

УДК 595.142.3:539.16.047+575.826

ОЦЕНКА ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ *LUMBRICUS TERRESTRIS*, ОБИТАЮЩИХ В ПОЧВАХ ПОЛЕССКОГО РАДИАЦИОННО-ЭКОЛОГИЧЕСКОГО ЗАПОВЕДНИКА

Е. М. КАДУКОВА¹⁾, Н. Н. ВЕЯЛКИНА¹⁾, С. В. ГОНЧАРОВ¹⁾, И. А. ЧЕШИК¹⁾

¹⁾Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси,
ул. Федюнинского 4, 246007, г. Гомель, Беларусь

К видам референтных животных для оценки последствий радиационного воздействия на биоту относятся дождевые черви. В работе объектом изучения являлись дождевые черви вида *Lumbricus terrestris*, относящиеся к почвенной группе и обитающие в Полесском государственном радиационно-экологическом заповеднике (ПГРЭЗ) в условиях хронического действия радиационного фактора. Цель исследования: оценить уровень повреждения генетического аппарата, частоту микроядер и двуядерных клеток, а также спонтанный уровень и скорость репарации индуцированных повреждений ДНК после воздействия острого рентгеновского излучения в дозе 4 Гр в целомомитах у дождевых червей из популяций, населяющих почвы территорий с техногенно повышенным содержанием радионуклидов. Рассчитанные значения мощности поглощенной дозы от ¹³⁷Cs для *L. terrestris*, обитающих в почве на исследуемых площадках в ПГРЭЗ через 35 лет после аварии на ЧАЭС, практически во всех случаях превышают значение наиболее консервативного из существующих безопасного уровня радиационного воздействия на биоту – 10 мГр/ч, но не достигают допустимого уровня радиационного воздействия в 10 мГр/сут, установленного для дождевых червей в 108 Публикации МКРЗ. Установлено, что спонтанный уровень повреждения ДНК (% ДНК_{хвост}) у *L. terrestris*, обитающих на участках с разным уровнем радиоактивного загрязнения по ¹³⁷Cs, не отличались и составляли 12,04 ± 1,32 (контрольный участок) и 14,36 ± 2,52 (ПГРЭЗ) соответственно. Воздействие острого рентгеновского излучения в дозе 4 Гр привело через 48 ч к увеличению количества двуядерных клеток в популяциях целомомитов, которое было существенно выше у дождевых червей, обитающих в почве участков с повышенным уровнем загрязнения радионуклидами. Уровень повреждения ДНК у дождевых червей, обитающих в почвах территорий с повышенным радиационным фоном, через 24 ч после воздействия острого рентгеновского облучения в дозе 4 Гр снизился на 12,98 % по сравнению с соответствующим значением через 0,1 ч, а у дождевых червей группы сравнения (Гомельский р-н) – только на 5,88 % по сравнению с соответствующим значением. Адаптивный ответ у особей из популяции *L. terrestris*, длительное время обитающих в почвах территорий ПГРЭЗ, загрязненных радионуклидами после аварии на ЧАЭС, проявлялся в виде повышенной скорости репарации ДНК и увеличении клеточной пролиферации после острого рентгеновского облучения в дозе 4 Гр.

Ключевые слова: дождевые черви; целомомиты; мощность дозы; метод ДНК-комет; микроядра; двуядерные клетки; радиоадаптация.

Благодарность. Исследование проведено в рамках выполнения НИР 6 «Анализ процессов адаптации в популяциях животных разных систематических групп к хроническому действию повышенного уровня ионизирующих излучений» задания 3.07.1 подпрограммы 3 «Междисциплинарные исследования и новые зарождающиеся технологии» Государственной программы научных исследований «Конвергенция 2025» на 2021–2025 годы (№ 20210298).

Образец цитирования:

Кадукова ЕМ, Вейалкина НН, Гончаров СВ, Чешик ИА. Оценка генотоксического действия рентгеновского излучения на дождевых червей *Lumbricus terrestris*, обитающих в почвах Полесского радиационно-экологического заповедника. *Журнал Белорусского государственного университета. Экология*. 2023;4:41–52.
<https://doi.org/10.46646/2521-683X/2023-4-41-52>

For citation:

Kadukova AM, Veyalkina NN, Goncharov SV, Cheshik IA. Assessment of the genotoxic effect of X-ray radiation on earthworms *Lumbricus terrestris* living in soils of Polesie radiation-ecological reserve. *Journal of the Belarusian State University. Ecology*. 2023;4:41–52. Russian.
<https://doi.org/10.46646/2521-683X/2023-4-41-52>

Авторы:

Елена Михайловна Кадукова – старший научный сотрудник лаборатории устойчивости биологических систем.

Наталья Николаевна Вейалкина – кандидат биологических наук; ведущий научный сотрудник лаборатории устойчивости биологических систем.

Сергей Васильевич Гончаров – научный сотрудник лаборатории устойчивости биологических систем.

Игорь Анатольевич Чешик – кандидат медицинских наук, доцент; директор.

Authors:

Alena M. Kadukova, senior researcher at the laboratory of stability of biological systems.

helena.kad@mail.ru

Nataliya N. Veyalkina, PhD (biology); leading researcher at the laboratory of stability of biological systems.

veyalkina@mail.ru

Sergey V. Goncharov, researcher of the laboratory at stability of biological systems.

combinexpo@gmail.com

Ihor A. Cheshik, PhD (medicine), docent; director.

igor.cheshik@gmail.com

ASSESSMENT OF THE GENOTOXIC EFFECT OF X-RAY RADIATION ON EARTHWORMS LUMBRICUS TERRESTRIS LIVING IN SOILS OF POLESIE RADIATION-ECOLOGICAL RESERVE

A. M. KADUKOVA^a, N. N. VEYALKINA^a, S. V. GONCHAROV^a, I. A. CHESHIK^a

^a*Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus,
4 Fedzyuninskaya Street, Gomel 246007, Belarus
Corresponding author: A. M. Kadukova (helena.kad@mail.ru)*

Earthworms are reference animal species for assessing the effects of radiation exposure on biota. The object of the study was earthworms of the species *Lumbricus terrestris*, it belongs to the soil group and live in the Polesie State Radiation-Ecological Reserve (PSRER) under conditions of chronic exposure to the radiation factor. The purpose of the work is to assess the level of damage to the genetic apparatus: the frequency of micronuclei and binucleate cells, as well as the spontaneous level and rate of repair of induced DNA damage after exposure to acute X-ray radiation at a dose of 4 Gy in coelomocytes of earthworms from populations inhabiting soils of areas with technogenically increased content of radionuclides. The calculated values of the absorbed dose rate from ¹³⁷Cs for earthworms of the species *L. terrestris* living in the soil at the study sites in the PSRER 35 years after the Chernobyl accident, in almost all cases exceed the value of the most conservative existing safe level of radiation exposure on biota - 10 µGy/h, but do not reach the permissible radiation exposure level of 10 mGy/day established for earthworms in ICRP Publications 108. It was established that the spontaneous level of DNA damage (% DNA tail) in *L. terrestris* earthworms living in areas with different levels of radioactive contamination by ¹³⁷Cs did not differ and amounted to 12.04 ± 1.32 (control area) and 14.36 ± 2.52 (PSRER), respectively. Exposure to acute X-ray radiation at a dose of 4 Gy led after 48 hours to an increase in the number of binucleate cells in coelomocyte populations; it was significantly higher in earthworms living in the soil of areas with increased levels of radionuclide contamination. The level of DNA damage in earthworms living in soils of areas with increased background radiation, 24 hours after exposure to acute X-ray irradiation at a dose of 4 Gy, decreased by 12.98 % compared to the corresponding value after 0. hour, and in earthworms of the group comparison (Gomel region) – only by 5.88 % compared to the corresponding value. The adaptive response in earthworms of the species *L. terrestris* have inhabited for a long time in the soils of the PSRER territories, manifested itself in the form of an increased rate of DNA repair and an increase in cell proliferation after acute X-ray irradiation at a dose of 4 Gy.

