценить возможность использования такого подхода, в настоящей работе выполнен анализ распределения вариантов длин фрагментов ДНК, фланкированных инвертированными повторами микросателлитов (Inter-Simple Sequence Repeats – ISSR-PCR маркеры), а также некоторых типов цитогенетических аномалий в поколениях крупного рогатого скота чернопестрой голштинизированной породы, воспроизводившихся в условиях повышенного уровня ионизирующего излучения экспериментального вивария «Новошепеличи», получавших дозы ионизирующего излучения около 0,7 – 0,8 Гр/год. Для сравнения в работу включены данные по частотам цитогенетических аномалий в клетках крови групп крупного рогатого скота, овец и яков, воспроизводящихся в условиях экологического стресса (зона рискованного животноводства, Южное Гоби).

Материалы и методы

Семейный анализ полиморфизма и наследования ISSR-PCR маркеров выполнялся на материале (замороженные образцы крови) поколений черно-пестрого голштинизированного скота, воспроизводящегося в экспериментальном виварии «Новошепеличи», в 10-км зоне отчуждения (200 Ки/км²) Чернобыльской АЭС, представленных восемью семьями, три из которых берут начало от животных, переживших аварию в этой же местности: коров Альфы, Беты и Гаммы, остальные пять – от черно-пестрого голштинизированного скота, завезенного в «Новошепеличи» из относительно чистых полесских районов Украины. В анализ включены образцы крови 34 животных, представляющих родительское и 2 поколения, рожденные в условиях действия низкодозового хронического излучения (0,7 – 0,8 Гр/год, [13]). Все животные, за исключением Альфы, Беты, Гаммы и пяти полесских коров с идентификационными номерами 6803, 6824, 6827, 6843 и 4789, являющихся родоначальницами семей, происходят от одного производителя – быка Урана, также пережившего аварию в этой же местности. Подробные родословные животных, включенных в исследования, представлены в [14].

Выполнены исследования мазков периферической крови группы крупного рогатого скота экспериментального вивария «Новошепеличи», а также местного монгольского крупного рогатого скота, овец и яков из разных эколого-географических регионов Монголии (северо-запад Монголии, район Хубсугул, биосферный заповедник; юг Монголии, район, примыкающий к пустыне Гоби – зона рискованного животноводства). Образцы крови животных Монголии для исследований предоставлены д.б.н. Ю.А. Столповским (Институт общей генетики имени Н.И. Вавилова РАН).

Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР, PCR) из образцов крови выделяли геномную ДНК, в качестве праймеров в реакционную смесь добавляли фрагменты ди- и тринуклеотидных микросателлитных локусов: (AC)₉G, (GA)₉C, (CT)₉G, (AGC)₆G, (AGC)₆C, (ACC)₆G, (CTC)₆C, (CTC)₆A, (CAC)₇A, (CAC)₇T, GT(CAC)₇. PCR проводили на амплификаторе «Терцик, ДНК Технология» (Россия) с применением набора сухих реагентов для PCR амплификации ДНК GenePak™ PCR Core (Изоген, Москва). Для всех образцов собирали смеси PCR амплификации, отдельно для каждого из указанных праймеров. Условия PCR: первоначальная денатурация 2 мин при 95°C; денатурация при 95°C – 30 сек, отжиг при 55°C – 30 сек, синтез при 72°C – 2 мин (37 циклов); завершающий синтез при 72°C – 7 мин. Фракционирование продуктов амплификации проводили в 2 %-ном агарозном геле с применением в качестве ДНК маркера GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Plus (MBI Fermentas, USA) для оценки длины продуктов PCR амплификации. Визуализацию продуктов PCR амплификации проводили под ультрафиолетовым излучением на трансиллюминаторе после окрашивания гелей бромистым этидием.

Мазки крови готовили следующим образом. Каплю периферической крови смешивали с каплей физиологического раствора на предметном стекле в соотношении по объему 1:1, затем распределяли равномерно по всему предметному стеклу. Препараты высушивали и далее фиксировали метиловым спиртом в течение 30 мин. Препараты окрашивали красителем Гимза (фирмы Merck). Количество двуядерных лимфоцитов (ДЯ) и одноядерных лимфоцитов с микроядрами (МЯ) подсчитывали на препаратах в клетках с сохраненной цитоплазмой. Количество митозов (митотический индекс – МИ), частоты встречаемости ДЯ, МЯ рассчитывали в 3000 клеток и выражали в промилях (‰). Количество эритроцитов с микроядрами (ЭМЯ) рассчитывали в 3000 эритроцитов и выражали в промилях (‰). Для исследований препаратов использовали бинокулярный микроскоп фирмы Motik со встроенным цифровым фотоаппаратом при увеличении в 1000 раз.

Статистическую достоверность межгрупповых отличий оценивали по критерию Стьюдента (t_s).

