

УДК 577.472 : 539.16+597—13+597.553.2+597.585.1

**АККУМУЛЯЦИЯ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ РАСТВОРЕННЫХ В ВОДЕ
РАДИОИЗОТОПОВ В ИКРЕ РЫБ В ПЕРИОД ЭМБРИОГЕНЕЗА**

И. А. ШЕХАНОВА

Выход из-под контроля человека громадных количеств радиоактивных отходов атомных производств, а также выпадение радиоактивных атмосферных осадков после взрывов атомного оружия привели к появлению в биосфере самых вредных из всех созданных человеком экологических факторов — ионизирующих излучений искусственнорадиоактивных веществ. Многие страны (США, Англия, Франция и др.) практикуют захоронение радиоактивных отходов на морском дне и в поверхностных водах. В результате этого концентрация долгоживущих продуктов ядерного деления в морской среде неуклонно возрастает. Таким образом, искусственнорадиоактивные вещества уже в настоящее время приобрели характер постоянно действующего радиоэкологического фактора в морях и океанах.

Специфика биологического действия ионизирующей радиации в противоположность действию химических веществ состоит в отсутствии порога, иначе говоря, — на живые системы действуют любые ничтожные дозы радиоактивных излучений. Действие это обнаруживается порой уже во время опыта на исследуемом объекте и выражается либо в гибели его, либо в появлении морфологических аномалий и аномалий в функциональной деятельности отдельных систем. Но часто наблюдаются случаи, когда облучение малыми дозами видимого влияния на исследуемый объект не оказывает, а реакция наступает или через какой-либо промежуток времени после облучения, или сказывается на потомстве, т. е. появляются нарушения генетического порядка. Таким образом, отсутствие показателей прямого воздействия облучения на исследуемый организм не говорит еще об отсутствии вредного действия исследуемого уровня радиоактивности.

В настоящее время разработаны предельно допустимые дозы облучения и предельно допустимые концентрации (ПДК) радиоактивного загрязнения воздуха и воды только для человека. Влияние этих концентраций на наземных и особенно водных представителей животного мира не изучалось и не принималось во внимание. В то же время из большого числа работ, проведенных советскими и зарубежными исследователями, известно, что рыбы, обитая в водной среде, аккумулируют растворенные в ней вещества, в частности ионы радиоактивных элементов. Таким образом, они подвергаются не только внешнему облучению при радиоактивной загрязненности воды, но и дополнительно внутреннему облучению инкорпорированных в их организме элементов. Доза, получаемая при внешнем облучении, зависит от уровня радиоактивной загрязненности воды. Доза, получае-

мая при внутреннем облучении, зависит от количества аккумулярованных в организме радиоизотопов. Степень аккумуляции различных элементов определяется прежде всего физиологическим состоянием объекта, в частности физиологической потребностью организма в исследуемый период в том или ином элементе. Способность организма накапливать радиоактивные вещества выражается отношением его радиоактивности к радиоактивности водной среды. В литературе это отношение получило название «коэффициента накопления». Коэффициент накопления отражает отношение активности 1 г сырого вещества гидробионта к активности 1 мл раствора. Регистрация радиоактивности в пересчете на сырое вещество дает возможность определить дозу внутреннего облучения инкорпорированными радиоизотопами, получаемую подопытным объектом.

Помимо степени аккумуляции или коэффициента накопления, доза внутреннего облучения зависит и от характера распределения радиоизотопа в исследуемом организме.

Все элементы по типу распределения их в животном организме (имеется в виду взрослый организм человека или позвоночных животных) разделяются на несколько групп: равномерно распределяющиеся; остеотропные; имеющие локальное распределение в отдельных органах и тканях [2]. К группе равномерно распределяющихся изотопов относятся тритий, натрий, калий, фосфор, углерод. «Критическим органом», т. е. частью тела, получающей максимальную дозу облучения в случае попадания изотопов в организм (по терминологии Д. И. Закутинского и др.), является все тело. К группе остеотропных элементов относятся кальций, магний, стронций, барий и др. Все эти элементы в основном содержатся в костной ткани, которая при попадании их в организм получает максимальную дозу облучения. К группе элементов, имеющих локальное распределение, относятся йод, накапливающийся в щитовидной железе; железо, мышьяк, сурьма, входящие в состав клеток красной крови; медь, серебро, золото, марганец, отлагающиеся в ретикуло-эндотелиальных тканях. Критическими органами при этом будут те, в которых концентрируется тот или иной радиоизотоп. Таким образом, при четко выраженном локальном распределении ряда элементов в отдельных органах и тканях резко возрастает доза их облучения.