Keywords: earthworms; coelomocytes; dose rate; DNA-comet assay; micronuclei; binucleate cells; radio adaptation.

Acknowledgments. The study was carried out as part of research work 6 «Analysis of adaptation processes in animal populations of different systematic groups to the chronic effects of increased levels of ionizing radiation» of task 3.07.1 of subprogram 3 «Interdisciplinary research and new emerging technologies» of the State Scientific Research Program «Convergence 2025» for 2021–2025 (No. 20210298).

Введение

Поступление радионуклидов в окружающую среду вследствие техногенной деятельности человека – это эволюционно новый фактор, создающий риск дополнительного радиационного воздействия на живые организмы и среду их обитания.

На современном этапе признано и закреплено в ряде документов международных организаций (МАГАТЭ, НКДАР, ООН, МКРЗ, ВОЗ и др.), что радиационная безопасность человека и других живых организмов в среде их обитания должна базироваться на единых принципах [1]. Однако к настоящему времени основы радиационной защиты биоты разработаны в меньшей мере как при определении конкретных задач радиационной защиты организмов, так и при разработке критериев нормирования радиационного действия на биоту [2]. В этих условиях общепринятыми являются некоторые принципы МКРЗ, сформулированные в отношении обеспечения радиационной защиты живых организмов:

– при оценке воздействия повышенного радиационного фактора на биоту целесообразным является использование популяционного подхода, основанного на концепции референтных организмов в качестве индикаторов радиационного воздействия на окружающую среду;

– определяющее значение при этом имеют такие критерии оценки, как снижение продолжительности жизни, повышенная заболеваемость, угнетение репродуктивной функции, частота цитогенетических и наследуемых генетических эффектов [3];

– конечной целью радиационной защиты биоты является предотвращение или снижение частоты эффектов, ведущих к сокращению времени жизни либо снижению репродуктивного потенциала у биологических видов до уровня, при котором обеспечивается сохранение популяции.

Эффекты хронического воздействия малых доз ионизирующей радиации на живые организмы до настоящего времени являются предметом многих исследований, а их результаты обобщены в ряде научных

публикаций и обзоров [4; 5]. Однако остаются разногласия относительно эффектов воздействия радиации на дикую природу. Сообщается как о значительном сокращении численности беспозвоночных на исследуемых участках в зоне отчуждения ЧАЭС по сравнению с участками с естественным фоновым облучением [6], выявлении у беспозвоночных значительных физиологических и генетических повреждений после аварии на АЭС «Фукусима-1» [7], так и об отсутствии выявляемых от воздействия радиации эффектов [8; 9].

В работе [10] сформулирован ряд актуальных вопросов, на решении которых сосредоточены усилия научного сообщества при исследовании действия хронического облучения на представителей флоры и фауны в естественной среде их обитания, при этом признается, что данных, позволяющих выявить молекулярно-клеточные механизмы адаптации организмов к воздействию радиационного фактора, недостаточно [11–13].

В список референтных видов наземных экосистем для оценки последствий радиационного воздействия на биоту включены дождевые черви [14; 15]. В процессе жизнедеятельности они находятся в состоянии непрерывного обмена со средой обитания, контактируя с почвой через внешние покровы тела и заглатывая грунт, играют большую роль в поддержании структуры и плодородия почв [16; 17].

В качестве молекулярных маркеров ранних эффектов от воздействия ионизирующего излучения у дождевых червей применяют кометный анализ радиационно-индуцированных повреждений ДНК в клетках [18; 19], а также микроядерный тест.

Цель исследования: оценить уровень повреждения генетического аппарата, а также спонтанный уровень и скорость репарации индуцированных повреждений ДНК после воздействия острого рентгеновского излучения в дозе 4 Гр в целомочитах у дождевых червей вида *Lumbricus terrestris* из популяций, населяющих почвы территорий с техногенно повышенным содержанием радионуклидов.

Материалы и методы исследования

Сбор экспериментального материала проводился в 2021 г. в весенний период на выбранных участках: в Гомельском р-не (контроль) и в Полесском государственном радиационно-экологическом заповеднике (ПГРЭЗ), где сохраняется повышенный уровень активности техногенных радионуклидов после аварии на Чернобыльской атомной электростанции. Участки сбора представляли собой площадки 1×1 м, находились в сходных климатических условиях и характеризовались почвами подзолистого типа с разнотравно-злаковой растительностью. Каждую площадку обрабатывали 10 л 4%-ного раствора формалина и собирали червей с поверхности почвы вручную, затем пересаживали в контейнеры с почвой и транспортировали в лабораторию [20; 21].

Для оценки радиационной обстановки на выбранных участках дозиметром-радиометром *MKS-AT6130* («АТОМТЕХ», Беларусь) измеряли мощность AMBIENTного эквивалента дозы γ -излучения в воздухе на высоте 1 м от поверхности почвы.

Отбор проб почв проводился на выбранных участках «методом конверта» с глубины 0–20 см с разделением по 5-сантиметровым горизонтальным слоям в соответствии с действующими техническими нормативными правовыми актами, регламентирующими их порядок.

В лабораторных условиях принадлежность дождевых червей к виду *L. terrestris* определяли с использованием стереомикроскопа по методическому руководству [22].

Удельная активность ^{137}Cs определялась в образцах почв по методике МВИ.МН 1823-2007 в лаборатории моделирования и минимизации антропогенных рисков Института радиобиологии НАН Беларуси на гамма-спектрометрическом комплексе *Canberra* с полупроводниковым детектором из высокочистого германия с расширенным диапазоном GC2018. Неопределенность измерений составляла не более 10 %.

Расчет доз облучения. На основании полученных данных о вертикальном распределении ^{137}Cs в отобранных образцах почв с опытных площадок в лаборатории радиоэкологии Института радиобиологии НАН Беларуси были рассчитаны дозовые коэффициенты для оценки мощности дозы внешнего облучения животных. Дозовые коэффициенты имеют размерность (мГр/сут)/(кБк/м²) и позволяют оценить мощность поглощенной дозы в теле дождевого червя от ^{137}Cs , сосредоточенного в почве, с учетом особенностей вертикального распределения загрязнения на участке сбора. Опубликованные до настоящего времени дозовые коэффициенты рассчитывались исходя из предположения о сосредоточении радионуклидов на поверхности почвы, либо их равномерном распределении в слое почвы заданной толщины [23], что не в полной мере отражает реальную ситуацию, сложившуюся на территории ПГРЭЗ после аварии на Чернобыльской АЭС

Расчет поглощенной энергии ионизирующих излучений в теле дождевого червя производился методом Монте-Карло, который заключается в имитационном моделировании поведения частиц и квантов, образующихся при радиоактивном распаде ^{137}Cs , и их взаимодействии с веществом окружающей среды и тела животного. Имитационное моделирование транспорта частиц и квантов в сложном пространстве с учетом

потери энергии в почве и теле животных осуществлялось с использованием интегрированного программного пакета FLUKA версии 2011.2c.6 от 05.06.2017 г. При расчетах был использован режим транспорта фотонов с детализацией взаимодействий с веществом. Имитировались следующие типы взаимодействий:

- когерентное и некогерентное рассеяние;
- фотоэлектрическое поглощение;
- возникновение фотонов в фотоэффектах;
- тормозное излучение электронов в толстых мишенях.

При моделировании использовались параметры, характеризующие валовое содержание химических элементов в теле дождевого червя, минеральных горизонтах почвы и подстилки на ее поверхности. Расчет проводился раздельно для каждого из 5-сантиметровых слоев почвы и для трех возможных случаев геометрических отношений дождевого червя и почвы: рассматривались случаи нахождения дождевого червя:

1) в почве на глубине 10 см;

2) под мертвым органическим веществом на поверхности минеральной части почвы;

3) на поверхности органической части почвы (на мертвом органическом веществе). В расчет принимались только объекты в радиусе до 5 м от дождевого червя. При моделировании использовались методические подходы, описанные в [24–26]. Рассчитанные дозовые коэффициенты приведены в табл. 1.