Результаты и обсуждение

В результате использования в ПЦР в качестве праймеров фрагментов 3-х динуклеотидных и 8-ми тринуклеотидных микросателлитов получены спектры продуктов амплификации фрагментов ДНК (ампликонов), фланкированных инвертированными повторами. Каждый фрагмент ДНК рассматривался как отдельный геномный локус, отсутствие фрагмента в спектре данного праймера учитывалось как

гомозигота по рецессивному аллелю, присутствие – как присутствие либо гомозиготы по доминантному аллелю, либо гетерозиготы. Суммарно во всех спектрах ампликонов, полученных при использовании в ПЦР всех праймеров, позволил получить 162 таких фрагмента, воспроизводящихся не менее чем в трех повторностях ПЦР одних и тех же образцов ДНК. 134 таких ампликонов оказались полиморфными по своему присутствию/отсутствию в спектрах продуктов амплификации, полученных на ДНК у разных животных. Диапазон молекулярных масс выявленных ампликонов колебался от минимального в 275 пар нуклеотидов (пн) до максимального в 3200 пн. Максимальное количество локусов было выявлено с использованием праймеров GT(CAC)7 (24 ампликона), (ACC)6G (19 ампликонов), (AGC)6C (19 ампликонов) и (GA)9C (18 ампликонов). Наибольшая доля полиморфных локусов была выявлена в спектрах ампликонов, полученных в ПЦР с праймерами (CTC)6A ($P=0,933$) и (CAC)7A ($P=0,866$).

Далее все животные были подразделены в соответствии с их происхождением на три группы: F₀ – родительское поколение, родившееся до аварии; F₁ – первое поколение родившееся от родителей F₀ в условиях экспериментального вивария «Новошепеличи» в условиях повышенного уровня ионизирующего облучения и F₂ – потомки F₁. В спектрах ампликонов 4-х праймеров выявлено уменьшение доли полиморфных локусов в поколении F₂ (праймеры (GA)9C, (CT)9G, (CTC)6C и (CTC)6A, табл. 1), в двух – увеличение (праймеры (AGC)6G и (CAC)7A). Для 4-х праймеров статистически достоверным было увеличение доли полиморфных локусов в поколении F₁ по сравнению с F₀, но для трех из них в поколении F₂ доля полиморфных локусов снижалась (GA)9C, (CTC)6C и (CTC)6A, а для (AGC)6G – наоборот, увеличивалась. То есть, изменения показателя доли полиморфных локусов в поколениях были разнонаправлены и специфичны для каждого праймера. В целом, в поколении F₁ по сравнению с F₀ не отмечено изменений по доле полиморфных локусов для 6-ти из 11 использованных праймеров, а в поколении F₂ – для 4-х (табл. 1).

Таблица 1

Доля полиморфных локусов, выявленных с использованием различных праймеров в ПЦР, в каждом поколении исследуемых групп животных. F₀ – родительское поколение, родившееся до аварии; F₁ – первое поколение родившееся от родителей F₀ в условиях экспериментального вивария «Новошепеличи» в условиях повышенного уровня ионизирующего облучения и F₂ – потомки F₁

№	Праймер	F ₀	F ₁	F ₂
1	(AC)9G	0,789±0,241	0,434±0,134**	0,633±0,057**
2	(GA)9C	0,651±0,041	0,692±0,089***	0,477±0,079***
3	(CT)9G	0,035±0,012	0,068±0,051	0,048±0,027
4	(AGC)6G	0,361±0,065***	0,689±0,077***	0,733±0,041***
5	(AGC)6C	0,574±0,090	0,436±0,211	0,653±0,057
6	(ACC)6G	0,817±0,337	0,331±0,233	0,575±0,091
7	(CTC)6C	0,795±0,085*	0,586±0,102*	0,475±0,175*
8	(CTC)6A	0,240±0,135**	0,498±0,042**	0,477±0,100**
9	(CAC)7A	0,571±0,161*	0,166±0,088***	0,895±0,018***
10	(CAC)7T	0,428±0,142	0,346±0,021	0,380±0,078
11	GT(CAC)7	0,745±0,072**	0,679±0,107	0,540±0,179**

Примечание: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

Выполнено сравнение спектров продуктов амплификации суммарно у группы животных разных поколений, рожденных коровами, непосредственно пережившими аварию (Альфа, Бета и Гамма) и второй группы, рожденных коровами, завезенными в экспериментальный виварий позднее из относительно чистых районов Полесья (инвентарные номера 6803,6824,6827,6843 и 4789). Обнаружено, что доля полиморфных локусов, выявленных у животных первой группы статистически достоверно выше ($P < 0,001$), чем у потомства коров, завезенных в хозяйство позднее из полесских районов.

У последней группы в спектрах ампликонов, полученных с использованием праймеров (GA)9C, (ACC)6C, (CTC)6C, (CAC)7T, (AGC)6C выявлено существенно меньшее количество фрагментов ДНК. Тем не менее, в обеих группах, с учетом всех выявленных 162 локусов, не обнаружено статистически достоверных изменений показателя доли полиморфных локусов от поколения к поколению. Полученные данные свидетельствуют о том, что в группах животных, рожденных от одного и того же отца (быка Урана) в условиях действия низкодозового хронического облучения, размах генетической изменчивости, определяемый по доле полиморфных локусов, вопреки близкородственному происхождению, поддерживается в трех поколениях на одном уровне.