И, наконец, последний момент, определяющий дозу внутреннего облучения, — это вид и энергия излучения радиоизотопа, которая определяет линейную плотность ионизации.

С учетом вышесказанного задачей настоящей работы было в экспериментальных условиях изучить степень аккумуляции и характер распределения ряда радионуклидов в развивающейся икре рыб, чтобы в дальнейшем иметь возможность подойти к определению дозы, получаемой эмбрионом в процессе развития в радиоактивной среде.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В опытах использовали икру радужной форели (*Salmo irrideus* Gibb.) и бычка-кругляка (*Neogobius melanostomus* Pall.). Икру радужной форели получили на Чернореченском форелевом хозяйстве от нескольких самок и оплодотворили спермой от нескольких самцов. Через 14 ч после оплодотворения икру в изотермическом ящике из пенопласта на специальных рамках доставили в Москву. Опыты с икрой форели проводили в аквариальной ВНИРО.

По 500—700 икринок осторожно переносили на рамки, обтянутые капроновым газом, и помещали в эмалированные миски, в которых

было налито по 1 л раствора или чистой воды. Растворы меняли ежедневно. Для приготовления раствора использовали отстоянную водопроводную воду. Рамки с икрой при этом вынимали, чтобы икра при смене растворов не травмировалась, что очень важно, так как механическая травма приводит к массовой гибели икры. Для создания стабильной температуры при инкубации миски ставили на дно аквариумов, в которые подавалась по шлангу водопроводная вода, омывающая миски с наружной стороны. Температура в течение всего периода инкубации была 10—11° С.

Работу с икрой бычка-кругляка проводили на Азовском море на косе Обиточной. В отделенные от моря лиманы, освобожденные от посторонней рыбы, сажали производителей бычка-кругляка и ставили гнезда из черепиц. Бычки откладывали икру, приклеивая ее к внутренней поверхности черепиц. По мере появления икры на черепицах ее использовали в опыте. Установили, что на черепицах инкубировать икру нельзя, так как в микрizonaх получается замор и икра гибнет. Поэтому ее осторожно пинцетом снимали с субстрата и помещали в эмалированные миски, в которых проводили опыты. Смену растворов производили два раза в сутки морской водой. Опытные сосуды для защиты от лучей солнца поместили под навесом.

Средняя температура в период инкубации составляла 20—22° С. Наблюдения за развитием икры вели от стадии бластулы до выклева. Развитие икры радужной форели длилось 35 дней, бычка-кругляка — 12—15 дней.

Инкубацию икры вели в растворах стронция-90 — иттрия-90, стронция-89, иттрия-91, фосфора-32, кальция-45 и углерода-14 активностью $5 \cdot 10^{-5}$ кюри/л. Изотопы стронций-90 — иттрий-90, стронций-89, иттрий-91 и кальций-45 входили в состав хлористых солей CaCl_2 , SrCl_2 и YCl_2 ; углерод-14 — в состав соли Na_2CO_3 и фосфор-32 — в состав двухзамещенного натрийфосфата Na_2HPO_4 .

Препараты стронция и иттрия носителя не имели; при внесении в воду препаратов кальция-45, углерода-14 и фосфора-32 естественное содержание их повышалось так незначительно, что этим можно было пренебречь. Все эти элементы имеют бета-излучение, причем кальций-45 и углерод-14 имеют мягкие бета-излучения с энергией соответственно 0,254 и 0,155 Мэв; иттрий-91, стронций-90 — иттрий-90, стронций-89 и фосфор-32 — жесткие бета-излучения с энергией 1,55; 2,18; 1,463 и 1,701 Мэв. Кальций и стронций рассматривались нами как остеотропные элементы, имеющие четкое локальное распределение в скелетных элементах и «критический орган» облучения — кость. Углерод и фосфор рассматривались как элементы, имеющие равномерное распределение по всему организму и «критический орган» облучения — все тело.