Таблица 1

Дозовые коэффициенты для оценки мощности дозы внешнего облучения животных

Table 1

Dose coefficients for estimating the dose rate of external irradiation of animals

Слой почвы (l), см	Геометрическое отношение дождевого червя и почвы		
	1)	2)	3)
	Дозовые коэффициенты, (мГр/сут)/(кБк/м ²)		
0–5	2,19E+03	2,29E-04	1,99E-04
5–10	1,14E-04	2,96E-05	2,55E-05
10–15	1,82E-04	1,44E-05	1,24E-05
15–20	2,27E-05	5,91E-06	3,38E-06

Оценка мощности поглощенной дозы облучения животных от ¹³⁷Cs, сосредоточенного в почве (D_e), производилась с использованием следующего уравнения:

$$D_e = \sum_{l=1}^4 F_l^{rel} \cdot A_s, \quad (1)$$

где l – номер 5-сантиметрового слоя почвы; F_l^{rel} – дозовый коэффициент для слоя почвы l и геометрическое отношение дождевого червя и почвы; rel , A_s – плотность загрязнения слоя почвы l (кБк/м²).

Все расчеты проводились для плотности загрязнения почвы ¹³⁷Cs равной 1кБк/м² с последующим пересчетом на основании полученных данных об удельной активности ¹³⁷Cs в горизонтах почвы, а также данных о распределении ¹³⁷Cs по горизонту почвы 0–20 см.

Половозрелых особей *L. terrestris*, собранных на участках в Гомельском р-не и на территории ПГРЭЗ, делили случайным образом на следующие группы: 1) Гомельский р-н; 2) Гомельский р-н (облучение 4 Гр); 3) ПГРЭЗ; 4) ПГРЭЗ (облучение 4 Гр). Каждая группа состояла из 10–12 особей.

Группы 1 и 3 являлись контрольными и использовались для определения фонового уровня цитогенетических повреждений. Особи групп 2 и 4 подвергались острому однократному облучению в дозе 4 Гр при помощи рентгеновской установки биологического назначения *X-Rad 320 (PRECISION X-RAY, США)*, мощность дозы 0,98 сГр/мин.

Анализ уровня повреждений и репарации ДНК. Подготовка суспензии клеток. Целомоциты выделялись неинвазивным методом, по методике, описанной в [27; 28]. После процедуры экстракции и центрифугирования клеточные суспензии хранили на льду.

Анализ повреждений ДНК в целомоцитах методом ДНК-комет. Уровень спонтанных повреждений ДНК в клетках дождевых червей *L. terrestris* оценивали с помощью щелочной версии метода ДНК-комет [29].

Скорость репарации индуцированных повреждений ДНК оценивали после облучения особей дождевых червей в дозе 4 Гр. Целомоциты для оценки % ДНК в «хвосте» выделяли непосредственно после облучения, через 1 ч и через 24 ч после острого рентгеновского облучения в дозе 4 Гр.

Изображения комет анализировали на флуоресцентном микроскопе, оснащенный цифровой фотокамерой. Целостность структуры ДНК оценивали по показателю процентного содержания ДНК в «хвосте» с помощью программы *CometScorePro* (*TriTekCorp*, США) в полуавтоматическом режиме. Анализировали по 100 клеток на каждом препарате.

Анализ цитогенетических повреждений и нарушения пролиферации в целомоцитах. Количество целомоцитов с микроядрами и количество двуядерных клеток оценивалось в фиксированных и окрашенных по методу Романовского – Гимзы препаратах целомоцитов на микроскопе Люмам (увеличение $\times 1350$). Для этого целомоциты выделялись, как описано выше, у половозрелых интактных особей, собранных на участках в Гомельском р-не, и у особей с участков, расположенных на территории ПГРЭЗ, а также через 48 ч у особей обеих исследуемых групп, подвергнутых воздействию острого рентгеновского облучения в дозе 4 Гр.

При проведении микроскопического исследования целомоцитов микроядрами считали округлые или овальные хроматиновые тела с гладким непрерывным краем, которые лежали отдельно от ядра, имели окрашивание, аналогичное основному ядру, находились в одной плоскости с ядром и при этом не преломляли свет [30].

При проведении микроядерного теста вычисляли частоты встречаемости клеток с каждым типом нарушений – как отношение числа клеток с исследуемой аберрацией к общему числу проанализированных клеток (в %).

Статистический анализ результатов осуществляли с использованием пакета статистических программ *Statistica 7.0*. Полученные данные представлены в таблицах при нормальном распределении в виде среднего арифметического и стандартного отклонения ($M \pm SD$), при ассиметричном – в виде медианы и интерквартильного размаха (Me [25 % квартиль; 75 % квартиль]), а также в виде минимального и максимального значений (min; max). Межгрупповые различия оценивали в U-тесте Манна–Уитни или по t-критерию Стьюдента. Нулевую статистическую гипотезу об отсутствии различий отвергали при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Дождевых червей по месту обитания в почве делят на несколько морфо-экологических групп, в частности на подстильных, почвенно-подстильных и норных, или почвенных [31].

В исследованиях по оценке состояния популяций дождевых червей, обитающих на территориях с повышенным радиационным фоном, в основном анализировали виды, которые относятся к группам подстильных и почвенно-подстильных, которые составляют большинство среди видов земляных червей, в том числе и в Беларуси [32].

Так, в опубликованных результатах масштабного исследования популяций дождевых червей, обитающих в зоне отчуждения ЧАЭС и в пределах 100-километровой территории вокруг АЭС «Фукусима-1», проведенного в 2014–2016 гг., сообщалось о 6 видах дождевых червей подстильных и почвенно-подстильных групп, широко распространенных на участках с разным уровнем радиоактивного загрязнения. Причем не было установлено различий в значениях удельной массовой активности ^{137}Cs между образцами подстильных и почвенно-подстильных видов дождевых червей [33].

Данных о популяциях дождевых червей, относящихся к почвенной группе и длительное время обитающих на территориях зоны отчуждения ЧАЭС, недостаточно. Следует также подчеркнуть, что вид *L. terrestris*, относящийся к почвенной группе, наиболее широко распространен в почвах антропогенных биогеоценозов, его численность в биогеоценозах зоны отчуждения ЧАЭС не так высока, а методика сбора имеет свои отличия.

Мощность AMBIENTного эквивалента дозы (МАЭД) γ -излучения в воздухе на высоте 1 м от земли на площадках обитания дождевых червей на территории ПГРЭЗ в момент сбора варьировала от 0,98 до 1,20 мкЗв/ч, а на площадках в Гомельском р-не (контроль) – от 0,08 до 0,12 мкЗв/ч соответственно (табл. 2).

Таблица 2

Мощность дозы облучения от ^{137}Cs для дождевых червей *L. terrestris* из популяций, обитающих на исследуемых территориях

Table 2

Dose rate of ^{137}Cs for *L. terrestris* earthworms from populations living in the study areas

Участок	МАЭД γ -излучения, мкЗв/ч, высота 1,0 м	Плотность загрязнения почвы ^{137}Cs , кБк/м ²	Мощность дозы облучения от ^{137}Cs (мкГр/ч) для дождевых червей при нахождении:	
			на почве, $X_{\min}-X_{\max}$	под почвой $h = 0,1$ м, $X_{\min}-X_{\max}$
Гомельский р-н	0,08–0,12	31,7	0,19–0,23	0,21–0,27
ПГРЭЗ	0,98–1,20	438,2	8,42–23,67	9,67–27,25

При оценке величины мощности дозы облучения у организмов биоты учитывают внутреннее облучение от радионуклидов, накопленных организмом, и внешнее облучение от среды обитания. Причем, если для большинства референтных организмов преобладающим является вклад внутреннего облучения, то для дождевых червей, обитающих на загрязненных после аварии на ЧАЭС территориях, где ^{137}Cs как доминирующий компонент амбиентной дозы до настоящего времени вносит существенный вклад в общую мощность поглощенной дозы у кольчатых червей – вклад внешнего облучения от почвы, которое, по данным разных авторов, составляет 85–92 % от общей дозы облучения [34; 35].