Далее выполнили сравнительный анализ полиморфного информационного содержания ампликонов каждого спектра, полученного с применением разных праймеров. Рассчитан индекс PIC (Polymorphic Information Contents) по формуле для диаллельных локусов, для которых $PIC=2f(1-f)$, где f – частота рецессивного аллеля, рассчитанная по частотам встречаемости животных, с отсутствием в спектре продуктов амплификации фрагмента ДНК определенной длины. Полученные величины PIC для каждого локуса усредняли по всем ампликонам спектров одного праймера у исследованных групп животных. Сравнения значений PIC по поколениям позволил выявить тенденцию в изменении этого показателя в спектрах 8-ми из 11-ти праймеров (Табл.2). Достоверным оказалось увеличение значения PIC в поколении F2 относительно поколения F0 для спектров ампликонов праймеров (AC)9G, (AGC)6G, (AGC)6C, (ACC)6C, а в поколении F2 по отношению к F1 – соответственно для праймеров (CT)9G, (CTC)6C, (CTC)6A и GT(CAC)7 (Табл. 2). Не отмечено достоверных изменений этого показателя в поколениях для спектров ампликонов, полученных с применением 3-х праймеров – (GA)9C, (CAC)7A и (CAC)7T. В сумме же по усредненным значениям PIC по спектрам ампликонов всех 11-ти праймеров выявлено достоверное увеличение PIC, средней гетерозиготности на локус на особь, в поколении F2 по сравнению с поколением F0 ($P < 0,001$).

Таблица 2

Динамика изменений средней гетерозиготности, оцененная по индексу полиморфного информационного содержания (PIC) в поколениях группы исследованных животных. F0 – родительское поколение, родившееся до аварии; F1 – первое поколение родившееся от родителей F0 в условиях экспериментального вивария «Новошепеличи» в условиях повышенного уровня ионизирующего облучения и F2 – потомки F1

№	Праймер	PIC (F0)	PIC (F1)	PIC (F2)
1	(AC)9G	0,174*0,135**	0,253*0,045	0,428*0,072**
2	(GA)9C	0,333*0,066	0,222*0,095	0,310*0,061
3	(CT)9G	0,287*0,104	0,222*0,156**	0,444*0**
4	(AGC)6G	0,243*0,170*	0,310*0,098	0,538*0,109*
5	(AGC)6C	0,215*0,065**	0,236*0,047	0,457*0,079**
6	(ACC)6C	0,287*0,053*	0,202*0,013	0,525*0,105*
7	(CTC)6C	0,224*0,204	0,242*0,092*	0,571*0,228*
8	(CTC)6A	0,607*0,186	0,370*0,102*	0,571*0,095*
9	(CAC)7A	0,310*0,196	0,387*0,272	0,573*0,128
10	(CAC)7T	0,228*0,194	0,249*0,053	0,356*0,116
11	GT(CAC)7	0,291*0,142	0,249*0,082***	0,499*0,096***

Примечание: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$

Семейный анализ наследования вариантов по 162 локусам не позволил выявить новых фрагментов ДНК, фланкированных инвертированными повторами участков микросателлитов, появление которых можно было бы расценивать как мутационное событие.

Были также проанализированы различия в уровне выявляемого генетического полиморфизма в исследуемой группе с использованием отдельно ди- и тринуклеотидных

праймеров. Среди всех выявленных 134 полиморфных локусов, доля локусов, фланкированных инвертированными повторами динуклеотидных микросателлитов, оказалась существенно ниже ($P < 0,001$), чем доля полиморфных локусов, фланкированных участками тринуклеотидных микросателлитов.

Увеличение уровня гетерозиготности в группах животных F1 и F2, имеющих общего отца – быка Урана, свидетельствует о предпочтительном воспроизводстве гетерозигот в условиях хронического действия низкодозового ионизирующего излучения. Следует отметить, что сходные данные по тем же группам крупного рогатого скота были получены нами ранее при их генотипировании по аллельным вариантам белков и ферментов [14].

Выполнен анализ частот встречаемости различных типов цитогенетических аномалий в мазках крови этих же групп животных. Получены следующие данные (табл. 3).

