DOI: 10.21870/0131-3878-2018-27-4-95-118

УДК 582.475.4:539.1.04:574.24

Эффекты хронического облучения в популяциях растений на примере референтного организма «сосна обыкновенная». Обзор

Гераськин С.А., Волкова П.Ю., Удалова А.А.¹, Казакова Е.А., Васильев Д.В.,
Дикарева Н.С., Макаренко Е.С., Дуарте Г.Т.², Кузьменков А.Г.

ФГБНУ ВНИИРАЭ, Обнинск;

¹ ИАТЭ НИЯУ МИФИ, Обнинск;

² Институт Жан-Пьера Буржина, Версаль, Франция

В результате крупных радиационных аварий на Южном Урале и в Чернобыле значительные территории были загрязнены радиоактивными выпадениями. Установленный в исследованиях многих авторов повышенный уровень мутагенеза в населяющих радиоактивно загрязнённые территории популяциях растений и животных ставит вопрос о возможных последствиях для живой природы длительного облучения в малых дозах. Однако до настоящего времени отдалённые последствия хронического облучения для популяций растений и животных остаются предметом острых дискуссий в научном сообществе. В настоящей работе представлены основные результаты многолетних (2003-2016 гг.) наблюдений за популяциями сосны обыкновенной, населяющими контрастные по уровню и спектру радиоактивного загрязнения участки. Развивающиеся в условиях хронического облучения популяции характеризуются повышенными уровнями мутагенеза и полногеномного метилирования, изменениями экспрессии генов, генетической структуры популяции и временной динамики цитогенетических нарушений. Однако установленные изменения на генетическом уровне не отразились на активности ферментов в эндоспермах, частоте морфологических аномалий и репродуктивной способности сосны. Результаты нашего исследования свидетельствуют о высокой чувствительности популяций сосны обыкновенной к хроническому облучению. Значимые эффекты на генетическом уровне наблюдались на протяжении всего периода наблюдений и, видимо, будут наблюдаться ещё длительное время. Поскольку изменения эпигенетического статуса и генетической структуры популяций видов-эдификаторов, к которым относится сосна обыкновенная, играют важную роль в формировании ответной реакции экосистемы в целом на радиационное воздействие, эти процессы необходимо учитывать при разработке программ, направленных на сохранение биоразнообразия в условиях хронического радиационного воздействия.

Ключевые слова: авария на Чернобыльской АЭС, сосна обыкновенная, хроническое облучение, поглощённые дозы, мутации в изоферментных локусах, цитогенетические эффекты, генетическая структура популяции, метилирование генома, экспрессия генов, морфологические аномалии, репродуктивная способность.

Введение

В результате крупных радиационных аварий на Южном Урале (1957 г.) и в Чернобыле (1986 г.) значительные территории были загрязнены радиоактивными выпадениями. Высокие уровни радиоактивного загрязнения способны нарушать течение фундаментальных экологических процессов, оказывать существенное влияние на жизнь растений и животных, менять среду их обитания [1]. Если виды-эдификаторы являются чувствительными к радиационному воздействию, как большинство хвойных, их массовая гибель или угнетение развития оказывает существенный эффект на функционирование экосистемы в целом [2]. Действительно, массовая гибель хвойных деревьев на наиболее загрязнённых участках на Южном Урале и в Чернобыле представляет собой наиболее яркий пример радиационного поражения на экосистемном уровне.

Гераськин С.А.* – зав. лаб., д.б.н., проф.; Волкова П.Ю. – в.н.с., к.б.н.; Казакова Е.А. – н.с.; Васильев Д.В. – с.н.с., к.б.н.; Дикарева Н.С. – н.с., к.с.-х.н.; Макаренко Е.С. – н.с.; Кузьменков А.Г. – м.н.с. ФГБНУ ВНИИРАЭ. Удалова А.А. – д.б.н., проф. ИАТЭ НИЯУ МИФИ. Дуарте Г.Т. – исследователь-постдок. Институт Жан-Пьера Буржина.

*Контакты: 249032, Калужская обл., Обнинск, Киевское шоссе, 109-й км. Тел.: (484) 399-69-64; e-mail: stgeraskin@gmail.com.

не. Существенно большие площади характеризуются недостаточными для формирования летальных доз уровнями радиоактивного загрязнения [3]. Эти территории, являясь своеобразными полевыми лабораториями, предоставляют уникальную возможность изучения эффектов хронического радиационного воздействия. Генетические тест-системы особенно полезны для этих целей, поскольку они достаточно чувствительны и способны интегрировать в своём отклике воздействие всех биологически значимых агентов, предоставляя исследователю объективную информацию о состоянии окружающей среды [4]. Установленный в исследованиях многих авторов повышенный уровень мутагенеза в населяющих радиоактивно загрязнённые территории популяциях растений и животных [5-9] ставит вопрос о возможных последствиях для живой природы длительного облучения в малых дозах. Однако до настоящего времени отдалённые последствия хронического облучения в малых дозах для популяций растений и животных остаются предметом острых дискуссий в научном сообществе [8-17].

Информация об эффектах радиационного воздействия на растения гораздо более фрагментарна, чем наши знания о радиационных эффектах у животных и человека. Это обусловлено особенностями растений как объектов исследования [18, 19]. При этом имеющаяся информация касается в основном эффектов острого облучения в контролируемых условиях лабораторного эксперимента [19]. Информация об отдалённых последствиях хронического облучения для популяций растений крайне ограничена. Исправить сложившуюся ситуацию может организация длительных наблюдений за популяциями растений, населяющими загрязнённые радионуклидами территории. В настоящем обзоре обобщены результаты многолетних (2003-2016 гг.) наблюдений за популяциями сосны обыкновенной, населяющими контрастные по уровню и спектру радиоактивного загрязнения участки.

Материалы и методы

Популяции сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) являются удобным и чувствительным объектом для оценки последствий техногенного воздействия на природные экосистемы. В лесных сообществах сосна является видом-эдикатором, в значительной степени влияющим на структуру и функции экосистемы. Широкая распространённость и высокая радиочувствительность обусловили выбор сосны в качестве одного из референтных биологических видов, на которых базируется современная концепция радиационной защиты окружающей среды [20]. Долгий период созревания семян (2 года) и времени жизни хвои (3-5 лет в зависимости от экологических условий) ведёт к аккумуляции в этих органах нарушений с частотой, достаточной для определения эффектов низкодозового радиационного воздействия [21]. Наличие гаплоидного эндосперма и диплоидного эмбриона дают возможность прямого определения гаплотипа и рецессивных мутаций [22]. Такое сочетание свойств делает сосну уникальным тест-объектом для исследования биологических эффектов низких доз и концентраций техногенных поллютантов.

Наблюдения проводили в наиболее загрязнённых радионуклидами районах Брянской области (Всероссийский научно-исследовательский институт удобрений и агропочвоведения (ВИУА), Старые Бобовичи (СБ), Заборье поле (ЗП) и Заборье кладбище (ЗК)) и на территории Полесского государственного радиационно-экологического заповедника (ПГРЭЗ), Белоруссия (Кожушки (Кож), Масаны (Мас) и Кулажин (Кул)) (рис. 1). Два контрольных участка (К и К1) с фоновым уровнем радиоактивного загрязнения были выбраны на территории Брянской области. Выбор участков основывался на однородности экологических условий местообитания популя-

ций. Почвы всех экспериментальных участков дерново-подзолистые супесчаные, гранулометрический состав одинаков, содержание тяжёлых металлов не превышает допустимых значений [23]. В то же время радиоактивное загрязнение участков существенно отличалось (табл. 1).

Таблица 1
Радиоактивное загрязнение экспериментальных участков (данные 2016 г.)

Участок	Координаты	Годовая доза, мГр	Радионуклиды в шишках, Бк/кг		¹³⁷ Cs в почве	
			¹³⁷ Cs	⁹⁰ Sr	Глубина, см	Удельная активность, Бк/кг
К	N 53° 1' E 33° 55'	0.03	4,2 ± 2	1,12 ± 2,3	0-5 5-10 10-15	13,2 ± 2,6 16,2 ± 2,8 12,5 ± 1,9
К1	N 52° 46' E 32° 39'	0.23	12,6 ± 3,8 а	0,79 ± 1,3	0-5 5-10 10-15	156 ± 19,8 а 127 ± 12,2 а 49,6 ± 4,6 а
ВИУА	N 52° 29' E 31° 50'	10.0 (γ)	207 ± 26 ab	11,34 ± 2,4 ab	0-5 5-10 10-15	10800 ± 810 ab 778 ± 65 ab 417 ± 33 ab
СБ	N 52° 33' E 31° 44'	19.4 (γ)	302 ± 39 ab	35,91 ± 4,4 ab	0-5 5-10 10-15	13000 ± 1580 ab 12200 ± 1480 ab 653 ± 80 ab
ЗП	N 53° 5' E 31° 42'	33.1 (γ)	2170 ± 266 ab	43,22 ± 2,8 ab	0-5 5-10 10-15	35600 ± 2992 ab 4350 ± 405 ab 1120 ± 136 ab
ЗК	N 53° 5' E 31° 42'	38.6 (γ)	1420 ± 176 ab	48,69 ± 3,7 ab	0-5 5-10 10-15	46200 ± 3243 ab 4890 ± 340 ab 1460 ± 117 ab
Кож	N 51° 40' E 29° 47'	18.7 (γ β)	3200 ± 380 ab	6295 ± 53 ab	0-5 5-10 10-15	3142 ± 33 ab 865 ± 17 ab 296 ± 9 ab
Мас	N 51° 30' E 30° 01'	128.5 (γ β α)	14000 ± 1700 ab	4246 ± 40 ab	0-5 5-10 10-15	41700 ± 330 ab 3823 ± 71 ab 1358 ± 29 ab
Кул	N 51° 33' E 30° 10'	101.7 (γ β α)	5470 ± 666 ab	1050 ± 12,6 ab	0-5 5-10 10-15	66300 ± 820 ab 12900 ± 200 ab 2680 ± 33 ab

Для определения активности радионуклидов (^{137}Cs , ^{90}Sr) и тяжёлых металлов (Cd, Cu, Co, Cr, Mn, Ni, Pb, Zn) ежегодно с 2003 по 2016 гг. пробы почвы и шишек отбирали на всех экспериментальных участках. Для почв белорусских участков дополнительно учитывали загрязнение изотопами Pu и Am.