Рассчитанная мощность поглощенной дозы от ^{137}Cs для дождевых червей, обитающих на опытных площадках на территории ППРЭЗ, составила от 8,42 до 23,67 мкГр/ч при нахождении особей на почве и от 9,67 до 27,25 мкГр/ч – при нахождении в почве на глубине 10 см. Для дождевых червей, собранных на площадках в Гомельском р-не (контроль), рассчитанная мощность поглощенной дозы от ^{137}Cs составила 0,19–0,23 мкГр/ч при нахождении особей на поверхности почвы и 0,21–0,27 мкГр/ч – при нахождении их в почве на глубине 10 см (см. табл. 1). Следует отметить, что особи исследованного вида большую часть времени жизни проводят в почве.

Вклад в мощность поглощенной дозы, накопленной представителями дождевых червей, обитающих на территории ППРЭЗ, будут вносить и такие радионуклиды, как ^{241}Am , ^{238}Pu и ^{239}Pu . Так, по расчетам, приведенным в [34], вклад этих изотопов в дозу внутреннего облучения у представителей семейства *Lumbricidae* может достигать до 40 % с учетом весового коэффициента для α -излучателей, в связи с чем при наших расчетах общая мощность поглощенной дозы может быть несколько занижена, однако с учетом значительного преобладания вклада внешнего облучения от почвы различия в оценке мощности поглощенной дозы не будут существенными.

При оценке поглощенной дозы у почвенной группы червей следует учитывать, что ассимиляция ^{137}Cs в их организм от поглощаемой почвы будет несколько ниже из-за его связывания глинистыми минералами почвы [36].

В настоящее время не существует однозначно утвержденных безопасных уровней радиационного воздействия для биоты. Основываясь на экспертном анализе литературных данных, С. В. Фесенко и соавт. [37] предложили для почвенных беспозвоночных, обитающих на территориях, прилегающих к Чернобыльской АЭС, безопасный уровень воздействия, который составляет 0,9 Гр/год (102,7 мкГр/ч). В рекомендациях МАГАТЭ и НКДАР ООН [38; 39] к дозам, которые приняты в качестве относительно безопасных для животных и растений, относятся 40 мкГр/ч и 400 мкГр/ч соответственно.

Более развернутые данные, включающие контрольные уровни для ограничения радиационного воздействия на референтные организмы, представлены в 108 Публикации МКРЗ [40]. Так, к числу наиболее радиочувствительных референтных организмов были отнесены следующие позвоночные: утка, олень, крыса и амфибии (лягушки), диапазон дозовых пределов для которых составил 4–40 мкГр/ч. К наиболее радиоустойчивым – беспозвоночные: пчела, дождевой червь и краб (400–4000 мкГр/ч).

В то же время величина безопасного порога облучения биоты, оцененная методом анализа «распределения чувствительности видов» и применяемая в базе ERICA, составляет 10 мкГр/ч [12].

Таким образом, рассчитанные значения мощности поглощенной дозы от ^{137}Cs для дождевых червей вида *L. terrestris*, обитающих в почве на исследуемых площадках в ППРЭЗ через 35 лет после аварии на ЧАЭС, практически во всех случаях превышают значение наиболее консервативного из существующих безопасного уровня радиационного воздействия на биоту – 10 мкГр/ч, но не достигают допустимого уровня радиационного воздействия в 10 мГр/сут, установленного для дождевых червей в 108 Публикации МКРЗ [40].

Несмотря на то, что у дождевых червей, населяющих территории, загрязненные радионуклидами после аварий на ЧАЭС и АЭС «Фукусима-1», в период острого радиационного воздействия регистрировались высокие значения удельной массовой активности радионуклидов [41; 42], взрослые дождевые черви являются одними из самых радиорезистентных многоклеточных животных: для них $\text{LD}_{50/30}$ составляет 650–680 Гр [43]. Однако у ювенильных стадий разных видов дождевых червей величина $\text{LD}_{50/30}$ сравнима с $\text{LD}_{50/30}$ для мышей [44].

Так, в первые месяцы после аварии на ЧАЭС в радиусе 2–7 км от площадки станции погибло до 90 % почвенной биоты, в том числе дождевых червей, большая часть из которых пришла на гибель яичных кладок [45], а численность молодых червей была в 4 раза ниже, чем на контрольных участках [46].

Сообщалось, что численность мезофауны восстановилась через 2,5 года, однако видовое разнообразие при этом даже через 10 лет после аварии на ЧАЭС составляло 80 % от контроля [47].

Поскольку наиболее радиочувствительными являются более ранние стадии развития дождевых червей, то значительная часть полученных данных касалась влияния ионизирующего излучения на процесс размножения, в частности было показано, что снижается репродуктивная способность, уменьшается размер популяции, происходят изменения в распределении стадий жизненного цикла [48; 49].

В нашем исследовании изучена частота свободных клеток целомической жидкости – целомоцитов с цитогенетическими нарушениями и нарушениями пролиферации у половозрелых особей дождевых червей, обитающих длительное время на участках с повышенным уровнем радиоактивного загрязнения (спонтанный уровень), и после воздействия рентгеновского излучения в дозе 4 Гр. Результаты исследования кариологических показателей целомоцитов приведены в табл. 3.

Таблица 3

Частота целомоцитов с цитогенетическими нарушениями и нарушениями пролиферации у дождевых червей *L. terrestris* из популяций, обитающих на исследуемых территориях

Table 3

Frequency of coelomocytes with cytogenetic and proliferation disorders in *L. terrestris* earthworms from populations living in the study areas

Участок, воздействие	Цитогенетический показатель	<i>p</i>	Показатель нарушения пролиферации	<i>p</i>
	частота клеток с микроядрами (‰)		частота клеток с двумя ядрами (‰)	
1. Гомельский р-н (контроль)	0,8 [0; 2]	–	0,8 [0; 2]	–
2. ПГРЭЗ	1,8 [1; 3]	<i>p</i> < 0,1 (1–2)	2,0 [1; 4]	<i>p</i> < 0,1 (1–2)
3. Гомельский р-н (контроль), облучение 4 Гр	1,6 [0; 4]	<i>p</i> < 0,1 (1–3)	3,0 [2; 4]*	<i>p</i> < 0,014 (1–3)
4. ПГРЭЗ, облучение 4 Гр	2,4 [0; 5]	<i>p</i> < 0,4 (2–4) <i>p</i> < 0,4 (3–4)	9,0 [7; 10]*	<i>p</i> < 0,005 (2–4) <i>p</i> < 0,005 (3–4)

Примечание. *Различия достоверны между указанными группами при *p* < 0,05.

Средняя частота целомоцитов с микроядрами у дождевых червей, собранных на участках в Гомельском р-не (контроль) составила 0,8 ‰, а у дождевых червей с участков, расположенных на территории ПГРЭЗ – 1,8 ‰, при этом не было выявлено достоверных различий между значениями в сравниваемых группах по U-критерию Манна – Уитни. Через 48 ч после облучения дождевых червей в дозе 4 Гр средняя частота целомоцитов с микроядрами увеличилась у особей обеих сравниваемых групп: так, у дождевых червей, собранных на участках в Гомельском р-не, она составила 1,6 ‰ и была в 2 раза выше по сравнению с соответствующим значением до облучения, а у дождевых червей с участков, расположенных на территории ПГРЭЗ, – 2,4 ‰. Превышение составило только 33 % по сравнению со значением в соответствующей группе до облучения, однако при этом не было выявлено достоверных различий по частоте встречаемости целомоцитов с микроядрами между сравниваемыми группами по U-критерию Манна – Уитни (см. табл. 3).