Таблица 3

Количество двуядерных лимфоцитов (ДЛ), лимфоцитов (ЛМЯ) и эритроцитов с микроядрами (ЭМЯ) на 1000 клеток у животных черно-пестрой породы родительского поколения F₀, F₁, F₂ экспериментального вивария “Новошепеличи”

N, F ₀	ЭМЯ, %	ДЛ, %	ЛМЯ, %	N, F ₁	ЭМЯ, %	ДЛ, %	ЛМЯ, %	N, F ₂	ЭМЯ, %	ДЛ, %	ЛМЯ, %
Альфа	5	-	-	Голка 7	7	-	-	113	10	-	-
6843	7	8	4	4776	3	-	-	122	7	-	-
Гамма	6	-	-	120	5	-	-	136	7	9	3
6827	5	-	-	42	6	7	2	151	4	-	-
6824	3	8	5	105	4	-	-	152	5	7	3
6803	3	-	-	49	4	-	-	147	8	5	3
				4789	4	6	3	144	5	7	5
				116	5	-	-	154	3	-	-
				Роза 3	6	6	4	161	6	2	3
				150	4	6	1	169	6	4	2
				149	5	-	-	157	5	5	4
				167	2	-	-	158	5	3,5	1
				160	4	5	3	среднее	5,9± 0,5	5,3± 1,0	3,0± 0,3
				166	5	3	2				
				162	4	5	2				
среднее	5,0± 1,0	8	4,5± 0,4		4,5± 0,3	5,4± 0,5	2,4± 0,4				

Частота встречаемости лейкоцитов с микроядрами (ЛМЯ) у родительского поколения F₀ статистически достоверно оказалась выше, чем в поколениях F₁ ($P < 0,05$) и F₂ ($P < 0,01$), рожденных в зоне повышенного радионуклидного загрязнения. Что касается количества эритроцитов с микроядрами (ЭМЯ), то межгрупповые отличия по этому показателю были менее выражены. То есть, по частотам встречаемости цитогенетических аномалий в мазках периферической крови в поколениях крупного рогатого скота, родившихся в условиях повышенного ионизирующего излучения, наблюдается отчетливое повышение радиорезистентности животных. Такая же динамика наблюдалась по снижению частот встречаемости цитогенетических аномалий в клетках костного мозга в поколениях обыкновенной полевки и рыжей полевки, отловленных в разные годы в местообитаниях с высокими уровнями радионуклидного загрязнения (Чистогаловка, > 500 Ки/км²; «Рыжий лес», > 1000 Ки/км²) [14].

Интересно отметить, что похожие данные о селекции устойчивых особей на фоне неблагоприятных экологических условий были получены нами у разных сельскохозяйственных видов, воспроизводящихся в условиях биосферного заповедника (Хубсугул, Монголия) и в зоне рискованного животноводства в Южной части пустыни Гоби.

Был выполнен сравнительный анализ частот встречаемости эритроцитов с микроядрами в образцах крови местных монгольских пород крупного рогатого скота, овец, а также яков, воспроизводящихся в разных эколого-географических условиях: северо-запад Монголии, район Хубсугул, биосферный заповедник; юг Монголии, район, примыкающий к пустыне Гоби – зона рискованного животноводства. Количество эритроцитов с микроядрами рассчитывали в 3000 клеток и выражали в промилях (%). Частоты встречаемости эритроцитов с микроядрами оказались близкими у разных видов, воспроизводящихся в одних и тех же экологических условиях, но существенно отличались между животными из разных эколого-географических регионов. Так, в районе биосферного заповедника с благоприятными условиями для разведения, частоты встречаемости эритроцитов с микроядрами оказались существенно выше, чем у животных тех же видов в зоне рискованного животноводства. В районе Хубсугул у овец (22 головы) частота эритроцитов с микроядрами была $5,3 \pm 0,4$ ‰; у крупного рогатого скота (7 голов) – $4,6 \pm 0,7$ ‰; у яков (7 голов) – $3,2 \pm 0,6$ ‰; в пустыне Гоби у овец (10 голов) – $0,9 \pm 0,1$ ‰; у крупного рогатого скота (7 голов) – $1,8 \pm 0,6$ ‰; у яков (7 голов) – $0,3 \pm 0,2$ ‰. Полученные данные свидетельствуют о том, что хроническое действие факторов экологического стресса высокой интенсивности способствует отбору животных (в ряду поколений) с повышенной устойчивостью генетического аппарата к неблагоприятным средовым условиям.

К настоящему времени накоплено большое количество данных об изменениях соотношения полов у детей, рожденных в разных странах после аварии на Чернобыльской АЭС, увеличения смертности новорожденных мужского пола [15, 16, 17]. Сходные данные были получены и нами при анализе плодовитости и смертности животных в поколениях крупного рогатого скота экспериментального вивария «Новошепеличи». Так, 16 коров родительского поколения (F₀) суммарно дали 96 телят ($0,93 \pm 0,03$ теленка на корову в год); 20 из них (21 %) умерло в возрасте до 3 месяцев после рождения. F₁, первое дочернее поколение, родившееся в условиях экспериментального хозяйства «Новошепеличи», существенно отличалось от родительского по этому показателю. Так, среди 36 коров F₁ 21 корова (58 %) оказались стерильными; только 15 коров F₁ принесли потомство F₂ поколения ($0,73 \pm 0,06$); 13 из них умерли до 3-х месячного возраста после рождения (26 %). 4 коровы F₂ суммарно родили 10 телят (F₃) за 2–4 года; $0,94 \pm 0,06$ теленка на корову в год. Обращает на себя внимание также тот факт, что среди 20-ти погибших телят в F₁ преобладали самцы (среди погибших были 6 самок и 14 самцов), а среди 13-ти погибших телят F₂ соотношение полов было приблизительно одинаковым (7 самок и 6 самцов) [14].