Информация об удельной активности радионуклидов в почве и шишках была использована для оценки с помощью дозиметрической модели [24] поглощённых критическими органами сосны доз (табл. 1). На белорусских участках Кул и Мас значительный вклад в поглощённую дозу вносили радионуклиды $^{238,239,240,241}\text{Pu}$ and ^{241}Am .

В ноябре-декабре 2003-2016 гг. на каждом участке собирали по 20-50 шишек с 20-29 деревьев возрастом 30-50 лет. Для морфометрического анализа на каждом участке с 15 деревьев собирали двухлетнюю хвою (по 20 пар хвоинок с каждого дерева в 2011 г. и по 40 пар – в 2013, 2014 и 2016 гг.). В 2015 г. хвоя была собрана с 15-20 деревьев каждого экспериментального участка для оценки концентраций антиоксидантов, уровня метилирования ДНК и AFLP-анализа. С каждого дерева по 5 хвоинок были взяты с каждой из сторон света. Сразу после сбора хвою помещали в жидкий азот и хранили там до анализа.

В мае 2016 г. был проведён отбор хвои с деревьев на участках К1, ЗК, Мас и Кул. На каждом участке хвою отбирали с 9 деревьев возрастом 15-22 года (т.е. не испытывавших острое облучение в первые дни чернобыльской аварии). Хвоя с трёх деревьев была объединена в биологическую репликацию (3 репликации на участке) и использована для выделения тотальной РНК для последующего транскриптомного анализа. Сразу после сбора хвою помещали в жидкий азот и хранили там до анализа.

Подробное описание методик, использованных для получения представленных в настоящем обзоре экспериментальных данных, можно найти в следующих работах: цитогенетический анализ и оценка репродуктивного потенциала [25]; морфометрические показатели хвои [26]; электрофоретический анализ изоферментов и оценка их активности [27, 28]; определение концентраций низкомолекулярных антиоксидантов и малонового диальдегида [28]; AFLP-анализ и оценка полногеномного метилирования [29]. Выделение РНК для транскриптомного анализа выполняли с использованием модифицированного протокола GeneJET RNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific). Секвенирование образцов проведено на платформе Illumina HiSeq 2500.

Результаты и обсуждение

Цитогенетические эффекты в хронически облучаемых популяциях сосны обыкновенной

В течение всего 14-летнего периода исследований (2003-2016 гг.) частота цитогенетических нарушений в популяциях сосны обыкновенной с загрязнённых радионуклидами участков Брянской области ВИУА (1,08-1,60%), СБ (0,99-1,45%), ЗП (1,35-1,70%) и ЗК (1,35-1,76%) статистически значимо превышала (рис. 2) контрольные уровни К (0,74-0,97%) и К1 (0,73-0,96%). В то же время частота аберрантных клеток в контрольных популяциях К и К1 статистически значимо не различалась ($p=0,75$). Также не выявлены какие-либо существенные отличия в экологических условиях изучаемых участков. Эти данные позволяют сделать вывод о том, что хроническое облучение является основной причиной повышенной частоты цитогенетических эффектов в исследуемых популяциях.

Рис. 2. Частота aberrantных клеток в корневой меристеме проростков семян сосны обыкновенной.

В популяциях сосны с наиболее загрязнённых участков Брянской области (ЗП и ЗК) частота хромосомных aberrаций (двойные фрагменты и мосты) и митотических аномалий (отставшие хромосомы и мультиполярные митозы) статистически значимо превышала контрольный уровень в течение всех лет наблюдений [25]. Поскольку такие цитогенетические нарушения типичны для облучённых организмов [30], эти данные являются ещё одним подтверждением радиационной природы наблюдаемых изменений.

Анализ данных за 14-летний период наблюдений показал отсутствие статистически значимого увеличения/уменьшения во времени частоты цитогенетических нарушений в контрольных популяциях К ($r=-0,03$; $p=0,93$) и К1 ($r=-0,18$; $p=0,58$). В то же время популяции, развивающиеся в условиях хронического облучения, характеризуются ясно выраженной тенденцией к снижению частоты цитогенетических аномалий во времени [31]. Обнаруженное снижение частоты цитогенетических нарушений, по-видимому, связано с радиоактивным распадом и перераспределением радионуклидов по компонентам экосистем. Дальнейший анализ этих данных показал [32], что в контрольных популяциях частота цитогенетических нарушений изменяется циклически (рис. 3). В противоположность этому, в хронически облучаемых популяциях циклическая (синусоидальная) модель не может описать временную динамику цитогенетических эффектов ($p>0,05$, рис. 4). Полученные результаты свидетельствуют о том, что хроническое радиационное воздействие способно нарушать присущие природным популяциям закономерности саморазвития.

Рис. 3. Частота aberrantных клеток (%) в корневой меристеме проростков семян сосны обыкновенной на контрольных участках (К и К1) в зависимости от года наблюдения: аппроксимация линейной (M1), полиномиальной (M4) и синусоидальной (M9) моделями.

Рис. 4. Частота aberrантных клеток (%) в корневой меристеме проростков семян сосны обыкновенной на импактных участках (ВИУА, СБ, ЗП и ЗК) в зависимости от года наблюдения: аппроксимация линейной (M1), полиномиальной (M4), коренной (M5) и логарифмической (M6) моделями.

Похожие результаты были получены при исследовании временной динамики цитогенетических эффектов в Ленинградской области (рис. 5), где экспериментальные популяции испытывают главным образом воздействие смеси загрязнителей химической природы [33]. Качественное совпадение результатов двух многолетних полевых исследований позволяет сделать вывод, что выявленные закономерности временной динамики не являются результатом случайных флуктуаций, а отражают важные особенности ответной реакции природных популяций на хроническое низкодозовое воздействие техногенных факторов.

Рис. 5. Частота цитогенетических нарушений (%) в клетках корневой меристемы проростков сосны обыкновенной из фоновой (популяция С) и испытывающих техногенное воздействие популяций А и В в зависимости от года наблюдения.

Интересно отметить, что экологическая ситуация в сравниваемых регионах существенно различается. В исследованных районах Брянской области после чернобыльской аварии радиоактивное загрязнение остаётся ведущим фактором, действующим на природные популяции,

несмотря на радиоактивный распад и перераспределение радионуклидов в компонентах экосистем. В противоположность этому, техногенное воздействие на популяции сосны в Ленинградской области увеличивалось во времени в связи с быстрым развитием разнообразных производств на этой территории. Качественное различие экологических условий и их изменения во времени нашли своё отражение в ответной реакции популяций сосны. Действительно, частота цитогенетических нарушений на техногенно загрязнённых участках Ленинградской области увеличивалась во времени (рис. 5), в то время как на загрязнённых радионуклидами участках Брянской области она снижалась (рис. 4).

Полученные результаты ставят вопрос о биологическом смысле обнаруженного в нашем исследовании феномена и механизмах, ответственных за его поддержание. Периодические изменения биологических параметров часто наблюдаются в природных популяциях и являются одним из способов поддержания динамического равновесия в живых системах. К числу наиболее известных примеров таких явлений относятся популяционные волны – значительные изменения количества особей в популяции, которые носят автоколебательный характер благодаря действующим в экосистеме обратным связям. Аналогичные закономерности могут проявляться на разных уровнях биологической организации, приводя к изменениям как фенотипических, так и генетических показателей. Например, частота инверсий в природных популяциях дрозофилы циклически изменялась во времени, отражая разную приспособленность генотипов к условиям среды [34]. В нормальных условиях генофонд популяции устойчиво сохраняется во времени, но способен кардинально перестраиваться в условиях резко меняющейся среды. В этой связи важно подчеркнуть, что анализируемые в настоящем исследовании цитогенетические эффекты – своеобразный маркер, отражающий лишь небольшую часть происходящих в природных популяциях сложных изменений в ответ на хроническое действие низких доз ионизирующего излучения.

Изменения генетической структуры и уровня полногеномного метилирования в хронически облучаемых популяциях сосны обыкновенной

Частота мутаций изоферментных локусов в эндоспермах семян из хронически облучаемых популяций сосны статистически значимо превышает контрольный уровень (рис. 6) и увеличивается вместе с поглощённой дозой ($r=0,99$; $p<0,001$) [27, 28]. Интересно, что если частота мутаций изоферментных локусов быстро растёт с дозой, то частота цитогенетических нарушений в хронически облучаемых популяциях, значимо превышая контрольный уровень, изменяется гораздо меньше (рис. 2). Это может быть связано со значительным вкладом в наблюдаемый цитогенетический эффект генетической нестабильности, индуцированной острым облучением в первый период после аварии [11].

Чернобыльская катастрофа кардинально изменила условия существования растений и животных на загрязнённой территории, предоставив тем самым уникальную возможность для изучения первых этапов генетической дифференциации природных популяций, населяющих контрастные по уровню радиоактивного загрязнения участки. Хорошо известно, что высокие уровни радиоактивного загрязнения способны быстро изменить генетическую структуру населяющих эти участки популяций [7, 35]. Однако данные нашего исследования свидетельствуют о том, что даже гораздо меньшие уровни радиационного воздействия (10-40 мГр/год) способны существенно повысить значения основных параметров генетического разнообразия (относительный вклад редких аллелей, эффективное число аллелей, генотипическое разнообразие) в

популяциях сосны обыкновенной [27, 28, 36]. Интересно отметить, что для ферментов метаболизма показатели генетического разнообразия выше, чем для антиоксидантных ферментов [36]. Это является отражением функциональной значимости метаболических ферментов для жизни растения. Значения наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности для контрольных популяций хорошо соответствуют ранее полученным для хвойных растений оценкам [37, 38]. Однако в хронически облучаемых популяциях ожидаемая и наблюдаемая гетерозиготности статистически значимо растут вместе с уровнем радиоактивного загрязнения [27].