В норме среди свободных клеток целома дождевых червей присутствует небольшой процент двуядерных клеток: средняя частота встречаемости двуядерных целомоцитов у дождевых червей, собранных на участках в Гомельском р-не, составила 0,8 ‰ и 2,0 ‰ у дождевых червей, собранных на участках в ПГРЭЗ, при этом не было выявлено достоверных различий между значениями в сравниваемых группах по U-критерию Манна – Уитни.

Через 48 ч после воздействия рентгеновского облучения в дозе 4 Гр на дождевых червей количество двуядерных клеток в группе аннелид, собранных на участках в Гомельском р-не, составило в среднем 3,0 ‰, а у особей с участков, расположенных в ПГРЭЗ – 9,0 ‰. Таким образом, количество двуядерных клеток возросло в исследуемых группах в 3,75 и 4,5 раза соответственно по сравнению со значениями в группах без дополнительного облучения, при этом были выявлены достоверные различия по частоте встречаемости двуядерных целомоцитов между сравниваемыми группами по U-критерию Манна – Уитни (см. табл. 3).

Биологическое значение увеличения частоты двуядерных клеток в ответ на действие повреждающих веществ состоит в том, что они образуются в процессе увеличения клеточной пролиферации, направленной на образование новых клеток, замещающих поврежденные или погибшие. Таким способом осуществляется клеточная восстановительная регенерация. Следовательно, повышение частоты двуядерных клеток можно рассматривать как проявление адаптации, более выраженное у особей, собранных на участках в ПГРЭЗ [50].

При определении частоты повреждений ДНК, визуализированных в виде % ДНК_{хвост} было установлено, что средние значения спонтанных уровней повреждения ДНК у особей *L. terrestris*, собранных на участках в Гомельском р-не и в ПГРЭЗ, не отличались при заданном уровне значимости и составляли $12,04 \pm 1,32$ % и $14,36 \pm 2,52$ % соответственно (табл. 4).

Таблица 4

Показатели повреждения ДНК (% ДНК_{хвост}) в целомоцитах у дождевых червей *L. terrestris* из популяций, обитающих на исследуемых территориях

Table 4

Indicators of DNA damage (% DNA in tail) in coelomocytes in *L. terrestris* earthworms from populations living in the study areas

Участок	% ДНК _{хвост}			
	спонтанный уровень	облучение 4 Гр		
		время после воздействия, ч		
		0,1	1,0	24
Гомельский р-н (контроль)	$12,04 \pm 1,32$	$27,34 \pm 2,31^*$	$26,08 \pm 2,92^*$	$21,46 \pm 3,31^*$
ПГРЭЗ	$14,36 \pm 2,52$	$33,12 \pm 2,94^*$	$34,02 \pm 3,73^*$	$20,14 \pm 3,26$

Примечание. *Различия достоверны по сравнению с значением спонтанного уровня при $p < 0,05$.

Значение показателя % ДНК_{хвост} возросло после облучения в дозе 4 Гр у особей, обитающих на исследуемых участках, во все сроки наблюдения, однако статистически значимых различий между значениями в группах «Контроль» и «ПГРЭЗ» не наблюдалось. При этом следует отметить, что в результате репарации повреждений ДНК в группе «ПГРЭЗ» через 24 ч после воздействия острого облучения значение показателя % ДНК_{хвост} снизилось на 12,98 %, а в группе «Контроль» на 5,88 % по сравнению с соответствующим значением – через 0,1 ч. Через 24 ч после облучения в клетках дождевых червей, обитающих на участках в ПГРЭЗ, среднее значение % ДНК_{хвост} не различалось с заданным уровнем значимости с соответствующим значением спонтанного уровня, а в клетках животных, обитающих на участках в Гомельском р-не, было достоверно повышено по сравнению со значением спонтанного уровня (см. табл. 4).

О явлении радиоадаптации – увеличении радиоустойчивости особей, входящих в хронически облучаемые популяции, к дополнительному облучению в высоких дозах сообщается в ряде работ. Так, выявлена радиоадаптация в популяциях грызуна обыкновенной слепушонки (*Ellobius talpinus*), которые длительное время обитают в зоне Восточно-Уральского радиоактивного следа, о чем свидетельствуют выявляемые у них признаки гормезиса по показателям системы гемопозеза и наличие достоверного адаптивного ответа у зверьков из импактной выборки при отсутствии его у животных с контрольного участка [51].

Острое γ -облучение в дозе 4 Гр позволило выявить адаптивный ответ у особей дождевых червей вида *A. caliginosa* с участка, загрязненного тяжелыми естественными радионуклидами (Республика Коми), который проявлялся в виде повышенной скорости репарации ДНК после радиационного воздействия [52].

Заключение

При исследовании генетического гомеостаза в популяциях *L. terrestris*, длительное время обитающих на территориях ПГРЭЗ в условиях хронического воздействия радиоактивного загрязнения, установлено, что спонтанный уровень повреждения ДНК (% ДНК_{хвост}) у них соответствовал уровню повреждения ДНК особей, собранных на контрольных участках (Гомельский р-н).

Воздействие острого рентгеновского излучения в дозе 4 Гр привело через 48 ч к увеличению количества двуядерных клеток в популяциях целомоцитов, которое было существенно выше у дождевых червей, обитающих в почве участков с повышенным уровнем загрязнения, что может отражать их более высокий адаптационный потенциал.

Уровень повреждений ДНК у дождевых червей, обитающих в почвах территорий с повышенным радиационным фоном, через 24 ч после воздействия острого рентгеновского облучения в дозе 4 Гр снизился на 12,98 % по сравнению с соответствующим значением через 0,1 ч, и при уровне значимости $p < 0,05$ не отличался от значения спонтанного уровня повреждений ДНК, а у дождевых червей группы сравнения (Гомельский р-н) – только на 5,88 % по сравнению с соответствующим значением через 0,1 ч и значительно превышал спонтанный уровень повреждения ДНК в соответствующей группе, что свидетельствовало о подавлении процесса репарации после облучения в острой дозе.

Таким образом, адаптивный ответ у особей дождевых червей вида *L. terrestris*, длительное время обитающих в почвах территорий ПГРЭС, загрязненных радионуклидами после аварии на ЧАЭС, проявлялся в виде повышенной скорости репарации ДНК и увеличении клеточной пролиферации после острого рентгеновского облучения в дозе 4 Гр.