При определении аккумуляции из опытных сосудов через определенные промежутки времени брали по 10 икринок, тщательно отмывали от наружного загрязнения, подсушивали, взвешивали и размельчали на кусочке фильтра или предметном стекле. Фильтр клеивали в пакетик из кальки, помещали в сушильный шкаф при температуре 65—70° С на 12 ч, после чего в полученных препаратах определяли радиоактивность. Для регистрации мягких бета-излучений кальция-45 и углерода-14 использовали трубку СБТ-7, жесткие бета-излучения регистрировали трубкой СТС-5 на установке Б-3 с малофоновой приставкой в свинцовой защите. При расчетах вносили поправку на эффективность счетной трубки для каждого изотопа отдельно. Аккумуляцию изотопов характеризовали количеством распадов в минуту, получаемых от 1 г сырого вещества.

При определении интенсивности проникновения радиоизотопов в икру и распределения по компонентам икринки из контрольных партий на определенных этапах развития брали пробы и помещали их на 2—4 ч в радиоактивный раствор. По истечении времени раствор сливали, икру отмывали от наружного загрязнения и помещали в 4%-ный раствор нейтрального формалина. Через 18—16 ч икринки препарировали: с них снимали оболочку, на фильтр собирали перивителлиновую жидкость, отделяли эмбрион и желточную массу. Желток измельчали, чтобы при изготовлении препарата снизить его толщину, так как необходимо было избежать явления самопоглощения радиоактивных излучений при проверке препаратов под счетчиком. Перехода радиоактивных веществ при фиксации в формалин не наблюдали. Общую активность всей икринки принимали за 100%, распределение радиоизотопов по компонентам икринки выражали в процентах от общей активности.

Интенсивность усвоения радиоизотопов на определенных этапах эмбриогенеза характеризовали количеством распадов в минуту, усвоенных икрой за 1 ч на 1 г сырого вещества.

ИНТЕНСИВНОСТЬ УСВОЕНИЯ РАДИОИЗОТОПОВ РАЗВИВАЮЩЕЙСЯ ИКРОЙ

Усвоение растворенных в воде веществ зависит от физиологической потребности в них того или иного гидробионта. Интенсивность этого процесса при неизменяющихся условиях внешней среды меняется для одного вида в процессе онтогенеза [8, 1].

Мы изучали интенсивность усвоения стронция-89, кальция-45, углерода-14 и фосфора-32 икрой форели и бычка-кругляка на разных стадиях развития от первых этапов дробления до выклева.

Было обнаружено, что в икре радужной форели наиболее интенсивно из всех взятых в опыт радиоизотопов усваивается стронций-89 (рис. 1).

В процессе развития икры интенсивность усвоения стронция-89 изменяется, в начале развития постепенно повышаясь, а к концу развития снижаясь.

По сравнению со стронцием-89 интенсивность усвоения кальция-45 значи-

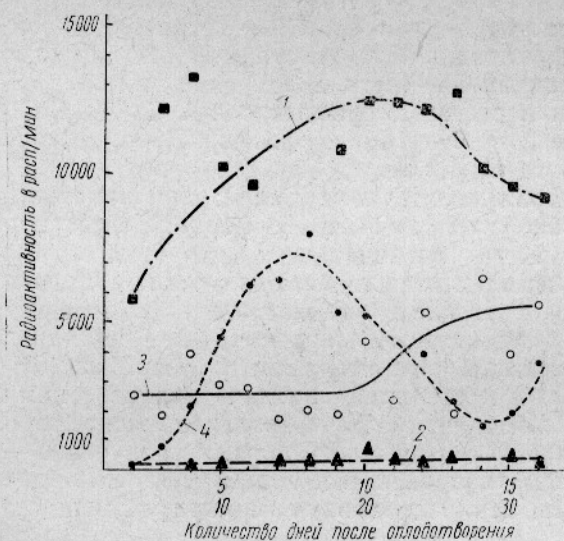


Рис. 1. Интенсивность проникновения радиоизотопов в икру форели на разных стадиях развития:

1 — стронций-89, 2 — углерод-14, 3 — кальций-45, 4 — фосфор-32.

тельно ниже. Она держится на постоянном уровне в первой половине развития и несколько повышается к концу развития. Интенсивность усвоения фосфора-32 изменяется в процессе развития икры по синусоидальной кривой, но в целом она довольно высока и значительно выше интенсивности усвоения углерода-14.