Рис. 6. Частота мутаций в изоферментных локусах в эндоспермах семян сосны обыкновенной.

* различия значимы по сравнению с контрольной популяцией К, $p < 0,01$;

▲ различия значимы по сравнению с контрольной популяцией К1, $p < 0,01$.

Для выяснения силы отбора против редких электрофоретических вариантов полиморфизм супероксиддисмутазы был оценен одновременно в эндосперме и в эмбрионах. Анализ 3240 локус-тестов свидетельствует об отсутствии значимого снижения частоты редких электрофоретических вариантов в эмбрионах [27].

Генетическое разнообразие в популяциях растений, населяющих техногенно загрязнённые территории, определяется видовыми особенностями, природой экологического фактора и силой его воздействия. Так, изучение аллозимной структуры популяций одуванчика (*Taraxacum officinale* L.) с поймы реки Теча на Южном Урале выявило отсутствие существенной разницы в генетическом разнообразии контрольной и развивающихся в условиях хронического облучения популяций [39]. Хотя поглощённые растениями дозы в нашей работе и исследовании [39] сопоставимы, сосна гораздо чувствительнее к облучению, чем одуванчик [40], т.е. для увеличения внутривидового разнообразия в популяциях одуванчика необходимы гораздо большие дозы. Действительно, те же авторы показали, что в популяциях одуванчика с Восточно-Уральского радиоактивного следа, где уровень радиационного воздействия существенно выше, генетическая изменчивость значительно превышает контрольный уровень [41].

Анализ генетических расстояний между Брянскими популяциями [27, 36], оцененными по результатам изоферментного анализа, разделил их на две хорошо различающиеся группы: первая включает популяции, населяющие сильно загрязнённые участки (ЗП, ЗК), в то время как вторая объединяет контрольный и гораздо менее загрязнённые участки (К, К1, ВИУА, СБ). В целом, генетическая дифференциация популяций растений зависит от многих факторов [42]:

географического расположения, вида растения, типа и интенсивности антропогенного воздействия и др. Населяющие наиболее загрязнённые участки популяции ЗП и ЗК расположены близко друг к другу. Это означает, что объединение в один кластер может быть связано с их расположением и возможным обменом генами. В противоположность этому, обмен генетическим материалом между популяциями К, К1, ВИУА и СБ невозможен ввиду разделяющего их большого расстояния. Тем не менее, они объединены в один кластер. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что мощность дозы более 33 мГр/год может рассматриваться как экологический фактор, способный менять генетическую структуру популяций сосны обыкновенной.

Полученные с помощью изоферментных маркеров результаты были подтверждены в ходе анализа дифференциации популяций по AFLP-маркерам. В рамках этого исследования генетическую дифференциацию оценивали совместно для брянских и для белгородских популяций. На полученной в результате анализа дендрограмме видно (рис. 7), что популяции разделились на две подгруппы. Ведущую роль в дифференциации популяций играет географическое положение. Однако в пределах этих подгрупп популяции разделились в соответствии с уровнем радиационного воздействия [29]. Аналогично, в работе [43] с использованием AFLP-маркеров представлены убедительные доказательства, что радиационное воздействие изменило генетическую структуру популяций сосны обыкновенной из 30-км зоны ЧАЭС.

Рис. 7. Генетическая дифференциация популяций по результатам AFLP-анализа (генетические расстояния Нея).

Типичный для населяющих радиоактивные территории растений высокий уровень мутагенеза может вести к ускорению микроэволюционных процессов в популяциях [7, 44]. Однако эпигенетические изменения являются более правдоподобным объяснением быстрых адаптивных перестроек в популяциях [45]. Для долгоживущих организмов эпигенетическая регуляция экспрессии генов особенно важна. Сосна, в частности, благодаря такой регуляции характеризуется высокой способностью адаптироваться к изменяющимся условиям окружающей среды и демонстрирует широкий спектр фенотипов в зависимости от условий произрастания. Метилирование ДНК является одним из наиболее исследованных эпигенетических механизмов и может рассматриваться как элемент защитной стратегии растений, направленной на предотвращение дестабилизации генома в условиях радиоактивного загрязнения. Действительно, облучённые в первый период чернобыльской аварии высокими дозами (до 60 Гр) сосны из 30-км зоны ЧАЭС, имели гиперметилированный геном, причём уровень метилирования зависел от

радиационного воздействия [46]. Хвоя сосен из исследованных нами популяций, длительное время развивавшихся в условиях хронического облучения, так же характеризовалась повышенным уровнем полногеномного метилирования (на 0,6-3% больше по сравнению с контролем) [29]. Однако, в противоположность представленным в [46] данным, мы не обнаружили корреляции ($r=-0,13$; $p=0,76$) уровня полногеномного метилирования с радиоактивным загрязнением экспериментальных участков. Установленные в нашем исследовании [29] закономерности метилирования генома сосен из хронически облучаемых популяций могут быть связаны с ролью мобильных генетических элементов (МГЭ) в процессах адаптации и эволюции генома хвойных растений. Растения, как правило, имеют высокий уровень метилирования, главным образом в тех участках генома, где сконцентрированы повторы и МГЭ [48]. Показано, что метилирование МГЭ является важным способом контроля их активности [49].

Экспрессия генов, активность ферментов и концентрации антиоксидантов в хронически облучаемых популяциях сосны обыкновенной

Анализ транскриптома тканей сосны представляет собой сложную проблему в связи с огромным размером генома хвойных растений. Однако анализ дифференциальной экспрессии генов между контрольными и хронически облучаемыми популяциями способен предоставить ценную информацию о механизмах ответной реакции сосны на внешние воздействия. Мы предприняли анализ транскриптома хвои молодых (появившихся после 1986 г. и не испытывавших острого облучения в первый период аварии) сосен с наших экспериментальных участков. Предварительные результаты анализа транскриптома свидетельствуют о том, что гены, связанные с регуляцией ионного гомеостаза и редокс-гомеостаза клетки, играют важную роль в адаптации популяций сосны к хроническому радиационному воздействию [49]. Кроме этого, были выявлены различия в контроле активности МГЭ. При этом мы не обнаружили [49] каких-либо серьезных изменений экспрессии генов, вовлеченных в репарацию ДНК. Этот неожиданный результат свидетельствует о том, что индуцированная хроническим облучением транспозиция МГЭ представляет существенную опасность для целостности генома растений в условиях хронического облучения. Однако, принимая во внимание дифференциальную экспрессию генов, кодирующих гистоны и установленный нами повышенный уровень метилирования генома [29], а также тот факт, что геном сосны на 70-75% состоит из МГЭ [50], можно предположить, что эпигенетические механизмы играют важную роль в контроле активации МГЭ ионизирующим излучением. Интересно, что в работе [51] было обнаружено, что острое облучение растений резуховидки *Таля* ведёт к увеличению экспрессии вовлеченных в репарацию ДНК генов, в то время как в условиях хронического облучения экспрессия этих генов не менялась.

Антиоксидантная система растений в обычных условиях поддерживает концентрации активных форм кислорода в клетке на низком уровне. Однако ионизирующее излучение способно индуцировать окислительный стресс. В борьбе с окислительным стрессом важная роль принадлежит антиоксидантным ферментам [52]. В нашей работе были исследованы как ферменты антиоксидантной системы, так и ферменты основных метаболических путей. Статистически значимые изменения активности в эндосперме семян из исследуемых популяций были обнаружены только для двух ферментов. При этом активность пероксидазы снижалась с мощностью дозы ($r=0,89$; $p<0,01$), а активность глутатион-6-фосфатдегидрогеназы возрастала ($r=0,88$; $p<0,01$) [28]. Активность остальных исследованных ферментов (супероксиддисмутазы, катала-

зы, малатдегидрогеназы и лейцинаминопептидазы) не зависела от дозы ($r=0,03-0,67$; $p>0,05$). По-видимому, фиксируемые на экспериментальных участках мощности доз хронического облучения недостаточны, чтобы индуцировать существенные изменения в таких физиологически малоактивных тканях как эндосперм. При больших уровнях хронического облучения (69-564 мГр за вегетационный период) в проростках подорожника с территории Восточно-уральского радиоактивного следа были обнаружены статистически значимые изменения активности основных антиоксидантных ферментов и повышенные концентрации маркера окислительного стресса малонового альдегида (МДА) [53].

Концентрации водорастворимых низкомолекулярных антиоксидантов (восстановленного и окисленного глутатиона и аскорбиновой кислоты) в хвое сосны также не демонстрируют зависимости от мощности дозы хронического облучения [28]. Однако на наиболее загрязнённых участках Полесского заповедника (Кул и Мас) концентрации восстановленного глутатиона и МДА существенно повышены.

Радиационно-индуцированные морфологические изменения, флуктуирующая асимметрия и некротические повреждения хвои

Поскольку симметричные организмы в целом демонстрируют большую приспособленность, увеличение значений индексов флуктуирующей асимметрии может рассматриваться как индикатор внешнего воздействия [54]. Предыдущие исследования свидетельствуют об увеличении флуктуирующей асимметрии у населяющих чернобыльскую зону организмов [55, 56]. Следовательно, повышенный уровень флуктуирующей асимметрии может рассматриваться как показатель радиационно-индуцированного стресса.