Библиографические ссылки

1. ICRP. A Framework for Assessing the Impact of Ionising Radiation on Non- Human Species. Publication 91. *Annals of the ICRP*. 2003;33(3):201–270.
2. Казаков СВ, Уткин СС. *Подходы и принципы радиационной защиты водных объектов*. Москва: Наука; 2008. с. 318.
3. ICRP. Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. Publication 103. *Annals of the ICRP*. 2007;37(2–4):1–332. DOI: 10.1016/j.icrp.2007.10.003.
4. Smith JT, Beresford NA. Chernobyl. Catastrophe and Consequences. Berlin – New York: Springer, Chichester; 2005. 310 p.
5. Гераськин СА, Фесенко СВ, Волкова ПЮ, и др. Что мы узнали о биологических эффектах облучения в ходе 35-летнего анализа последствий аварии на Чернобыльской АЭС? *Радиационная Биология. Радиоэкология*. 2021;3:234–260. DOI: 10.31857/S0869803121030061.
6. Møller AP, Mousseau T A. Reduced abundance of insects and spiders linked to radiation at Chernobyl 20 years after the accident. *Biology letters*. 2009;5(3):356–359. DOI:org/10.1098/rsbl.2008.0778.
7. Hiyama A, Nohara C, Kinjo S, et al. The biological impacts of the Fukushima nuclear accident on the pale grass blue butterfly. *Scientific Reports*. 2012(2):1–10.
8. Bonzom JM, Hättenschwiler S, Lecomte-Pradines C, et al. Effects of radionuclide contamination on leaf litter decomposition in the Chernobyl exclusion zone. *Science of the Total Environment*. 2016;15:596–603. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.04.006.
9. Deryabina TG, Kuchmel SV, Nagorskaya LL, et al. Long-term census data reveal abundant wildlife populations at Chernobyl. *Current Biology*. 2015;25:824–826. DOI: 10.1016/j.cub.2015.08.017.
10. Beresford N, Horemans N, Copplestone D, et al. Towards solving a scientific controversy – the effects of ionizing radiation on the environment. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2020;211:106033. DOI:org/10.1016/j.jenvrad.2019.106033.
11. Real A, Sundell-Bergman S, Knowles JF, et al. Effects of ionizing radiation on plants, fish and mammals: relevant data for environmental radiation protection. *Journal of Radiological Protection*. 2004;24(4A):123–137. DOI:10.1088/0952-4746/24/4a/008.
12. Garnier-Laplace J, Della-Vedova C, Andersson P, et al. A multi-criteria weight of evidence approach for deriving ecological benchmarks for radioactive substances. *Journal of Radiological Protection*. 2010;30(2):215–233. DOI 10.1088/0952-4746/30/2/S02.
13. Møller AP, Mousseau TA. Are organisms adapting to ionizing radiation at Chernobyl? *Trends in Ecology & Evolution*. 2016;31(4):281–289. DOI: 10.1016/j.tree.2016.01.005.
14. Larsson CM. An overview of the ERICA integrated approach to the assessment and management of environmental risks from ionizing contaminants. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2008;99(9):1364–1370. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2007.11.019.
15. ICRP. Environmental Protection: Transfer Parameters for Reference Animals and Plants. Publication 114. *Annals of the ICRP*. 2009;39(6):1–111. DOI: 10.1016/j.icrp.2011.08.009.
16. Кривошук ДА. *Почвенная фауна как биоиндикатор радиоактивных загрязнений. В: Почвенная фауна и почвенное плодородие*. Москва: [б. и.]; 1987. с. 241–244.
17. Gong P, Perkins EJ. Earthworm toxicogenomics: A renewed genome-wide quest for novel biomarkers and mechanistic insights. *Applied Soil Ecology*. 2016;104:12–24. DOI: 10.1016/j.apsoil.2015.11.005.
18. Lapuente J, Lourenço J, Mendo SA, et al. The Comet Assay and its applications in the field of ecotoxicology: a mature tool that continues to expand its perspectives. *Frontiers in Genetics*. 2015;6:1–20. DOI: 10.3389/fgene.2015.00180.
19. Šrut M. Environmental Epigenetics in Soil Ecosystems: Earthworms as Model Organisms. *Toxics*. 2022;10(7):1–11. DOI: 10.3390/toxics10070406.
20. Mazur-Pączka A, Pączka G, Garczynska M. Effectiveness of Lumbricidae extracting with an environmentally friendly method. *Journal of Ecological Engineering*. 2020;21(5):114–119. DOI:10.12911/22998993/122237.
21. Singh J, Singh S, Vig AP. Extraction of earthworm from soil by different sampling method: a review. *Environment Development and Sustainability*. 2015;18:1521–1539. DOI: 10.1007/s10668-015-9703-5.
22. Максимова СЛ, Гурина НВ. *Дождевые черви (Lumbricidae) фауны Беларуси*. Минск: Беларуская навука; 2014. 56 с.
23. *Защита окружающей среды: концепция и использование референтных животных и растений. Публикация МКРЗ 108*. Москва: Академ-Принт; 2013. 216 с.
24. Niita K, et al. Recent Developments of the PHITS code. *Progress in Nuclear Science and Technology*. 2011;1:1–6. DOI: 10.15669/pnst.1.368.
25. Taranenko V, Pröhl G, Gómez-Ros J. Absorbed dose rate conversion coefficients for reference terrestrial biota for external photon and internal exposures. *Journal of radiological protection*. 2004;24:A35–A62. DOI:10.1088/0952-4746/24/4A/003.
26. Ulanovsky A, Prohl G. Dosimetry for reference animals and plants: current state and prospects. *Annals of the ICRP*. 2012;41(3–4):218–232. DOI: 10.1016/j.icrp.2012.06.034.
27. Reinecke SA, Reinecke AJ. The comet assay as biomarker of heavy metal genotoxicity in earthworms. *Archives of Environmental Contamination Toxicology*. 2004;46(2):208–215. DOI: 10.1007/s00244-003-2253-0.
28. Eyambe SG, Goven AJ, Fitzpatrick LC, et al. A noninvasive technique for sequential collection of earthworm (*Lumbricus terrestris*) leukocytes during sub chronic immunotoxicity studies. *Laboratory Animals*. 1991;25(1):61–67. DOI: 10.1258/002367791780808095.
29. Tice RR, Agurell E, Anderson D, et al. Single cell gel / comet assay: guidelines for *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 2000;35(3):206–221. DOI: 10.1002/(sici)1098-2280(2000)35:3<206:aid-em8>3.0.co;2-j.
30. Сычева ЛП. Биологическое значение, критерии определения и пределы варьирования полного спектра кариологических показателей при оценке цитогенетического статуса человека. *Медицинская генетика*. 2007;6(11):3–11.
31. Edwards CA, Bohlen PJ. *Biology and Ecology of Earthworms*. London: Chapman and Hall; 1996. 426 p.
32. Максимова СЛ, Мухин ЮФ. Видовой состав дождевых червей и их биотопическое распределение на территории Беларуси. *Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук*. 2016;1:56–60.

33. Sayles RA. Investigation of earthworms from the Chernobyl NPP Exclusion Zone and Fukushima NPP 100 km Area: uptake of ¹³⁷Cs and comparison of ecological groups. [Place unknown]: Master's Thesis; 2019. 78 p.
34. Beresford NA, Scott EM, Copplestone D. Field effects studies in the Chernobyl Exclusion Zone: Lessons to be learnt. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2020;211:1–10. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2019.01.005.
35. Сазыкина ТГ, Крышев АИ, Крышев ИИ. *Моделирование радиоэкологических процессов в окружающей среде*. Москва: Маска; 2022. 638 с.
36. Hasegawa M, Ito MT, Kaneko S, et al. Radiocesium concentrations in epigeic earthworms at various distances from the Fukushima Nuclear Power Plant 6 months after the 2011 accident. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2013;126:8–13. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2013.06.006.
37. Fesenko SV, Alexakhin RM, Geras'kin SA, et al. Comparative radiation impact on biota and man in the area affected by the accident at the Chernobyl nuclear power plant. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2005;80(1):1–25. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2004.08.011.
38. IAEA Safety Standards. Safety Assessment for Facilities and Activities. General Safety Requirements. No. GSR Part 4, 93 UNSCEAR 1996. Vienna: International Atomic Energy Agency; 2009. 40 p.
39. Effects of radiation on the environment. In: United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, Report to the General Assembly. New York: [publisher unknown]; 1996. 82 p.
40. ICRP. Environmental protection: the concept and use of reference animals and plants. Publication 108. *Annals of the ICRP*. 2009;4–6:1–242.
41. Copplestone D, Johnson MS, Jones SR, et al. Radionuclide behaviour and transport in a coniferous woodland ecosystem: vegetation, invertebrates and wood mice, *Apodemus sylvaticus*. *Science of the Total Environment*. 1999;239:95–109. DOI: 10.1016/S0048-9697(99)00294-6.
42. Tanaka S, Takahashi T, Adati T, et al. Radioactive cesium contamination of arthropods and earthworms after the Fukushima Dai-ichi Nuclear Power Plant Accident. *Low-Dose Radiation Effects on Animals and Ecosystems*. 2022. p. 43–52. DOI.org/10.1007/978-981-13-8218-5_4.
43. Geras'kin SA, Fesenko SV, Alexakhin RM. Effects of non-human species irradiation after the Chernobyl NPP accident. *Environment International*. 2008;34:880–897. DOI: 10.1016/j.envint.2007.12.012.
44. Andersson P, Garnier-Laplace J, Beresford NA, et al. Protection of the environment from ionising radiation in a regulatory context (PROTECT): proposed numerical benchmark values. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2009;100:1100–1108. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2009.05.010.
45. Zaitsev AS, Nakamori T, Gongalsky K, et al. Ionising radiation effects on soil biota: Application of lessons learned from Chernobyl accident for radioecological monitoring. *Pedobiologia*. 2014;57(1):5–14. DOI: 10.1016/j.pedobi.2013.09.005.
46. Krivolutzkii DA, Pokarzhevskii AD. Effects of radioactive fallout on soil animal populations in the 30 km zone of the Chernobyl atomic power station. *Science of the Total Environment*. 1992;112(1):69–77. DOI: 10.1016/0048-9697(92)90239-0.
47. Криволуцкий ДА. Динамика биоразнообразия экосистем в условиях радиоактивного загрязнения. *Доклады Российской Академии наук*. 1996;4:567–569.
48. Sowmithra K, Harini BP, Shetty JN, et al. Effects of acute gamma radiation on the reproductive ability of the earthworm *Eisenia fetida*. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2015;140:11–15. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2014.10.010.
49. Hertel-Aas T, Oughton DH, Jaworska A, et al. Effects of chronic gamma irradiation on reproduction in the earthworm *Eisenia fetida* (Oligochaeta). *Radiation Research*. 2007;168(5):515–526. DOI: 10.1667/RR1012.1.
50. Калаев ВН, Нечаева МС, Калаева ЕА. *Микроядерный тест буккального эпителия ротовой полости человека*. Воронеж: ВГУ; 2016. 136 с.
51. Григоркина ЕБ. Экологическая специализация мелких млекопитающих: реакции на радиационное воздействие и роль в развитии радиоадаптации. *Вестник ИРГСХА*. 2017;83:25–30.
52. Канева (Рыбак) АВ, Белых ЕС, Майстренко ТА, и др. Уровень повреждений и скорость репарации ДНК в клетках дождевых червей из популяций, длительное время обитающих в почве с повышенным содержанием радионуклидов. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2015;1:24–34. DOI: 10.7868/S0869803115010051.