В икре бычка-кругляка, инкубировавшейся в морской воде, на первых этапах развития интенсивность усвоения всех радиоизотопов

довольно низкая, повышение ее наблюдается во второй половине развития и особенно резко — при инкубации в растворе углерода-14 (рис. 2). В целом интенсивность усвоения радиоизотопов икрой бычка значительно ниже, чем икрой форели, и характер изменения этого процесса по этапам развития икры резко различен для двух изученных видов.

В монографии А. И. Зотина [3], посвященной физиологии водного обмена у зародышей рыб и круглоротых, указано, что «в течение эмбрионального развития рыб только два вещества поступают из окружающей среды в зародыш: кислород и вода».

Однако имеющийся в настоящее время фактический материал, полученный нами и рядом других авторов [4, 5, 7], позволяет утверждать, что в процессе эмбриогенеза происходит усвоение из воды целого ряда растворенных в ней элементов. Причем это не механическая адсорбция, так как интенсивность усвоения элементов различна на разных стадиях развития, а физиологический процесс, обусловленный потребностью развивающегося организма в веществах, необходимых для построения органов и тканей. Доказательством является и тот факт, что элементы не задерживаются на оболочке, а проходят внутрь икринки и откладываются в желточной массе и развивающемся эмбрионе.

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ РАДИОИЗОТОПОВ В ИКРЕ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ

К первой группе радиоизотопов по распределению их во взрослом организме позвоночных животных были отнесены стронций и кальций. Изучение распределения их в развивающейся икре радужной форели показало, что кальций-45 (рис. 3, а) на протяжении всего развития в основном (на 75—80%) концентрируется в желтке и лишь в незначительных количествах регистрируется в эмбрионе и в перивителлиновой жидкости. На оболочке он совершенно не задерживается, а свободно проходит внутрь икринки. Если кальций-45 рассматривать как индикатор кальциевого обмена, то можно предположить, что в процессе развития в «депо» питательных веществ икринки — в желтке — накапливается кальций, усваиваемый из внешней среды, для того чтобы позднее при закладке и развитии скелета он мог быть использован как «строительный материал».

Стронций-90 — иттрий-90 и стронций-89 по характеру распределе-

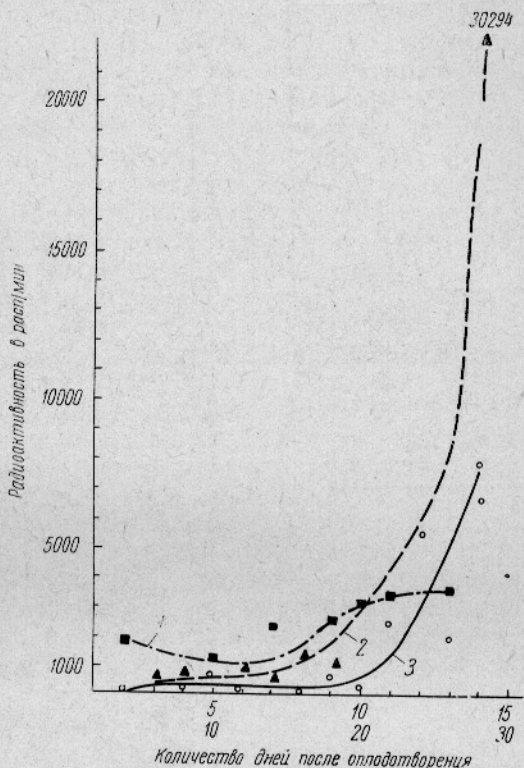


Рис. 2. Интенсивность проникновения радиоизотопов в икру бычка на различных стадиях развития. Условные обозначения те же, что на рис. 1.

ния в икре в основном сходны между собой (см. рис. 3, б, в). В начале развития они поступают в желток, но потом оболочка начинает выступать в роли барьера, задерживающего на себе около 30% зарегирированного в икринке стронция. Одновременно с этим развивающийся эмбрион концентрирует 20—25% усвоенного стронция. В желток же попадает не 75—80% стронция, как это было в опытах с кальцием, а 25—30%, что также составляет значительную величину.