Длина и масса хвои из хронически облучаемых популяций отличались от контрольных значений, но корреляция с уровнями радиоактивного загрязнения отсутствовала [57]. В 2011 и 2013 гг. индекс флуктуирующей асимметрии длины хвои демонстрировал тенденцию к росту с уровнем радиоактивного загрязнения и превышал контрольный уровень на наиболее загрязнённых участках (ЗП и ЗК). Однако в 2014 и 2016 гг. статистически значимой связи этого показателя с уровнем радиоактивного загрязнения обнаружено не было [57]. В недавнем исследовании также не было обнаружено [58] связи между флуктуирующей асимметрией у населяющих чернобыльскую зону сосны и берёзы с радиационным воздействием в широком диапазоне мощностей доз (0,1-274 мГр/ч). Аналогично, отсутствие влияния облучения на стабильность развития рачков *Asellus aquaticus* из чернобыльской зоны показано в [12]. В целом, мы не обнаружили в нашем исследовании устойчиво воспроизводимого влияния длительного хронического облучения на морфологические показатели сосны.

Формирование некрозов хвои свидетельствует о существенных нарушениях физиологического состояния растений. В нашем исследовании не было установлено связи между частотой некротических образований и радиационным воздействием [26]. Вероятно, изученный нами диапазон мощностей доз (10-40 мГр/год) недостаточен для формирования устойчивых некротических образований хвои. Однако необходимо отметить, что на наиболее загрязнённом участке Брянской области (ЗК) в течение всех лет наблюдений доля здоровой хвои была статистически значимо ниже, а доля хвоинок с серьёзными некротическими изменениями значимо выше, чем в контроле [26].

Оценка репродуктивного потенциала хронически облучаемых популяций сосны обыкновенной и его временная динамика

Частота цитогенетических нарушений длительное время использовалась в качестве меры радиационного поражения ввиду значимой корреляции с морфологическими изменениями, генными мутациями и репродуктивным потенциалом [4]. Поэтому Международная комиссия по радиологической защите рекомендовала цитогенетические тест-системы как показатель радиационного воздействия на биоту [20]. Однако существует весьма ограниченное число полевых исследований, в которых изучалась связь между частотой цитогенетических нарушений и показателями, которые существенно влияют на жизнеспособность популяции – смертность и репродуктивный потенциал. В результате до настоящего времени отсутствует ясное понимание влияния повышенной частоты генетических и цитогенетических нарушений в соматических и половых клетках на репродуктивную способность и в целом на судьбу популяции.

Качество семян является экологически важным показателем вследствие прямого влияния на будущие поколения. В первый год после чернобыльской аварии существенное снижение репродуктивного потенциала (уменьшение массы семян и их числа в шишке, увеличение доли abortивных семян) наблюдалось у сосен, получивших дозы более 1 Гр [59, 60]. На Восточно-Уральском радиоактивном следе также было зафиксировано влияние хронического облучения на репродуктивные показатели сосны [61]. Увеличение доли пустых семян и снижение выживаемости проростков в популяциях сосны на территориях с повышенным уровнем естественной радиоактивности зафиксировано, начиная с мощности дозы 11,3 мкГр/ч [62]. Во всех этих случаях снижение репродуктивного потенциала наблюдалось на фоне повышенной частоты цитогенетических нарушений. Основываясь на этих наблюдениях, мы предположили, что популяции сосны обыкновенной, более 30 лет развивающиеся в условиях хронического облучения, будут характеризоваться пониженной репродуктивной способностью.

Однако анализ десятилетних наблюдений (2007-2016 гг.) свидетельствует об отсутствии корреляции между долей abortивных семян и уровнем радиационного воздействия. Более того, доля abortивных семян в облучаемых популяциях в зависимости от года была как выше, так и ниже контрольного уровня [63]. Прорастание семян характеризуется ещё большей вариабельностью [63], однако изменение этого показателя также не связано с уровнем радиационного воздействия. Таким образом, уровень радиационного воздействия на наших экспериментальных участках недостаточен для формирования устойчивых репродуктивных эффектов.

Поскольку связь радиационного воздействия с долей abortивных семян и интенсивностью прорастания отсутствует, а загрязнение экспериментальных участков тяжёлыми металлами не превышает допустимых уровней [23], логично предположить, что наблюдаемая изменчивость анализируемых показателей определяется другими факторами, например, погодными условиями. Действительно, для некоторых экспериментальных участков обнаружена статистически значимая корреляция репродуктивных показателей с количеством осадков и эффективной температурой [63].

В противоположность цитогенетическим эффектам не было обнаружено существенной разницы в значениях репродуктивных показателей между контрольными и хронически облучаемыми популяциями. Более того, анализ данных десятилетних (2007-2016 гг.) наблюдений выявил отсутствие статистически значимого увеличения/уменьшения этого параметра во времени в контрольных и хронически облучаемых популяциях (рис. 8).

Рис. 8. Временная динамика доли абортивных семян, собранных в контрольных (К, К1) и хронически облучаемых (ВИУА, СБ, ЗП, ЗК) популяциях сосны. Аппроксимация данных линейной (М1), полиномиальной (М4) и линейно-синусоидальной (М10) моделями.

Анализ данных многолетних (2007-2016 гг.) наблюдений показал, что в большинстве случаев наилучшее описание изменений доли абортивных семян во времени достигается с помощью полиномиальных или синусоидальных моделей [32]. Важно подчеркнуть отсутствие существенной разницы во временной динамике репродуктивных показателей между контрольными и хронически облучаемыми популяциями (рис. 8). Следовательно, в отличие от цитогенетических эффектов, мы не обнаружили существенного влияния хронического облучения на временную динамику репродуктивных показателей сосны в пределах исследованного диапазона годовых доз 10-40 мГр. С другой стороны, в наших исследованиях было показано, что качество семян в хронически облучаемых популяциях в значительной степени определяется погодными условиями [63]. Следовательно, регистрируемый в изучаемых популяциях в течение многих лет повышенный уровень мутагенеза не сказывается на репродуктивной способности сосен. Аналогично, отсутствие связи репродуктивных показателей рачков *Asellus aquaticus* из чернобыльской зоны с уровнем радиационного воздействия продемонстрировано в работе [13].

Возможное объяснение обнаруженного в нашем многолетнем исследовании отсутствия существенных изменений репродуктивной способности может быть связано с типичным для популяций растений высоким уровнем избыточности. Растения обычно производят огромное количество семян, качество которых в значительной степени определяется условиями, в которых они формировались [63, 64]. В такой ситуации хроническое облучение с низкой мощностью дозы не способно существенно повлиять на репродуктивные способности сосны, в то время как характерные для первого периода чернобыльской и кыштымской аварий высокие дозы значительно снижали репродуктивный потенциал популяций.

Заключение

Комплексные исследования эффектов хронического радиационного воздействия в естественной среде обитания растений предпринимаются крайне редко в силу сложности постановки такого рода экспериментов и интерпретации полученных результатов. Тем не менее, именно такие исследования создают реальную основу для прогноза отдалённых последствий хронического облучения. В настоящем обзоре представлены основные результаты многолетних (2003-2016 гг.) наблюдений за популяциями сосны обыкновенной, населяющими контрастные по уровню и спектру радиоактивного загрязнения участки.

Последствия хронического облучения могут проявляться на разных уровнях биологической организации – от повреждений ДНК, снижения репродуктивного потенциала и выживаемости организмов до разрушения экосистем [1]. Хотя все эти изменения взаимосвязаны, в настоящее время принято считать [65], что предотвращение серьёзных нарушений на популяционном уровне имеет наивысший приоритет. Наши многолетние наблюдения за популяциями сосны, развивающимися в условиях хронического облучения, убедительно показали, что оценки частоты цитогенетических нарушений и мутаций изоферментных локусов способны предоставить информацию о возможной опасности задолго до того, как существенные изменения произойдут на других уровнях биологической организации. Действительно, из наших наблюдений следует, что серьёзные эффекты на молекулярном уровне сопровождаются неустойчивыми физиологическими эффектами и отсутствием эффектов на организменном и популяционном уровнях.

В первые 10-20 дней после чернобыльской аварии изучаемые популяции (за исключением контрольных и использованных для транскриптомного анализа) подверглись острому облучению в дозах, достаточных для индукции серьёзных биологических эффектов [60, 66]. Известно, что память об остром радиационном воздействии многие годы спустя может влиять на ответную реакцию растений [67]. Это одна из причин, почему эффекты хронического радиационного воздействия на биоту в отдалённый период после аварии остаются предметом острых научных дискуссий [1, 65]. Следовательно, наблюдавшиеся в нашем исследовании биологические эффекты могут иметь две причины: острое облучение в первый период аварии или многолетнее хроническое облучение. Мы полагаем, что, по крайней мере, некоторые наблюдавшиеся в нашем исследовании эффекты (повышенная частота мутаций в изоферментных локусах, высокий уровень оксидативного стресса на наиболее загрязнённых участках, дифференциальная экспрессия генов) обусловлены хроническим облучением. Однако некоторые другие эффекты (повышенный, но слабо изменяющийся между загрязнёнными участками уровень цитогенетических нарушений и не зависящий от мощности дозы уровень метилирования генома) трудно объяснить только действием хронического облучения. Если острое облучение в первый период ведёт к наблюдаемым эффектам спустя 30 лет после аварии, принятые в настоящее время принципы защиты биоты от действия ионизирующей радиации должны быть пересмотрены так, чтобы дозы, полученные в первые дни аварии, учитывались при оценке риска последующего хронического облучения [11]. Полученные в этом направлении результаты будут важны не только с точки зрения радиоэкологии, но и для нашего понимания фундаментальных экологических процессов.