References

1. ICRP. A Framework for Assessing the Impact of Ionising Radiation on Non-Human Species. Publication 91. *Annals of the ICRP*. 2003;33(3):201–270.
2. Kazakov SV, Utkin SS. *Podkhody i printsipy radiatsionnoy zashchity vodnykh ob'yektov* [Approaches and principles of radiation protection of water objects]. Moscow: Nauka; 2008. p. 318. Russian.
3. ICRP. Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. Publication 103. *Annals of the ICRP*. 2007;37(2–4):1–332. DOI: 10.1016/j.icrp.2007.10.003.
4. Smith JT, Beresford NA. Chernobyl. Catastrophe and Consequences. Berlin – New York: Springer, Chichester; 2005. 310 p.
5. Geras'kin SA, Fesenko SV, Volkova Pyu, et al. *Chto my uznali o biologicheskikh effektakh oblucheniya v khode 35-letnego analiza posledstviy avarii na Chernobyl'skoy AES?* [What have we learned about the biological effects of radiation from a 35-year analysis of the consequences of the Chernobyl NPP accident?]. *Radiation Biology. Radioecology*. 2021(3):234–260. DOI: 10.31857/S0869803121030061. Russian.
6. Møller AP, Mousseau T A. Reduced abundance of insects and spiders linked to radiation at Chernobyl 20 years after the accident. *Biology letters*. 2009;5(3):356–359. DOI.org/10.1098/rsbl.2008.0778.
7. Hiyama A, Nohara C, Kinjo S, et al. The biological impacts of the Fukushima nuclear accident on the pale grass blue butterfly. *Scientific Reports*. 2012(2):1–10.
8. Bonzom JM, Hättenschwiler S, Lecomte-Pradines C, et al. Effects of radionuclide contamination on leaf litter decomposition in the Chernobyl exclusion zone. *Science of the Total Environment*. 2016;15:596–603. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.04.006.
9. Deryabina TG, Kuchmel SV, Nagorskaya LL, et al. Long-term census data reveal abundant wildlife populations at Chernobyl. *Current Biology*. 2015;25:824–826. DOI: 10.1016/j.cub.2015.08.017.
10. Beresford N, Horemans N, Copplestone D, et al. Towards solving a scientific controversy – the effects of ionizing radiation on the environment. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2020;211:106033. DOI.org/10.1016/j.jenvrad.2019.106033.