Полученные данные свидетельствуют о том, что в результате повышения уровня радионуклидного загрязнения после аварии на Чернобыльской АЭС наблюдаются изменения в приспособленности, репродуктивном «успехе» представителей разных видов. Можно ожидать, что именно изменения в плодовитости, преимущественное воспроизводство гетерозигот, увеличение количества особей с повышенной стабильностью хромосомного аппарата и могут быть интегральными показателями действия на популяцию факторов экологического стресса. По-видимому, именно показатели плодовитости и генетической структуры потомства по сравнению с родительской популяцией могут стать основой наиболее объективной оценки не только радиологических, но и других рисков, определяющих дифференциальное воспроизводство разных генотипов в популяциях в меняющихся условиях окружающей среды.

В пользу этого предположения свидетельствуют накопленные к настоящему времени данные о повышенной смертности в популяциях людей, отселенных из небезопасного района префектуры Фукусимы по повышенному уровню ионизирующего облучения [18]. Известны повышения частот встречаемости раков щитовидной железы после аварии на Чернобыльской АЭС [19], выраженное увеличение онкологических и неонкологических заболеваний популяций человека, подвергавшихся ионизирующему воздействию после взрывов атомных бомб и авариях на атомных станциях. Так, частота различных соматических заболеваний оказалась выше у ликвидаторов, по сравнению со средними значениями у жителей Латвии. Среди заболеваний ведущее место занимали заболевания нервной, пищеварительной, кардиоваскулярной, эндокринной, респираторной, иммунной систем (отношение заболеваемости у ликвидаторов к контролю увеличивалось с 1.3 в 1986 до 10.9 в 2007) [20]. В исследованиях последствий землетрясения, повышения ионизирующего

облучения в популяциях человека после фукусимской трагедии, получены данные, свидетельствующие о том, что уже в первые несколько дней наблюдаются выраженные изменения в целом ряде показателей углеводного и липидного обмена, которые сохраняются месяцами после воздействия [21]. В течение трех лет в префектуре Фукусимы после землетрясения и повышения ионизирующего облучения существенно увеличилось количество пациентов с нейро-отоларингологическими заболеваниями, осложненными депрессиями и другими ментальными дефектами [22]. Обнаружена полицитемия у людей, эвакуированных из зоны повышенного ионизирующего облучения в течение двух лет после аварии на атомной станции Фукусимы, свидетельствующая о существенных изменениях в кроветворении [23]. Очевидно, что все перечисленные последствия для здоровья населения могут быть непосредственно связаны с понижением репродуктивного «успеха». Можно ожидать, что именно этим снижением и обусловлено наблюдаемое противоречие между множественными неблагоприятными последствиями для здоровья у родительского поколения повышения ионизирующего облучения и отсутствием таких выраженных последствий у рожденных ими детей [7–9]. По-видимому, и в популяциях человека реализуется правило, описанное еще И.И. Шмальгаузенем, о том, что при изменении экологических условий преимущества для воспроизводства получают особи, обладающие широкой неспецифической устойчивостью к неблагоприятным воздействиям [24]. С накопленными к настоящему времени наблюдениями хорошо согласуются сформулированные нами положения о последствиях техногенных катастроф, которые были обозначены как «законы Чернобыля». Эти законы следующие: 1) после Чернобыля, рождаются не все, кто должен был бы родиться; 2) после Чернобыля идет отбор против специализированных форм и преимущественное воспроизводство менее специализированных, но обладающих более высокой устойчивостью к действию неблагоприятных средовых факторов; 3) ответ на одни и те же дозы ионизирующего облучения зависит от ее «новизны» для конкретной популяции, т.е. наличия предшествующего отбора у предковых поколений на устойчивость к таким дозам; 4) все проблемы Чернобыля впереди, поскольку поколение, попавшее под прямое повреждающее воздействие аварии относительно недавно вступило в репродуктивный период [25].

Примечания:

1. Mousseau T.A., Nelson N., Shestopalov V. Don't underestimate the death rate from Chernobyl // *Nature*. 2005. Vol. 437. p. 1089.
2. The Lesvos Declaration. European Committee on Radiation Risk. 6th May 2009 <http://www.euradcom.org/2009/lesvosdeclaration.htm>
3. Scott B.R. It's time for a new low-dose-radiation risk assessment paradigm — one that acknowledges hormesis // *Dose-Response*. 2008. Vol. 6. pp. 333–351.
4. Бурлакова Е.Б., Голощапов А.Н., Горбунова Н.В. и др. Особенности биологического действия «малых» доз облучения // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 1996. Т. 36. № 4. С. 610–631.
5. Hasegawa A, Tanigawa K, Ohtsuru A, Yabe H, Maeda M, Shigemura J, Ohira T, Tominaga T, Akashi M, Hirohashi N, Ishikawa T, Kamiya K, Shibuya K, Yamashita S, Chhem RK. Health effects of radiation and other health problems in the aftermath of nuclear accidents, with an emphasis on Fukushima // *Lancet*. 2015;386(9992):479–88. doi: 10.1016/S0140-6736(15)61106-0.
6. Kamiya K, Ozasa K, Akiba S, Niwa O, Kodama K, Takamura N, Zaharieva EK, Kimura Y, Wakeford R. Long-term effects of radiation exposure on health // *Lancet* 2015; 386: 469–478.
7. Kodaira M, Ryo H, Kamada N, et al. No evidence of increased mutation rates at microsatellite loci in off spring of A-bomb survivors. // *Radiat Res* 2010; 173: 205–13.
8. Izumi S, Koyama K, Soda M, Suyama A. Cancer incidence in children and young adults did not increase relative to parental exposure to atomic bombs // *Br J Cancer* 2003; 89: 1709–13.
9. Tatsukawa Y, Cologne JB, Hsu W-L, et al. Radiation risk of individual multifactorial diseases in offspring of the atomic-bomb survivors: a clinical health study // *J Radiol Prot* 2013; 33: 281–93.
10. Sperling K, Pelz J, Wegner RD, Doerries A, Grueters A, Mikkelsen M. 1994. Significant increase in trisomy 21 in Berlin nine months after the Chernobyl reactor accident: temporal correlation or causal relation? // *BMJ* 309(6948): 158–162.

11. Zatsepin I, Verger P, Robert-Gnansia E, Gagniere B, Khmel Z, Lazjuk G. 2004. Cluster of Down's syndrome cases registered in January 1987 in the Republic of Belarus as a possible effect of the Chernobyl accident // *International Journal of Radiation Medicine* 6(1–4): 57–71.
12. Лягинская А. М., Туков А. Р., Осипов В. А. и др. Врожденные пороки развития у потомства ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2009. Том 49. №6. С. 694–702.
13. Чижевський І.В. Оцінка параметрів переходу ^{90}Sr і ^{137}Cs до організму та продукції великої рогатої худоби при пасовищному утриманні тварин (на прикладі зони відчуження Чорнобильської АЕС). Автореф. дис. канд. біол. наук: Київ. нац. ун-т ім. Т.Шевченка. К., 2004. 20 с.
14. Глазко Т.Т., Архипов Н.П., Глазко В.И. Популяционно-генетические последствия экологических катастроф на примере Чернобыльской аварии. М: ФГОУ ВПО РГАУ – МСХА им. К.А. Тимирязева, 2008. 556 с.
15. Peterka M, Peterkova R, Likovsky Z. 2004. Chernobyl: prenatal loss of four hundred male fetuses in the Czech Republic // *Reproductive Toxicology* 18: 75–79.
16. Scherb H., Voigt R. Analytical ecological epidemiology: exposure–response relations in spatially stratified time series // *Environmetrics* 2009; 20: 596–606.
17. Scherb H., Weigelt E. Congenital Malformation and Stillbirth in Germany and Europe Before and After the Chernobyl Nuclear Power Plant Accident // *ESPR – Environ Sci and Pollut Res. Special Issue 1* (2003): 117–125.
18. Tanaka R. Prolonged Living as a Refugee from the Area Around a Stricken Nuclear Power Plant Increases the Risk of Death // *Prehosp Disaster Med.* 2015;30(4):425-30.
19. Little MP, Kwon D, Zablotska LB, Brenner AV, Cahoon EK, Rozhko AV, et al. Impact of Uncertainties in Exposure Assessment on Thyroid Cancer Risk among Persons in Belarus Exposed as Children or Adolescents Due to the Chernobyl Accident // *PLoS ONE*. 2015. 10(10): e0139826. (doi:10.1371/journal.pone.0139826).
20. Eglite ME, Zvagule TJ, Rainsford KD, Reste JD, Curbakova EV, Kurjane NN. Clinical aspects of the health disturbances in Chernobyl Nuclear Power Plant accident clean-up workers (liquidators) from Latvia // *Inflammopharmacology*. 2009;17(3):163-9.
21. Tsubokura M., Takita M., Matsumura T., Hara K., Tanimoto T., Kobayashi R., Hamaki T., Oiso G., Kami M., Okawada T., Tachiya T. Changes in metabolic profiles after the Great East Japan Earthquake: a retrospective observational study // *BMC Public Health* – 2013 13:267. (doi:10.1186/1471-2458-13-267)
22. Hasegawa J, Hidaka H, Kuriyama S, Obara T, Hashimoto K, Tateda Y, et al. Change in and Long-Term Investigation of Neuro-Otologic Disorders in Disaster-Stricken Fukushima Prefecture: Retrospective Cohort Study before and after the Great East Japan Earthquake.// *PLoS ONE*. 2015. 10(4): e0122631. (doi:10.1371/journal.pone.0122631).
23. Sakai A., Ohira T., Hosoya M., Ohtsuru A., Satoh H., Kawasaki Y., Suzuki H., Takahashi A., Kobashi G., Ozasa K., Yasumura S., Yamashita S., Kamiya K., Abe M. Life as an evacuee after the Fukushima Daiichi nuclear power plant accident is a cause of polycythemia: the Fukushima Health Management Survey // *BMC Public Health*. 2014; 14:1318. (doi:10.1186/1471-2458-14-1318)
24. Шмальгаузен И.И. Факторы эволюции. Теория стабилизирующего отбора. 2-е изд. М.: Наука, 1968. 451 с.
25. Glazko VI, Glazko TT. Laws of anthropogenic (ecological) disasters – the example of the Chernobyl accident.// *Biotechnol. & Biotechnol.* 2011. Vol. 25, N 4. pp. 1–6 DOI: 10.5504/bbeq.2011.0088.