Результаты нашего исследования свидетельствуют о высокой чувствительности популяций сосны обыкновенной к внешним воздействиям. Значимые эффекты на генетическом уровне

наблюдались на протяжении всего периода наблюдений (2003-2016 гг.) и, видимо, будут наблюдаться ещё длительное время. Поскольку изменения эпигенетического статуса и генетической структуры популяций видов-эдификаторов, к которым относится сосна обыкновенная, играют важную роль в формировании ответной реакции экосистемы в целом на радиационное воздействие, эти процессы необходимо учитывать при разработке программ, направленных на сохранение биоразнообразия в условиях хронического радиационного воздействия. Тщательный анализ экологических эффектов радиационного воздействия увеличит нашу способность предвидеть, каким образом популяции и экосистемы реагируют на радиационное воздействие. Полученные в нашем исследовании новые знания об отдалённых последствиях радиационного воздействия на популяции сосны обыкновенной могут быть использованы для оценки экологического риска и разработки мероприятий, направленных на предотвращение дальнейшей деградации лесных экосистем.

Литература

1. **Geras'kin S.A.** Ecological effects of exposure to enhanced levels of ionizing radiation //J. Environ. Radioactiv. 2016. V. 162-163, P. 347-357.
2. **Ellison A.M., Bank M.S., Clinton B.D., Colburn E.A., Elliott K., Ford C.R., Foster D.R., Kloeppel B.D., Knoepp J.D., Lovett G.M., Mohan J., Orwig D.A., Rodenhouse N.L., Sobczak W.V., Stinson K.A., Stone J.K., Swan C.M., Thompson J., Holle B.V., Webster J.R.** Loss of foundation species: consequences for the structure and dynamics of forested ecosystems //Front. Ecol. Environment. 2005. V. 3. P. 479-486.
3. Атлас современных и прогнозных аспектов последствий аварии на Чернобыльской АЭС на пострадавших территориях России и Беларуси (АСПА Россия-Беларусь). М.-Минск: Инфосфера-НИА-Природа, 2009. 140 с.
4. **Geras'kin S.A., Evseeva T.I., Oudalova A.A.** Plants as a tool for the environmental health assessment. Encyclopedia of Environmental Health. Burlington: Elsevier, 2011. V. 4. P. 571-579.
5. **Глазко Т.Т., Архипов Н.П., Глазко В.И.** Популяционно-генетические последствия экологических катастроф на примере чернобыльской аварии. М.: МСХА им. К.А. Тимирязева, 2008. 556 с.
6. **Позолотина В.Н., Молчанова И.В., Караваева Е.Н., Михайловская Л.Н., Антонова Е.В.** Современное состояние наземных экосистем Восточно-Уральского радиоактивного следа: уровни загрязнения, биологические эффекты. Екатеринбург: «Голицынский», 2008. 204 с.
7. **Шевченко В.А., Печкуренков В.Л., Абрамов В.И.** Радиационная генетика природных популяций. М.: Наука, 1992. 221 с.
8. **Moller A.P., Mousseau T.A.** Strong effects of ionizing radiation from Chernobyl on mutation rates //Scientific Reports. 2014. V. 5, 8363.
9. **Бубряк И., Акимкина Т., Полищук В., Дмитриев А., Маккреди К., Гродзинский Д.** Долгосрочные последствия Чернобыльских радионуклидных загрязнений на репарацию ДНК и устойчивость растений к биотическим и абиотическим стрессовым факторам //Цитология и генетика. 2016. Т. 50, № 6. С. 34-59.
10. **Geras'kin S.A., Evseeva T.I., Oudalova A.A.** Effects of long-term chronic exposure to radionuclides in plant populations //J. Environ. Radioactiv. 2013. V. 121. P. 22-32.
11. **Omar-Nazir L., Shi X., Moller A., Mousseau T., Byun S., Hancock S., Seymour C., Mothersill C.** Long-term effects of ionizing radiation after the Chernobyl accident: possible contribution of historic dose //Environ. Res. 2018. V. 165. P. 55-62.
12. **Fuller N., Smith J.T., Nagorskaya L.L., Gudkov D.I., Ford A.T.** Does Chernobyl-derived radiation impact the developmental stability of *Asellus aquaticus* 30 years on? //Sci. Tot. Environ. 2017. V. 576. P. 242-250.
13. **Fuller N., Ford A.T., Nagorskaya L.L., Gudkov D.I., Smith J.T.** Reproduction in the freshwater crustacean *Asellus aquaticus* along a gradient of radionuclide contamination at Chernobyl //Sci. Tot. Environ. 2018. V. 628-629. P. 11-17.
14. **Deryabina T., Kuchmel S., Nagorskaya L., Hinton T., Beasley J., Lerebours A., Smith J.** Long-term census data reveal abundant wildlife populations at Chernobyl //Cur. Biol. 2015. V. 25. P. R824-R826.
15. **Møller A.P., Mousseau T.A.** Assessing effects of radiation on abundance of mammals and predator-prey interactions in Chernobyl using tracks in the snow //Ecol. Indic. 2013. V. 26. P. 112-116.
16. **Webster S.C., Byrne M.E., Lance S.L., Love C.N., Hinton T.G., Shamovich D., Beasley J.C.** Where the wild things are: influence of radiation on the distribution of four mammalian species within the Chernobyl exclusion zone //Front. Ecol. Environ. 2016. V. 14. P. 185-190.
17. **Lerebours A., Gudkov D., Nagorskaya L., Kaglyan A., Rizewski V., Leshchenko A., Bailey E.H., Bakir A., Ovsyanikova S., Laptev G., Smith J.T.** Impact of environmental radiation on the health and reproductive status of fish from Chernobyl //Environ. Sci. Technol. 2018. V. 52. P. 9442-9450.

18. **Caplin N., Willey N.** Ionizing radiation, higher plants, and radioprotection: from acute high doses to chronic low doses //Front. Plant Sci. 2018. V. 9. P. 847.
19. **Гродзинский Д.М.** Радиобиология растений. Киев: Наукова Думка, 1989. 384 с.
20. ICRP Publication 108. Environmental protection: the concept and use of reference animals and plants //Ann. ICRP. 2009. V. 38. P. 1-242.
21. **Козубов Г.М., Таскаев А.И.** Радиобиологические и радиоэкологические исследования древесных растений. С.-Пб.: Наука, 1994. 256 с.
22. **Verta J-P., Landry C.R., Mackay J.J.** Are long-lived trees poised for evolutionary change? Single locus effects in the evolution of gene expression networks in spruce //Mol. Ecol. 2013. V. 22. P. 2369-2379.
23. **Geras'kin S., Oudalova A., Dikareva N., Spiridonov S., Hinton T., Chernonog E., Garnier-Laplace J.** Effects of radioactive contamination on Scots pines in the remote period after the Chernobyl accident //Ecotoxicol. 2011. V. 20. P. 1195-1208.
24. **Спиридонов С.И., Фесенко С.В., Гераськин С.А., Соломатин В.М., Карпенко Е.И.** Оценка доз облучения древесных растений в отдалённый период после аварии на Чернобыльской АЭС //Радиационная биология. Радиоэкология. 2008. Т. 48, № 4. С. 432-438.
25. **Гераськин С.А., Дикарева Н.С., Удалова А.А., Васильев Д.В., Волкова П.Ю.** Последствия хронического облучения сосны обыкновенной в отдалённый период после аварии на Чернобыльской АЭС //Экология. 2016. № 1. С. 30-43.
26. **Макаренко Е.С., Удалова А.А., Гераськин С.А.** Морфометрические показатели хвои сосны обыкновенной в условиях хронического радиационного воздействия //Лесоведение. 2016. № 5. С. 355-364.
27. **Geras'kin S., Volkova P.** Genetic diversity in Scots pine populations along a radiation exposure gradient //Sci. Tot. Environ. 2014. V. 496. P. 317-327.
28. **Volkova P.Yu., Geras'kin S.A., Kazakova E.A.** Radiation exposure in the remote period after the Chernobyl accident caused oxidative stress and genetic effects in Scots pine populations //Scientific Reports. 2017. V. 7. 43009.
29. **Volkova P.Yu., Geras'kin S.A., Horemans N., Makarenko E.S., Saenen E., Nauts R., Bondarenko V.S., Duarte G.T., Jacobs G., Voorspoels S., Kudin M.** Chronic radiation exposure as an ecological factor: hypermethylation and genetic differentiation in irradiated Scots pine populations //Environ. Pollution. 2018. V. 232. P. 105-112.
30. **Streffer C., Bolt H., Follesdal D., Hall P., Hengstler J.G., Jakob P., Oughton D., Prieb K., Rehbinder E., Swaton E.** Low dose exposures in the environment. Dose-effect relations and risk evaluation. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2004. 471 p.
31. **Гераськин С.А., Кузьменков А.Г., Васильев Д.В.** Временная динамика цитогенетических эффектов в хронически облучаемых популяциях сосны обыкновенной //Радиационная биология. Радиоэкология. 2018. Т. 58, № 1. С. 74-84.
32. **Geras'kin S., Oudalova A., Kuzmenkov A., Vasiliyev D.** Chronic radiation exposure modifies temporal dynamics of cytogenetic but not reproductive indicators in Scots pine populations // Environ. Pollution. 2018. V. 239. P. 399-407.
33. **Удалова А.А., Гераськин С.А.** Временная динамика и эколого-генетическая изменчивость цитогенетических эффектов в испытывающих техногенное воздействие популяциях сосны обыкновенной //Журнал общей биологии. 2011. Т. 72, № 6. С. 455-471.
34. **Dubin N.P., Tiniakov G.G.** Inversion gradients and natural selection in ecological races of *Drosophila funebris* //Genetics. 1946. V. 31. P. 537-545.
35. **Theodorakis C.W.** Integration of genotoxic and population genetic endpoints in biomonitoring and risk assessment //Ecotoxicol. 2001. V. 10. P. 245-256.
36. **Казакова Е.А., Волкова П.Ю., Гераськин С.А.** Анализ изменений генетической структуры хронически облучаемых популяций сосны обыкновенной //Экологическая генетика. 2017. Т. 15, № 2. С. 50-61.