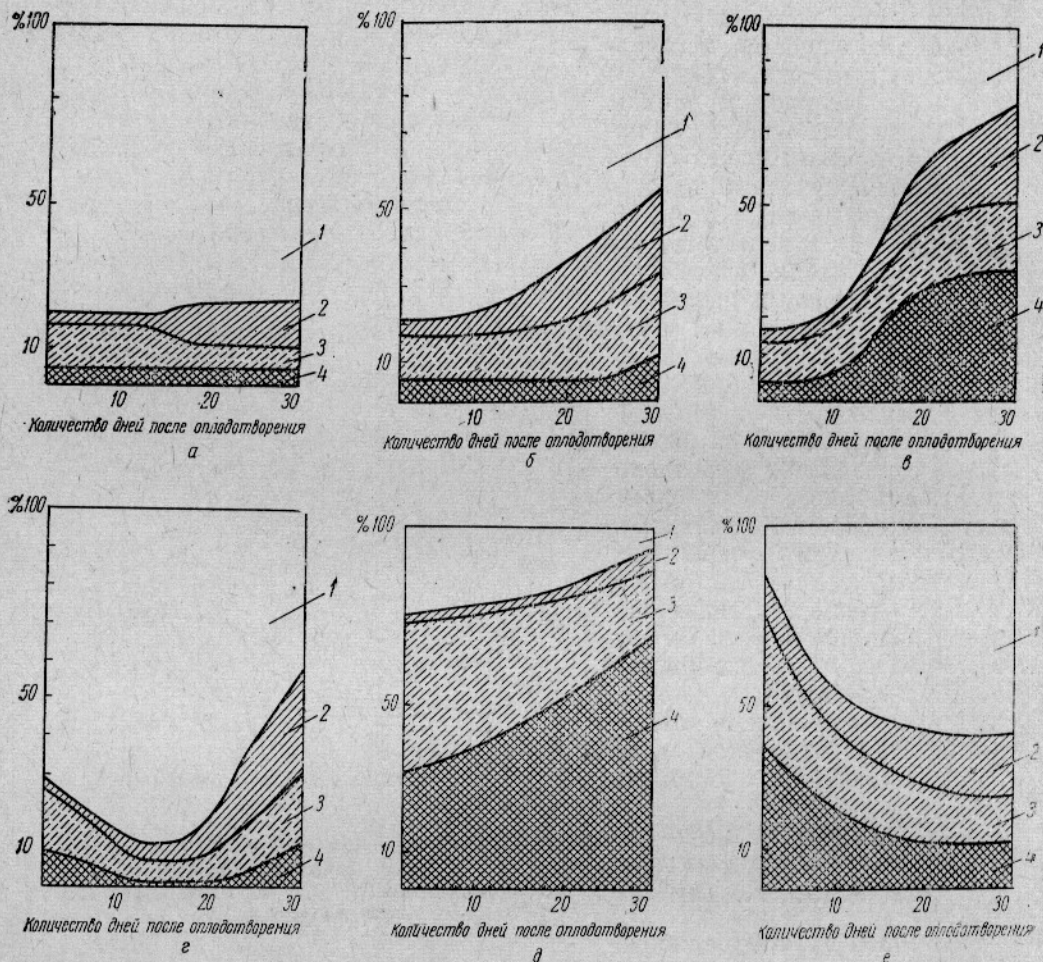


Рис. 3. Распределение элементов в икре радужной форели при выдерживании ее в растворах на разных стадиях развития:

а — кальций-45; б — стронций-90—иттрий-90; в — стронций-89, г — иттрий-91, д — фосфор-32, е — углерод-14; 1 — желток, 2 — эмбрион, 3 — перивителлиновая жидкость, 4 — оболочка.

Еще более, чем стронций, близок к кальцию по характеру распределения в икре иттрий-91 (см. рис. 3, г), физиологическая роль которого в обмене развивающегося эмбриона не ясна, но который в основном свободно проходит внутрь икринки и концентрируется в желточной массе. На оболочке его практически не остается. Это противоречит данным В. Н. Иванова [4], утверждающего, что иттрий локализуется в оболочке черноморских рыб. Видимо, закономерности распределения иттрия в икре пресноводных и морских рыб различны.

Таким образом, характер распределения стронция, иттрия и кальция в икре радужной форели сходен. Все эти элементы локализуются в желточной массе, свободно проходя через оболочку. При крупных размерах икринок форели, диаметр которых составляет 5—6 мм, подобный характер распределения может повлиять на величину дозы облучения, получаемую развивающимся эмбрионом.