11. Real A, Sundell-Bergman S, Knowles JF, et al. Effects of ionizing radiation on plants, fish and mammals: relevant data for environmental radiation protection. *Journal of Radiological Protection*. 2004;24(4A):123–137. DOI:10.1088/0952-4746/24/4a/008.
12. Garnier-Laplace J, Della-Vedova C, Andersson P, et al. A multi-criteria weight of evidence approach for deriving ecological benchmarks for radioactive substances. *Journal of Radiological Protection*. 2010;30(2):215–233. DOI 10.1088/0952-4746/30/2/S02.
13. Möller AP, Mousseau TA. Are organisms adapting to ionizing radiation at Chernobyl? *Trends in Ecology & Evolution*. 2016;31(4):281–289. DOI: 10.1016/j.tree.2016.01.005.
14. Larsson CM. An overview of the ERICA integrated approach to the assessment and management of environmental risks from ionizing contaminants. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2008;99(9):1364–1370. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2007.11.019.
15. ICRP. Environmental Protection: Transfer Parameters for Reference Animals and Plants. Publication 114. *Annals of the ICRP*. 2009;39(6):1–111. DOI: 10.1016/j.icrp.2011.08.009.
16. Krivolutskiy DA. *Pochvennaya fauna kak bioindikator radioaktivnykh zagryazneniy. V: Pochvennaya fauna i pochvennoye plodorodiye* [Soil fauna as a bioindicator of radioactive contamination. In: Soil fauna and soil fertility]. Moscow: [publisher unknown]; 1987). p. 241–244. Russian.
17. Gong P, Perkins EJ. Earthworm toxicogenomics: A renewed genome-wide quest for novel biomarkers and mechanistic insights. *Applied Soil Ecology*. 2016;104):12–24. DOI: 10.1016/j.apsoil.2015.11.005.
18. Lapuente J, Lourenço J, Mendo SA, et al. The Comet Assay and its applications in the field of ecotoxicology: a mature tool that continues to expand its perspectives. *Frontiers in Genetics*. 2015;6:1–20. DOI: 10.3389/fgene.2015.00180.
19. Šrut M. Environmental Epigenetics in Soil Ecosystems: Earthworms as Model Organisms. *Toxics*. 2022;10(7):1–11. DOI: 10.3390/toxics10070406.
20. Mazur-Pączka A, Pączka G, Garczynska M. Effectiveness of Lumbricidae extracting with an environmentally friendly method. *Journal of Ecological Engineering*. 2020;21(5):114–119. DOI:10.12911/22998993/122237.
21. Singh J, Singh S, Vig AP. Extraction of earthworm from soil by different sampling method: a review. *Environment Development and Sustainability*. 2015;18:1521–1539. DOI: 10.1007/s10668-015-9703-5.
22. Maksimova SL, Gurina NV. *Dozhdevyye chervi (Lumbricidae) fauny Belarusi: spravochnik-opredelitel* [Earthworms (Lumbricidae) Fauna of Belarus: a reference book]. Minsk: Belaruskaja navuka; 2014. 56 p. Russian.
23. *Zashchita okruzhayushchey sredy: kontseptsiya i ispol'zovaniye referentnykh zhivotnykh I rasteniy. Publikatsiya MKRZ 108* [Environmental protection: concept and use of reference animals and plants. Publication MKRZ 108]. Moscow: Akadem-Print; 2013. 216 p. Russian.
24. Niita K, et al. Recent Developments of the PHITS code. *Progress in Nuclear Science and Technology*. 2011;1:1–6. DOI: 10.15669/pnst.1.368.
25. Taranenko V, Pröhl G, Gómez-Ros J. Absorbed dose rate conversion coefficients for reference terrestrial biota for external photon and internal exposures. *Journal of radiological protection*. 2004;24:A35–A62. DOI:10.1088/0952-4746/24/4A/003.
26. Ulanovsky A, Prohl G. Dosimetry for reference animals and plants: current state and prospects. *Annals of the ICRP*. 2012;41(3–4):218–232. DOI: 10.1016/j.icrp.2012.06.034.
27. Reinecke SA, Reinecke AJ. The comet assay as biomarker of heavy metal genotoxicity in earthworms. *Archives of Environmental Contamination Toxicology*. 2004;46(2):208–215. DOI: 10.1007/s00244-003-2253-0.
28. Eyambe SG, Goven AJ, Fitzpatrick LC, et al. A noninvasive technique for sequential collection of earthworm (*Lumbricus terrestris*) leukocytes during sub chronic immunotoxicity studies. *Laboratory Animals*. 1991;25(1):61–67. DOI: 10.1258/002367791780808095.
29. Tice RR, Agurell E, Anderson D, et al. Single cell gel / comet assay: guidelines for *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 2000;35(3):206–221. DOI: 10.1002/(sici)1098-2280(2000)35:3<206:aid-em8>3.0.co;2-j.
30. Sycheva LP. *Biologicheskoye znachenije, kriterii opredeleniya i predely var'irovaniya polnogo spektra kariologicheskikh pokazateley pri otsenke tsitogeneticheskogo statusa cheloveka* [Biological significance, criteria for determining and the limits of variation of the full spectrum of cariological indicators in the assessment of the cytogenetic status of a person]. *Medical genetics*. 2007;6(11):3–11. Russian.
31. Edwards CA, Bohlen PJ. *Biology and Ecology of Earthworms*. London: Chapman and Hall; 1996. 426 p.
32. Maksimova SL, Mukhin YuF. *Vidovoy sostav dozhdevykh chervej i ikh biotopicheskoye raspredeleniye na territorii Belarusi* [The species composition of the earthworms and their biotopic distribution in Belarus]. *Bulletin of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological sciences*. 2016(1):56–60. Russian.
33. Sayles RA. Investigation of earthworms from the Chernobyl NPP Exclusion Zone and Fukushima NPP 100 km Area: uptake of ¹³⁷Cs and comparison of ecological groups. [Place unknown]: Master's Thesis; 2019. 78 p.
34. Beresford NA, Scott EM, Copplestone D. Field effects studies in the Chernobyl Exclusion Zone: Lessons to be learnt. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2020;211:1–10. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2019.01.005.
35. Sazykina TG, Kryshev AI, Kryshev II. *Modelirovaniye radioekologicheskikh protsessov v okruzhayushchey srede* [Modeling of radioecological processes in the environment]. Moscow: LLC «MASKA»; 2022. 638 p. Russian.
36. Hasegawa M, Ito MT, Kaneko S, et al. Radiocesium concentrations in epigeic earthworms at various distances from the Fukushima Nuclear Power Plant 6 months after the 2011 accident. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2013;126:8–13. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2013.06.006.
37. Fesenko SV, Alexakhin RM, Geras'kin SA, et al. Comparative radiation impact on biota and man in the area affected by the accident at the Chernobyl nuclear power plant. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2005;80):1–25. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2004.08.011.
38. IAEA Safety Standards. Safety Assessment for Facilities and Activities. General Safety Requirements. No. GSR Part 4, 93 UNSCEAR 1996. Vienna: International Atomic Energy Agency; 2009. 40 p.
39. Effects of radiation on the environment. In: United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, Report to the General Assembly. New York: [publisher unknown]; 1996. 82 p.
40. ICRP. Environmental protection: the concept and use of reference animals and plants. Publication 108. *Annals of the ICRP*. 2009;4–6:1–242.
41. Copplestone D, Johnson MS, Jones SR, et al. Radionuclide behaviour and transport in a coniferous woodland ecosystem: vegetation, invertebrates and wood mice, *Apodemus sylvaticus*. *Science of the Total Environment*. 1999;239:95–109. DOI: 10.1016/S0048-9697(99)00294-6.

42. Tanaka S, Takahashi T, Adati T, et al. Radioactive cesium contamination of arthropods and earthworms after the Fukushima Dai-ichi Nuclear Power Plant Accident. *Low-Dose Radiation Effects on Animals and Ecosystems*. 2022. p. 43–52. DOI.org/10.1007/978-981-13-8218-5_4.
43. Geras'kin SA, Fesenko SV, Alexakhin RM. Effects of non-human species irradiation after the Chernobyl NPP accident. *Environment International*. 2008;34:880–897. DOI: 10.1016/j.envint.2007.12.012.
44. Andersson P, Garnier-Laplace J, Beresford NA, et al. Protection of the environment from ionising radiation in a regulatory context (PROTECT): proposed numerical benchmark values. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2009;100:1100–1108. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2009.05.010.
45. Zaitsev AS, Nakamori T, Gongalsky K, et al. Ionising radiation effects on soil biota: Application of lessons learned from Chernobyl accident for radioecological monitoring. *Pedobiologia*. 2014;57(1):5–14. DOI: 10.1016/j.pedobi.2013.09.005.
46. Krivolutzkii DA, Pokarzhevskii AD. Effects of radioactive fallout on soil animal populations in the 30 km zone of the Chernobyl atomic power station. *Science of the Total Environment*. 1992;112(1):69–77. DOI: 10.1016/0048-9697(92)90239-o.
47. Krivolutskiy DA. *Dinamika bioraznoobraziya ekosistem v usloviyakh radioaktivnogo zagryazneniya* [The dynamics of ecosystem biodiversity in conditions of radioactive pollution]. *Reports of the Russian Academy of Sciences*. 1996(4):567–569. Russian.
48. Sowmithra K, Harini BP, Shetty JN, et al. Effects of acute gamma radiation on the reproductive ability of the earthworm *Eisenia fetida*. *Journal of Environmental Radioactivity*. 2015;140:11–15. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2014.10.010.
49. Hertel-Aas T, Oughton DH, Jaworska A, et al. Effects of chronic gamma irradiation on reproduction in the earthworm *Eisenia fetida* (Oligochaeta). *Radiation Research*. 2007;168(5):515–526. DOI: 10.1667/RR1012.1.
50. Kalayev VN, Nechayeva MS, Kalayeva YeA. *Mikroyadernyy test bukkal'nogo epiteliya rotovoy polosti cheloveka: monografiya* [Micronucleus test of the buccal epithelium of the human oral cavity: Monograph]. Voronezh: Voronezh State University; 2016. 136 p. Russian.
51. Grigorkina YeB. *Ekologicheskaya spetsializatsiya melkikh mlekopitayushchikh: reaktsii na radiatsionnoye vozdeystviye i rol' v razvitiy radioadaptatsii* [Environmental specialization of small mammals: reactions to the radiation effect and role in the development of radioadaptation]. *Bulletin of the Irkutsk State Agricultural Academy*. 2017;83:25–30. Russian.
52. Kaneva (Rybak) AV, Belykh YeS, Maystrenko TA, et al. *Uroven' povrezhdeniy i skorost' reparatsii DNK v kletkakh dozhdevykh chervy iz populyatsiy, dlitel'noye vremya obitayushchikh v pochve s povyshennym sodержaniyem radionuklidov* [The level of damage and the rate of DNA reparation in the cells of earthworms from populations that live for a long time in the soil with a high content of radionuclide]. *Radiation biology. Radioecology*. 2015(1):24–34. DOI: 10.7868/S0869803115010051. Russian.

Статья поступила в редакцию 27.10.2023.
Received by editorial board 27.10.2023.