37. **Guries R.P., Ledig F.T.** Genetic diversity and population structure in Pitch pine (*Pinus rigida* Mill.) //Evolution. 1982. V. 36. P. 387-402.
38. **Крутовский К.В., Политов Д.В., Алтухов Ю.П., Милютин Л.И., Кузнецова Г.В., Прошников А.И., Воробьев В.Н., Воробьева Н.А.** Генетическая изменчивость сибирской кедровой сосны *Pinus sibirica* Du Tour. Сообщение IV. Генетическое разнообразие и степень генетической дифференциации между популяциями //Генетика. 1989. Т. 25, № 11. С. 2009-2032.
39. **Ульянова Е.В., Позолотина В.Н., Сарапульцев И.Е.** Эколого-генетическая характеристика ценопопуляций *Taraxacum officinale* L. из пойменных экосистем р. Течи //Экология. 2004. № 5/ С. 249-357.
40. **Сарапульцев Б.И., Гераськин С.А.** Генетические основы радиорезистентности и эволюция. М.: Энергоатомиздат, 1993. 208 с.
41. **Pozolotina V.N., Antonova E.V., Bezel V.S.** Comparison of remote consequences in *Taraxacum officinale* seed progeny collected in radioactively or chemically contaminated areas //Ecotoxicol. 2012. V. 21. P. 1979-1988.
42. **Banks S.C., Cary G.J., Smith A.L., Davies I.D., Driscoll D.A., Gill A.M., Lindenmayer D.B., Peakall R.** How does ecological disturbance influence genetic diversity? //Trends Ecol. Evol. 2013. V. 28. P. 670-679.
43. **Kuchma O., Finkeldey R.** Evidence for selection in response to radiation exposure: *Pinus sylvestris* in the Chernobyl exclusion zone //Environ. Pollution. 2011. V. 159. P. 1606-1612.
44. **Алтухов Ю.П.** Генетические процессы в популяциях. М.: Академкнига, 2003. 431 с.
45. **Sahu P.P., Pandey G., Sharma N., Puranik S., Muthamilarasan M., Prasad M.** Epigenetic mechanisms of plant stress responses and adaptation //Plant Cell Rep. 2013. V. 32. P. 1151-1159.
46. **Kovalchuk O., Burke P., Arkhipov A., Kuchma N., James S.J., Kovalchuk I., Pogribny I.** Genome hypermethylation in *Pinus sylvestris* of Chernobyl – a mechanism for radiation adaptation? //Mutat. Res. 2003. V. 529. P. 13-20.
47. **Rabinowicz P.D., Palmer L.E., May B.P., Hemann M.T., Lowe S.W., McCombie W.R., Martienssen R.A.** Genes and transposons are differentially methylated in plants, but not in mammals //Genome Res. 2003. V. 13. P. 2658-2664.
48. **Ikeda Y., Nishimura T.** Nuclear functions in plant transcription, signaling and development. Chapter 2. The role of DNA methylation in transposable element silencing and genomic imprinting. New York: Springer Science+Business Media, 2015. P. 13-29.
49. **Duarte G.T., Volkova P.Yu., Geras'kin S.A.** Delineating the functional pattern of adaptation to chronic radiation exposure by the transcriptome analysis of Scots pine from the Chernobyl exclusion zone //Nat. Ecol. Evol., under review.
50. **Voronova A., Jansons Ā., Ruņģis D.** Expression of retrotransposon-like sequences in Scots pine (*Pinus sylvestris*) in response to heat stress //Environ. Exp. Biol. 2011. V. 9. P. 121-127.
51. **Kovalchuk I., Molinier J., Yao Y., Arkhipov A., Kovalchuk O.** Transcriptome analysis reveals fundamental differences in plant response to acute and chronic exposure to ionizing radiation //Mutat. Res. 2007. V. 624. P. 101-113.
52. **Jan S., Parween T., Siddiqi T.O., Mahmooduzzafar.** Anti-oxidant modulation in response to gamma radiation induced oxidative stress in developing seedlings of *Psoralea corylifolia* L. //J. Environ. Radioact. 2012. V. 113. P. 142-149.
53. **Шималина Н.С., Орехова Н.А., Позолотина В.Н.** Особенности про- и антиоксидантных систем *Plantago major*, длительное время произрастающего в зоне радиоактивного загрязнения //Экология. 2018. № 5. С. 333-341.
54. **Kozlov M.V., Niemela P., Junttila J.** Needle fluctuating asymmetry is a sensitive indicator of pollution impact on Scots pine (*Pinus sylvestris*) //Ecol. Indic. 2002. V. 1. P. 271-277.
55. **Møller A.P.** Developmental instability of plants and radiation from Chernobyl //Oikos. 1998. V. 81. P. 444-448.

56. **Oleksyk T.K., Novak J.M., Purdue J.R., Gashchak S.P., Smith M.H.** High levels of fluctuating asymmetry in populations of *Apodemus flavicollis* from the most contaminated areas in Chernobyl //J. Environ. Radioact. 2004. V. 73. P. 1-20.
57. **Makarenko E.S., Oudalova A.A., Geras'kin S.A.** Morphometric measurements of Scots pine needles from radioactively contaminated area. In: XIII International Youth Scientific and Practical Conference "Future of atomic energy – AtomFuture 2017", KnE Engineering. 2017. P. 8-13.
58. **Kashparova E., Levchuk S., Morozova V., Kashparov V.** A dose rate causes no fluctuating asymmetry indexes changes in silver birch (*Betula pendula* (L.) Roath.) leaves and Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) needles in the Chernobyl Exclusion Zone //J. Environ. Radioact., in press.
59. **Федотов И.С., Кальченко В.А., Игонина Е.В., Рубанович А.В.** Радиационно-генетические последствия облучения популяций сосны обыкновенной в зоне аварии на ЧАЭС //Радиационная биология. Радиоэкология. 2006. Т. 46, № 3. С. 268-278.
60. **Ipatyev V., Bulavik I., Braginsky V., Goncharenko G., Dvornik A.** Forest and Chernobyl: forest ecosystems after the Chernobyl nuclear power plant accident: 1986-1994 //J. Environ. Radioact. 1999. V. 42. P. 9-38.
61. **Кальченко В.А., Спирин Д.А.** Генетические эффекты в популяциях сосны обыкновенной, произрастающих в условиях хронического облучения малыми дозами //Генетика. 1989. Т. 25, № 6. С. 1059-1064.
62. **Евсеева Т.И., Гераськин С.А., Белых Е.С., Майстренко Т.А., Brown J.E.** Оценка репродуктивной способности *Pinus sylvestris*, произрастающей в условиях хронического воздействия радионуклидов уранового и ториевого рядов //Экология. 2011. № 5. С. 355-360.
63. **Geras'kin S., Vasiliyev D., Makarenko E., Volkova P., Kuzmenkov A.** Influence of long-term chronic exposure and weather conditions on Scots pine populations //Environ. Sci. Pollut. Res. 2017. V. 24. P. 11240-11253.
64. **Pozolotina V.N., Antonova E.V.** Temporal variability of the quality of *Taraxacum officinale* seed progeny from the East-Ural Radioactive Trace: is there an interaction between low level radiation and weather conditions? //Int. J. Radiat. Biol. 2016. V. 93. P. 330-339.
65. **Bréchnignac F., Oughton D., Mays C., Barnthouse L., Beasley J.C., Bonisoli-Alquati A., Bradshaw C., Brown J., Dray S., Geras'kin S., Glenn T., Higley K., Ishida K., Kapustka L., Kautsky U., Kuhne W., Lynch M., Mappes T., Mihok S., Moller A.P., Mothersill C., Otaki J., Pryakhin E., Rhodes O.E. Jr., Salbu B., Strand P., Tsukada H.** Addressing ecological effects of radiation on populations and ecosystems to improve protection of the environment against radiation: Agreed statements from a Consensus Symposium //J. Environ. Radioact. 2016. V. 158-159. P. 21-29.
66. **Ramzaev V., Botter-Jensen L., Thompsen K.J., Andersson K.J., Murray A.S.** An assessment of cumulative external doses from Chernobyl fallout for a forest area in Russia using the optically stimulated luminescence from quartz inclusions in bricks //J. Environ. Radioact. 2008. V. 99. P. 1154-1164.
67. **Molinier J., Ries G., Zipfel C., Hohn B.** Transgeneration memory of stress in plants //Nature. 2006. V. 442. P. 1046-1049.

Effects of chronic radiation exposure on the plant populations, observed in the reference plant the Scots Pine. Review

Geras'kin S.A., Volkova P.Yu., Oudalova A.A.¹, Kazakova E.A., Vasiliyev D.V.,
Dikareva N.S., Makarenko E.S., Duarte G.T.², Kuzmenkov A.G.

Russian Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk;

¹ Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering, Obninsk;

² Institute Jean-Pierre Bourgin, Versailles, France

Large-scale radiation accidents at the Mayak production association and at the Chernobyl NPP caused contamination of large territories of Russia by radioactive fallouts. The increased level of mutagenesis found in plants and animals inhabiting radioactively contaminated lands raise the question about possible ecological consequences of chronic exposure to low-dose radiation. However, late effects of chronic exposure to radiation on plants and animals are still debated in scientific communities. The paper presents the basic results of long-term follow up (2003-2016) of the populations of the Scots pine inhabiting in areas with different levels and spectrum of radioactive contamination. Population of animals and plants developing under continuous radiation exposure have increased levels of mutagenesis, genome wide methylation, changes in genes expression, genetic structure of the population and temporal dynamics of cytogenetic defects. However, found genetic changes in the pine organism did not affect enzyme activity in endosperms, rates of morphologic abnormalities and rates of reproductive power. Results of the study provide evidence that the pine has high sensitivity to chronic radiation exposure. Significant genetic effects had been observed during the surveillance period, perhaps these effects will be observed for a long time. Since changes in epigenetic status and genetic structures of the edificator plant, the Scots pine is one of the environment-forming plants playing important role in forming response of the environment to radiation, these processes should be taken into account when programs on the preservation of biodiversity under chronic radiation exposure are developed.