Ко второй группе элементов по распределению их во взрослом организме позвоночных животных мы отнесли фосфор-32 и углерод-14. Несмотря на их различную роль в биохимических процессах, это элементы с диффузным равномерным распределением по всему организму без четкой локализации в каком-либо органе. Исследования показали, что фосфор-32 (см. рис. 3, д) на всех стадиях развития икры форели на 30—40% остается на оболочке, много его также в перивителлиновой жидкости и лишь 5—10% фосфора-32, усвоенного из воды, попадает в развивающийся эмбрион. Видимо, отложенная икринка имеет большой запас необходимых для развития фосфорных соединений, а интенсивность усвоения фосфора так высока, что часть его задерживается на оболочке и в перивителлиновой жидкости и не утилизируется сразу в момент поступления.

В первые 10 дней развития 20—30% углерода-14 (см. рис. 3, е) задерживается оболочкой, около 30% зарегистрировано в перивителлиновой жидкости и лишь 10% содержится в эмбрионе. Во второй период развития на оболочке регистрируется около 10% всего усваиваемого элемента, такое же количество содержится в перивителлиновой жидкости, остальные 80% идут в эмбрион и желток, причем на долю эмбриона падает около 15—20%, а на долю желтка 55—56%. Вообще при исследовании распределения углерода-14 видно, что основная его масса на протяжении всего периода развития концентрируется в желтке, что имеет, конечно, определенный физиологический смысл.

Сравнение рис. 3, д и 3, е показывает, что характер распределения фосфора и углерода в икре радужной форели различен. Следовательно, не только энергия излучения будет определять величину дозы облучения при инкубации икры в растворах фосфора-32 и углерода-14, но и локализация этих элементов в отдельных компонентах икринки.

АККУМУЛЯЦИЯ РАДИОИЗОТОПОВ В ИКРЕ ПРИ ИНКУБАЦИИ ЕЕ В РАДИОАКТИВНЫХ РАСТВОРАХ

Различия в величине усвоения икрой отдельных элементов отразились на степени аккумуляции их в икре в процессе инкубации в радиоактивных растворах.

Было установлено, что икра форели, инкубирувавшаяся в пресной воде, аккумулирует очень большое количество фосфора-32 и стронция-89, значительно меньшее количество кальция-45 и углерода-14 (рис. 4), что вполне согласуется с данными по интенсивности усвоения этих элементов. В первые 10—12 дней развития уровень радиоактивности икры резко повышается за счет того, что процесс усвоения превалирует над процессом выделения, затем до конца инкубации уровень радиоактивности не изменяется. Видимо, наступает равновесие между процессами усвоения и выделения радионуклидов. Г. Г. Поликарпов [5] характеризует его как период, когда достигнут коэффициент насыщения гидробионта данным радионуклидом.

При инкубации икры бычка-кругляка в радиоактивных растворах на первом месте по степени аккумуляции стоит стронций-89, высока также степень аккумуляции и углерода-14, меньше всего аккумулируется в икре бычка кальция-45 (рис. 5), что можно объяснить боль-

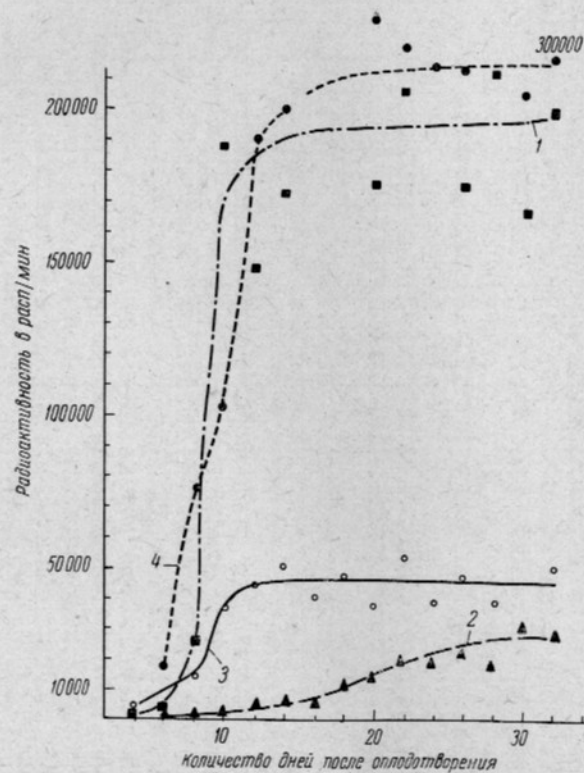


Рис. 4. Аккумуляция радионуклидов икрой форели при инкубации ее в растворах активностью $5 \cdot 10^{-5}$ кюри/л. Условные обозначения те же, что на рис. 1.