References:

1. Mousseau T.A., Nelson N., Shestopalov V. Don't underestimate the death rate from Chernobyl // *Nature*. 2005. Vol. 437. p. 1089.
2. The Lesvos Declaration. European Committee on Radiation Risk. 6th May 2009 <http://www.euradcom.org/2009/lesvosdeclaration.htm>
3. Scott B.R. It's time for a new low-dose-radiation risk assessment paradigm – one that acknowledges hormesis// *Dose-Response*. 2008. Vol. 6. pp. 333–351.
4. Burlakova EB Goloshchapov AN Gorbunov, NV et al. Features of the biological effect of "small" doses of radiation // *Radiation Biology. Radioecology*. 1996. V. 36. № 4. pp. 610–631.

5. Hasegawa A, Tanigawa K, Ohtsuru A, Yabe H, Maeda M, Shigemura J, Ohira T, Tominaga T, Akashi M, Hirohashi N, Ishikawa T, Kamiya K, Shibuya K, Yamashita S, Chhem RK. Health effects of radiation and other health problems in the aftermath of nuclear accidents, with an emphasis on Fukushima // *Lancet*. 2015;386(9992):479-88. doi: 10.1016/S0140-6736(15)61106-0.
6. Kamiya K, Ozasa K, Akiba S, Niwa O, Kodama K, Takamura N, Zaharieva EK, Kimura Y, Wakeford R. Long-term effects of radiation exposure on health//*Lancet* 2015; 386: 469–478.
7. Kodaira M, Ryo H, Kamada N, et al. No evidence of increased mutation rates at microsatellite loci in off spring of A-bomb survivors.// *Radiat Res* 2010; 173: 205–13.
8. Izumi S, Koyama K, Soda M, Suyama A. Cancer incidence in children and young adults did not increase relative to parental exposure to atomic bombs // *Br J Cancer* 2003; 89: 1709–13.
9. Tatsukawa Y, Cologne JB, Hsu W-L, et al. Radiation risk of individual multifactorial diseases in offspring of the atomic-bomb survivors: a clinical health study // *J Radiol Prot* 2013; 33: 281–93.
10. Sperling K, Pelz J, Wegner RD, Doerrries A, Grueters A, Mikkelsen M. 1994. Significant increase in trisomy 21 in Berlin nine months after the Chernobyl reactor accident: temporal correlation or causal relation? // *BMJ* 309(6948): 158–162.
11. Zatspein I, Verger P, Robert-Gnansia E, Gagniere B, Khmel Z, Lazjuk G. 2004. Cluster of Down's syndrome cases registered in January 1987 in the Republic of Belarus as a possible effect of the Chernobyl accident // *International Journal of Radiation Medicine* 6(1–4): 57–71.
12. Lyaginskaya AM, Tukov AN Osipov VA et al. Congenital malformations in the offspring of liquidators of the Chernobyl // *Radiation Biology. Radioecology*. 2009. Vol. 49. №6. pp. 694–702.
13. Chizhevsky IV Evaluation of the conversion options ⁹⁰Sr and ¹³⁷Cs in an organism and production of cattle at pasture animals (on the example of the exclusion zone of the Chernobyl NPP). Author. Thesis. candidate. Biol. Sciences Kyiv. nat. University of them. Shevchenko. K., 2004. 20 p.
14. Glazko TT, NP Arkhipov, VI Glazko Population-genetic consequences of environmental disasters on the example of the Chernobyl accident. M: RGAU – ICCA named after KA Timiryazev, 2008. 556 p.
15. Peterka M, Peterkova R, Likovsky Z. 2004. Chernobyl: prenatal loss of four hundred male fetuses in the Czech Republic // *Reproductive Toxicology* 18: 75–79.
16. Scherb H., Voigt R. Analytical ecological epidemiology: exposure–response relations in spatially stratified time series // *Environmetrics* 2009; 20: 596–606.
17. Scherb H., Weigelt E. Congenital Malformation and Stillbirth in Germany and Europe Before and After the Chernobyl Nuclear Power Plant Accident // *ESPR – Environ Sci and Pollut Res. Special Issue 1* (2003): 117–125.
18. Tanaka R. Prolonged Living as a Refugee from the Area Around a Stricken Nuclear Power Plant Increases the Risk of Death // *Prehosp Disaster Med*. 2015;30(4):425-30.
19. Little MP, Kwon D, Zablotska LB, Brenner AV, Cahoon EK, Rozhko AV, et al. Impact of Uncertainties in Exposure Assessment on Thyroid Cancer Risk among Persons in Belarus Exposed as Children or Adolescents Due to the Chernobyl Accident // *PLoS ONE*. 2015. 10(10): e0139826. (doi:10.1371/journal.pone.0139826).
20. Eglite ME, Zvagule TJ, Rainsford KD, Reste JD, Curbakova EV, Kurjane NN. Clinical aspects of the health disturbances in Chernobyl Nuclear Power Plant accident clean-up workers (liquidators) from Latvia // *Inflammopharmacology*. 2009;17(3):163-9.
21. Tsubokura M., Takita M., Matsumura T., Hara K., Tanimoto T., Kobayashi R., Hamaki T., Oiso G., Kami M., Okawada T., Tachiya T. Changes in metabolic profiles after the Great East Japan Earthquake: a retrospective observational study // *BMC Public Health – 2013* 13:267. (doi:10.1186/1471-2458-13-267)
22. Hasegawa J, Hidaka H, Kuriyama S, Obara T, Hashimoto K, Tateda Y, et al. Change in and Long-Term Investigation of Neuro-Otologic Disorders in Disaster-Stricken Fukushima Prefecture: Retrospective Cohort Study before and after the Great East Japan Earthquake.// *PLoS ONE*. 2015. 10(4): e0122631. (doi:10.1371/journal.pone.0122631).
23. Sakai A., Ohira T., Hosoya M., Ohtsuru A., Satoh H., Kawasaki Y., Suzuki H., Takahashi A., Kobashi G., Ozasa K., Yasumura S., Yamashita S., Kamiya K., Abe M. Life as an evacuee after the Fukushima Daiichi nuclear power plant accident is a cause of polycythemia: the Fukushima Health Management Survey // *BMC Public Health*. 2014; 14:1318. (doi:10.1186/1471-2458-14-1318)