Key words: accident at the Chernobyl NPP, Scots pine, chronic exposure to radiation, absorbed doses, mutations in isoenzyme loci, cytogenetic effects, population genetic structure, genome methylation, expression of genes, morphologic abnormalities, reproductive power.

References

1. Geras'kin S.A. Ecological effects of exposure to enhanced levels of ionizing radiation. *J. Environ. Radioact.*, 2016, vol. 162-163, pp. 347-357.
2. Ellison A.M., Bank M.S., Clinton B.D., Colburn E.A., Elliott K., Ford C.R., Foster D.R., Kloeppel B.D., Knoepp J.D., Lovett G.M., Mohan J., Orwig D.A., Rodenhouse N.L., Sobczak W.V., Stinson K.A., Stone J.K., Swan C.M., Thompson J., Holle B.V., Webster J.R. Loss of foundation species: consequences for the structure and dynamics of forested ecosystems. *Front. Ecol. Environ.*, 2005, vol. 3, pp. 479-486.
3. Atlas of modern and predictive aspects of the Chernobyl NPP accident in the affected areas of Russia and Belarus. Mocsow-Minsk, Belcartographia, 2009. 140 p. (In Russian).
4. Geras'kin S.A., Evseeva T.I., Oudalova A.A. Plants as a tool for the environmental health assessment. Encyclopedia of Environmental Health. Burlington, Elsevier, 2011, vol. 4, pp. 571-579.
5. Glazko T.T., Arkhipov N.P., Glazko V.I. Population-genetic consequences of environmental accidents on the example of the Chernobyl accident. Moscow, Moscow Agricultural Academy, 2008. 556 p. (In Russian).
6. Pozolotina V.N., Molchanova I.V., Karavaeva E.N., Mikhailovskaya L.N., Antonova E.V. Current state of the terrestrial ecosystems of the East Ural radioactive trace: levels of pollution and biological effects. Yekaterinburg, Goschitsy, 2008. 204 p. (In Russian).

Geras'kin S.A.* – Head of Lab, D. Sc., Biol., Prof.; Volkova P.Yu. – Leading Researcher, C. Sc., Biol.; Kazakova E.A. – Researcher; Vasiliyev D.V. – Senior Researcher, C. Sc., Biol.; Dikareva N.S. – Researcher, C. Sc., Agr.; Makarenko E.S. – Researcher; Kuzmenkov A.G. – Junior Researcher. RIRAE. Oudalova A.A. – D. Sc., Biol., Prof. IATE MEPhI. Duarte G.T. – Postdoc Researcher. Institut Jean-Pierre Bourgin (JPB).

*Contacts: 109 km, Kievskoe Sh., Obninsk, Kaluga region, Russia, 249032. Tel. (484) 399-69-64; e-mail: stgeraskin@gmail.com.

7. **Shevchenko V.A., Pechkurenkov V.L., Abramov V.I.** Radiation genetics of natural populations: genetic consequences of the Kyshtym accident. Moscow, Nauka, 1992. 221 p. (In Russian).
8. **Moller A.P., Mousseau T.A.** Strong effects of ionizing radiation from Chernobyl on mutation rates. *Sci. Reports*, 2014, vol. 5, 8363.
9. **Boubryak I., Akimkina T., Polischuk V., Dmitriev A., MacCreedy S., Grodzinsky D.** Long-term effects of Chernobyl contamination on DNA repair function and plant resistance to different biotic and abiotic stress factors. *Tsitologiya i genetika – Cytology and Genetics*, 2016, vol. 50, no. 6, pp. 34-59.
10. **Geras'kin S.A., Evseeva T.I., Oudalova A.A.** Effects of long-term chronic exposure to radionuclides in plant populations. *J. Environ. Radioact.*, 2013, vol. 121, pp. 22-32.
11. **Omar-Nazir L., Shi X., Moller A., Mousseau T., Byun S., Hancock S., Seymour C., Mothersill C.** Long-term effects of ionizing radiation after the Chernobyl accident: possible contribution of historic dose. *Environ. Res.*, 2018, vol. 165, pp. 55-62.
12. **Fuller N., Smith J.T., Nagorskaya L.L., Gudkov D.I., Ford A.T.** Does Chernobyl-derived radiation impact the developmental stability of *Asellus aquaticus* 30 years on? *Sci. Tot. Environ.*, 2017, vol. 576, pp. 242-250.
13. **Fuller N., Ford A.T., Nagorskaya L.L., Gudkov D.I., Smith J.T.** Reproduction in the freshwater crustacean *Asellus aquaticus* along a gradient of radionuclide contamination at Chernobyl. *Sci. Tot. Environ.*, 2018, vol. 628-629, pp. 11-17.
14. **Deryabina T., Kuchmel S., Nagorskaya L., Hinton T., Beasley J., Lerebours A., Smith J.** Long-term census data reveal abundant wildlife populations at Chernobyl. *Cur. Biol.*, 2015, vol. 25, pp. R824-R826.
15. **Møller A.P., Mousseau T.A.** Assessing effects of radiation on abundance of mammals and predator-prey interactions in Chernobyl using tracks in the snow. *Ecol. Indic.*, 2013, vol. 26, pp. 112-116.
16. **Webster S.C., Byrne M.E., Lance S.L., Love C.N., Hinton T.G., Shamovich D., Beasley J.C.** Where the wild things are: influence of radiation on the distribution of four mammalian species within the Chernobyl exclusion zone. *Front. Ecol. Environ.*, 2016, vol. 14, pp. 185-190.
17. **Lerebours A., Gudkov D., Nagorskaya L., Kaglyan A., Rzewski V., Leshchenko A., Bailey E.H., Bakir A., Ovsyanikova S., Laptev G., Smith J.T.** Impact of environmental radiation on the health and reproductive status of fish from Chernobyl. *Environ. Sci. Technol.*, 2018, vol. 52, pp. 9442-9450.
18. **Caplin N., Willey N.** Ionizing radiation, higher plants, and radioprotection: from acute high doses to chronic low doses. *Front. Plant Sci.*, 2018, vol. 9, p. 847.
19. **Grodzinsky D.M.** Radiobiology of plants. Kiev: Naukova Dumka, 1989. 384 p. (In Russian).
20. ICRP Publication 108. Environmental protection: the concept and use of reference animals and plants. *Ann. ICRP*, 2009, vol. 38, pp. 1-242.
21. **Kozubov G.M., Taskaev A.I.** Radiobiological and radioecological studies of woody plants. S.-P., Nauka, 1994. 256 p. (In Russian).
22. **Verta J.-P., Landry C.R., Mackay J.J.** Are long-lived trees poised for evolutionary change? Single locus effects in the evolution of gene expression networks in spruce. *Mol. Ecol.*, 2013, vol. 22, pp. 2369-2379.
23. **Geras'kin S., Oudalova A., Dikareva N., Spiridonov S., Hinton T., Chernonog E., Garnier-Laplace J.** Effects of radioactive contamination on Scots pines in the remote period after the Chernobyl accident. *Ecotoxicol.*, 2011, vol. 20, pp. 1195-1208.
24. **Spiridonov S.I., Fesenko S.V., Geras'kin S.A., Solomatin V.M., Karpenko Ye.I.** The dose estimation of woody plants in the remote period after the Chernobyl NPP accident. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya – Radiation Biology. Radioecology*, 2008, vol. 48, no. 4, pp. 432-438. (In Russian).
25. **Geras'kin S.A., Dikareva N.S., Oudalova A.A., Vasil'ev D.V., Volkova P.Yu.** The consequences of chronic radiation exposure of Scots pine in the remote period after the Chernobyl accident. *Russian Journal of Ecology*, 2016, vol. 47, pp. 26-38.
26. **Makarenko E.S., Oudalova A.A., Geras'kin S.A.** Morphometric indices of Scots pine needles under Chronic exposure of radiation. *Contemporary Problems of Ecology*, 2017, vol. 10, pp. 761-769.