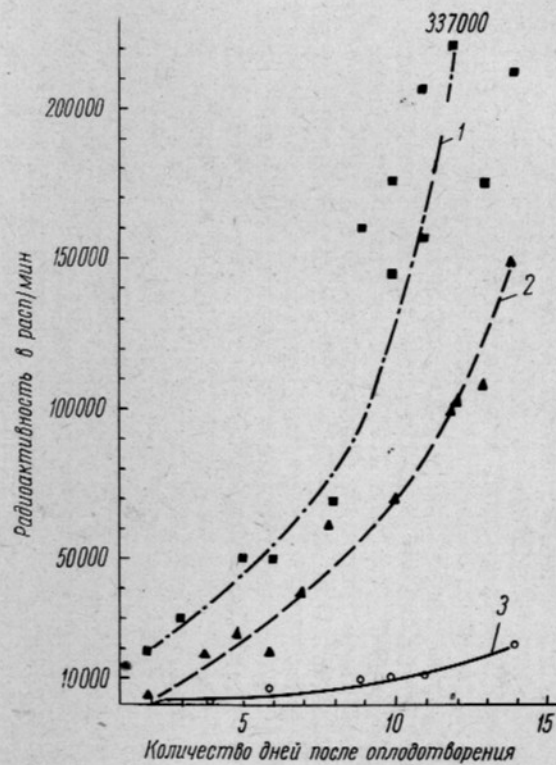


Рис. 5. Аккумуляция радионуклидов икрой бычка при инкубации ее в растворах активностью $5 \cdot 10^{-5}$ кюри/л. Условные обозначения те же, что на рис. 1.

шим количеством стабильного кальция в морской воде. В отличие от икры форели в икре бычка на всех исследованных стадиях развития усвоение превалирует над выделением и до самого момента выклева коэффициента насыщения не наблюдается.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В период эмбриогенеза наблюдается усвоение икрой ряда растворенных в воде элементов. Интенсивность усвоения меняется в процессе развития, следовательно, это физиологический процесс, в значительной мере обусловленный потребностью развивающегося организма в веществах, необходимых для построения органов и тканей. Большинство усвоенных из воды элементов концентрируется в желточной массе, откуда впоследствии они могут быть использованы при развитии эмбриона. Таким образом, аккумуляция в икре радиоизотопов создает, кроме внешнего облучения, дополнительный источник внутреннего облучения развивающегося эмбриона.

ЛИТЕРАТУРА

1. Богоявленская М. П. Изучение кальциевого обмена с целью использования Ca^{45} в качестве метки для рыб. Изд-во журнала «Рыбное хозяйство», 1959.
2. Закутинский Д. И., Парфенов Ю. Д., Селиванова Л. Н. Справочник по токсикологии радиоактивных изотопов. Медиздат, 1962.
3. Зотин А. И. Физиология водного обмена у зародышей рыб и круглоротых. Изд-во АН СССР, 1961.
4. Иванов В. Н. Накопление осколочных радионуклидов икрой черноморских рыб. «Радиобиология», Т. 5. Вып. 2, 1965.
5. Поликарпов Г. Г. Радиоэкология морских организмов. М., Атомиздат, 1964.
6. Поликарпов Г. Г., Иванов В. Н. О действии Sr^{90} — Y^{90} на развивающуюся икру хамсы. «Вопросы ихтиологии», Т. 1. Вып. 3 (20), 1961.
7. Поликарпов Г. Г., Иванов В. Н. Накопление радиоизотопов стронция и иттрия икрой морских рыб. «Радиобиология», Т. 2. Вып. 2, 1962.
8. Шеханова И. А. Изучение фосфорного обмена у молоди карповых и осетровых рыб с применением радиоактивного фосфора. Изд-во журнала «Рыбное хозяйство», 1959.