24. Shmal'gauzen I Factors of evolution. The theory of stabilizing selection. 2nd ed. M.: Nauka, 1968. 451 p.

25. Glazko VI, Glazko TT. Laws of anthropogenic (ecological) disasters – the example of the Chernobyl accident.// Biotechnol. & Biotechnol. 2011. Vol. 25, N 4. pp. 1–6. DOI: 10.5504/bbeq.2011.0088.

УДК 575.82

Репродуктивный «успех» и популяционно-генетические последствия экологических стрессов на примере аварий в Чернобыле и Фукусиме

¹ Валерий Иванович Глазко

² Татьяна Теодоровна Глазко

¹⁻² Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Российская академия наук

¹⁻² Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий, Российская академия наук

¹ Доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик РАН (иностраный член)

E-mail: vglazko@yahoo.com

² Доктор сельскохозяйственных наук, главный научный сотрудник

E-mail: tglazko@rambler.ru

Аннотация. Выполнен анализ наследования ISSR-PCR маркеров, частот встречаемости цитогенетических аномалий в двух поколениях (F₁, F₂) крупного рогатого скота, рожденных в экспериментальном виварии «Новошепеличи» в условиях высокого уровня ионизирующего облучения в результате аварии на Чернобыльской АЭС. Генотипирование выполняли с использованием в качестве праймеров в полимеразной цепной реакции фрагментов 5-ти динуклеотидных и 6-ти тринуклеотидных микросателлитных локусов, суммарно по 162 геномным фрагментам ДНК, фланкированным инвертированными повторами микросателлитов. В среднем доля полиморфных локусов, полиморфное информационное содержание (PIC) спектров продуктов амплификации не уменьшались в двух поколениях потомков по сравнению с материнским поколением (F₀), не смотря на общего для всех животных быка-производителя (F₀). По усредненным значениям PIC по спектрам ампликонов всех 11-ти праймеров выявлено достоверное увеличение PIC на локус на особь, в поколении F₂ по сравнению с поколением F₀ (P < 0,001). Наблюдается в поколениях уменьшение частот встречаемости цитогенетических аномалий в клетках крови, соответствующее выявленным у разных видов, воспроизводящихся в ряду поколений в условиях хронического действия неблагоприятных факторов экологического стресса (зоны «рискованного» животноводства Южного Гоби – крупный рогатый скот, овцы, яки; высокий уровень радионуклидного загрязнения – виды полевков). Полученные данные свидетельствуют о том, что такие условия способствуют предпочтительному воспроизводству гетерозигот в полилокусных спектрах ДНК маркеров, а также животных с относительно повышенной стабильностью хромосомного аппарата. Обсуждается перспективность использования репродуктивного «успеха» носителей этих характеристик в качестве интегрального показателя селективного действия факторов экологического стресса.

Ключевые слова: ионизирующее излучение, ISSR-PCR маркеры, цитогенетические аномалии, репродуктивный «успех», экологический стресс.