27. **Geras'kin S., Volkova P.** Genetic diversity in Scots pine populations along a radiation exposure gradient. *Sci. Tot. Environ.*, 2014, vol. 496, pp. 317-327 (In Russian).
28. **Volkova P.Yu., Geras'kin S.A., Kazakova E.A.** Radiation exposure in the remote period after the Chernobyl accident caused oxidative stress and genetic effects in Scots pine populations. *Scientific Reports*, 2017, vol. 7, p. 43009.
29. **Volkova P.Yu., Geras'kin S.A., Horemans N., Makarenko E.S., Saenen E., Nauts R., Bondarenko V.S., Duarte G.T., Jacobs G., Voorspoels S., Kudin M.** Chronic radiation exposure as an ecological factor: hypermethylation and genetic differentiation in irradiated Scots pine populations. *Environ. Pollution*, 2018, vol. 232, pp. 105-112.
30. **Streffer C., Bolt H., Follesdal D., Hall P., Hengstler J.G., Jakob P., Oughton D., Prieb K., Rehbinder E., Swaton E.** Low dose exposures in the environment. Dose-effect relations and risk evaluation. Berlin Heidelberg, Springer-Verlag, 2004. 471 p.
31. **Geras'kin S.A., Kuzmenkov A.G., Vasiliyev D.V.** Time dynamics of cytogenetic effects in chronically exposed Scots pine populations. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya – Radiation Biology. Radioecology*, 2018, vol. 58, no. 1, pp. 74-84. (In Russian).
32. **Geras'kin S., Oudalova A., Kuzmenkov A., Vasiliyev D.** Chronic radiation exposure modifies temporal dynamics of cytogenetic but not reproductive indicators in Scots pine populations. *Environ. Pollution*, 2018, vol. 239, pp. 399-407.
33. **Oudalova A.A., Geras'kin S.A.** The time dynamics and ecological-genetic variation of cytogenetic effects in the Scots pine populations experiencing anthropogenic impact. *Biology Bulletin Reviews*, 2012, vol. 2, no. 3, pp. 254-267.
34. **Dubin N.P., Tiniakov G.G.** Inversion gradients and natural selection in ecological races of *Drosophila funebris*. *Genetics*, 1946, vol. 31, pp. 537-545.
35. **Theodorakis C.W.** Integration of genotoxic and population genetic endpoints in biomonitoring and risk assessment. *Ecotoxicol.*, 2001, vol. 10, pp. 245-256.
36. **Kazakova E.A., Volkova P.Yu., Geras'kin S.A.** Analysis of changes in the genetic structure of chronically irradiated Scots pine populations. *Russian J. Genetics: Applied Research*, 2018, vol. 8, no. 2, pp. 124-134.
37. **Guries R.P., Ledig F.T.** Genetic diversity and population structure in Pitch pine (*Pinus rigida* Mill.). *Evolution*, 1982, vol. 36, pp. 387-402.
38. **Krutovsky K.V., Politov D.V., Altukhov Yu.P., Milutin L.I., Kuznetsova G.V., Proshnikov A.I., Vorobiov V.N., Vorobiova N.A.** Genetic variability in Siberian cedar pine, *Pinus Sibirica* Du TOUR. IV. Genetic diversity and differentiation between populations. *Genetika – Russian Journal of Genetics*, 1989, vol. 25, no. 11, pp. 2009-2032. (In Russian).
39. **Ulianova E.V., Pozolotina V.N., Sarapult'sev I.E.** Ecological-genetic characteristics of coenopopulations of *Taraxacum officinales* L from the flood lands of the Techa River. *Russian Journal of Ecology*, 2004, vol. 35, pp. 349-357.
40. **Sarapult'zev B.I., Geras'kin S.A.** Genetic basis of radioresistance and evolution. Moscow, Energoatomizdat Publishers, 1993. 208 p. (In Russian).
41. **Pozolotina V.N., Antonova E.V., Bezel V.S.** Comparison of remote consequences in *Taraxacum officinale* seed progeny collected in radioactively or chemically contaminated areas. *Ecotoxicol.*, 2012, vol. 21, pp. 1979-1988.
42. **Banks S.C., Cary G.J., Smith A.L., Davies I.D., Driscoll D.A., Gill A.M., Lindenmayer D.B., Peakall R.** How does ecological disturbance influence genetic diversity? *Trends Ecol. Evol.*, 2013, vol. 28, pp. 670-679.
43. **Kuchma O., Finkeldey R.** Evidence for selection in response to radiation exposure: *Pinus sylvestris* in the Chernobyl exclusion zone. *Environ. Pollution*, 2011, vol. 159, pp. 1606-1612.
44. **Altukhov Yu.P.** Genetic processes in populations. Moscow, Akademkniga, 2003. 431 p. (In Russian).
45. **Sahu P.P., Pandey G., Sharma N., Puranik S., Muthamilarasan M., Prasad M.** Epigenetic mechanisms of plant stress responses and adaptation. *Plant Cell Rep.*, 2013, vol. 32, pp. 1151-1159.

46. **Kovalchuk O., Burke P., Arkhipov A., Kuchma N., James S.J., Kovalchuk I., Pogribny I.** Genome hypermethylation in *Pinus sylvestris* of Chernobyl – a mechanism for radiation adaptation? *Mutat. Res.*, 2003, vol. 529, pp. 13-20.
47. **Rabinowicz P.D., Palmer L.E., May B.P., Hemann M.T., Lowe S.W., McCombie W.R., Martienssen R.A.** Genes and transposons are differentially methylated in plants, but not in mammals. *Genome Res.*, 2003, vol. 13, pp. 2658-2664.
48. **Ikeda Y., Nishimura T.** Nuclear functions in plant transcription, signaling and development. Chapter 2. The role of DNA methylation in transposable element silencing and genomic imprinting. New York, Springer Science+Business Media, 2015. P. 13-29.
49. **Duarte G.T., Volkova P.Yu., Geras'kin S.A.** Delineating the functional pattern of adaptation to chronic radiation exposure by the transcriptome analysis of Scots pine from the Chernobyl exclusion zone. *Nat. Ecol. Evol.*, under review.
50. **Voronova A., Jansons Ā., Ruņģis D.** Expression of retrotransposon-like sequences in Scots pine (*Pinus sylvestris*) in response to heat stress. *Environ. Exp. Biol.*, 2011, vol. 9, pp. 121-127.
51. **Kovalchuk I., Molinier J., Yao Y., Arkhipov A., Kovalchuk O.** Transcriptome analysis reveals fundamental differences in plant response to acute and chronic exposure to ionizing radiation. *Mutat. Res.*, 2007, vol. 624, pp. 101-113.
52. **Jan S., Parween T., Siddiqi T.O., Mahmooduzzafar.** Anti-oxidant modulation in response to gamma radiation induced oxidative stress in developing seedlings of *Psoralea corylifolia* L. *J. Environ. Radioact.*, 2012, vol. 113, pp. 142-149.
53. **Shimalina N.S., Orekhova N.A., Pozolotina V.N.** Features of prooxidant and antioxidant systems of greater plantain *Plantago major* growing for a long time under conditions of radioactive contamination. *Russian Journal of Ecology*, 2018, vol. 49, pp. 375-383.
54. **Kozlov M.V., Niemela P., Junttila J.** Needle fluctuating asymmetry is a sensitive indicator of pollution impact on Scots pine (*Pinus sylvestris*). *Ecol. Indic.*, 2002, vol. 1, pp. 271-277.
55. **Møller A.P.** Developmental instability of plants and radiation from Chernobyl. *Oikos.*, 1998, vol. 81, pp. 444-448.
56. **Oleksyk T.K., Novak J.M., Purdue J.R., Gashchak S.P., Smith M.H.** High levels of fluctuating asymmetry in populations of *Apodemus flavicollis* from the most contaminated areas in Chornobyl. *J. Environ. Radioact.*, 2004, vol. 73, pp. 1-20.
57. **Makarenko E.S., Oudalova A.A., Geras'kin S.A.** Morphometric measurements of Scots pine needles from radioactively contaminated area. In: XIII International Youth Scientific and Practical Conference "Future of atomic energy – AtomFuture 2017", KnE Engineering, 2017, pp. 8-13.
58. **Kashparova E., Levchuk S., Morozova V., Kashparov V.** A dose rate causes no fluctuating asymmetry indexes changes in silver birch (*Betula pendula* (L.) Roath.) leaves and Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) needles in the Chernobyl Exclusion Zone. *J. Environ. Radioact.*, in press.
59. **Fedotov I.S., Kalchenko V.A., Igonina E.V., Rubanovich A.V.** Radiation and genetic consequences of ionizing irradiation on population of *Pinus sylvestris* L. within the zone of the Chernobyl NPP. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya – Radiation Biology. Radioecology*, 2006, vol. 46, pp. 268-278. (In Russian).
60. **Ipatyev V., Bulavik I., Braginsky V., Goncharenko G., Dvornik A.** Forest and Chernobyl: forest ecosystems after the Chernobyl nuclear power plant accident: 1986-1994. *J. Environ. Radioact.*, 1999, vol. 42, pp. 9-38. (In Russian).
61. **Kalchenko V.A., Spirin D.A.** Genetics effects revealed in populations of *Pinus sylvestris* L. growing under exposure to small doses of chronic irradiation. *Genetika – Russian Journal of Genetics*, 1989, vol. 25, no. 6, pp. 1059-1064.

62. **Evseeva T.I., Belykh E.S., Maistrenko T.A., Geras'kin S.A., Brown J.E.** Assessment of the reproductive capacity of *Pinus sylvestris* trees growing under conditions of chronic exposure to radionuclides of uranium and thorium series Russian. *Russian Journal of Ecology*, 2011, vol. 42, pp. 382-387.
63. **Geras'kin S., Vasiliyev D., Makarenko E., Volkova P., Kuzmenkov A.** Influence of long-term chronic exposure and weather conditions on Scots pine populations. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2017, vol. 24, pp. 11240-11253.
64. **Pozolotina V.N., Antonova E.V.** Temporal variability of the quality of *Taraxacum officinale* seed progeny from the East-Ural Radioactive Trace: is there an interaction between low level radiation and weather conditions? *Int. J. Radiat. Biol.*, 2016, vol. 93, pp. 330-339.
65. **Bréchignac F., Oughton D., Mays C., Barnthouse L., Beasley J.C., Bonisoli-Alquati A., Bradshaw C., Brown J., Dray S., Geras'kin S., Glenn T., Higley K., Ishida K., Kapustka L., Kautsky U., Kuhne W., Lynch M., Mappes T., Mihok S., Moller A.P., Mothersill C., Otaki J., Pryakhin E., Rhodes O.E. Jr., Salbu B., Strand P., Tsukada H.** Addressing ecological effects of radiation on populations and ecosystems to improve protection of the environment against radiation: Agreed statements from a Consensus Symposium. *J. Environ. Radioact.*, 2016, vol. 158-159, pp. 21-29.
66. **Ramzaev V., Botter-Jensen L., Thompson K.J., Andersson K.J., Murray A.S.** An assessment of cumulative external doses from Chernobyl fallout for a forest area in Russia using the optically stimulated luminescence from quartz inclusions in bricks. *J. Environ. Radioact.*, 2008, vol. 99, pp. 1154-1164.
67. **Molinier J., Ries G., Zipfel C., Hohn B.** Transgeneration memory of stress in plants. *Nature*, 2006, vol. 442, pp. 1046-1049.