

УДК 597.553.2 : 597-13 : 551.464 : 539.16

**ВЛИЯНИЕ АКТИВНОЙ РЕАКЦИИ СРЕДЫ
НА ЭМБРИОНАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ ФОРЕЛИ
ПРИ РАДИАЦИОННОЙ НАГРУЗКЕ**

Л. Б. Кляшторин, И. А. Шеханова

Одним из существенных показателей разного рода неблагоприятных воздействий на развивающуюся икру рыб является индекс выживаемости эмбрионов. Этот же показатель используется при характеристике воздействия растворенных радионуклидов на эмбриональное развитие рыб.

Вопросу влияния малых доз ионизирующей радиации на эмбриональные стадии развития посвящен ряд работ как отечественных (Поликарпов, 1964; Шеханова, 1968; Федорова, 1964), так и зарубежных (Welander, 1954; Brown, Templeton, 1964) авторов. Но результаты экспериментов разных исследователей не одинаковы. Так, в работах Шехановой (1968), Федоровой (1964), а также Веландера (Welander, 1954) не обнаруживается достоверных различий в величинах смертности контрольных эмбрионов и опытных (активность раствора радионуклидов до $10^{-5} - 10^{-6}$ Ки*/л) эмбрионов. По данным других исследователей (Мигаловский, 1970; Поликарпов, 1962, 1964; Кошелева, 1971), жизнеспособность эмбрионов рыб снижалась уже при концентрации радионуклидов ($\text{Sr}^{90} - \text{Y}^{90}$, Cs^{137}) $10^{-8} - 10^{-10}$ Ки/л. Таким образом, уровни радиоактивности, при которых разные авторы обнаруживали (или не обнаруживали) летальные радиационные эффекты, различаются на 3—4 порядка (в 1000—10000 раз). Такие же различия выявляются при определении числа aberrантных анафаз в клетках эмбрионов рыб, развивающихся в растворах радионуклидов Sr, Cs, Pu и ряда других изотопов. Эти серьезные различия в данных исследований, по-видимому, можно объяснить особенностями методики учета хромосомных перестроек или неодинаковыми условиями экспериментов (температура, соленость, содержание кислорода, pH среды и т. п.). Вероятно, повреждения ядерного аппарата клеток, возникающие в клетках эмбриона под влиянием ионизирующего облучения, могут выявляться, вызывая гибель эмбрионов или оставаться в «скрытом» состоянии в зависимости от условий.

Для выявления подобных скрытых неблагоприятных изменений, вызванных хроническим облучением (или другими повреждающими агентами), используют метод функциональных нагрузок (Лукьяненко, 1968). Принцип этого метода состоит в том, что изменения условий существования организма (температуры, газового режима, pH среды) или повышение двигательной активности выступают в роли дополнительной нагрузки на физиологические системы животного. В результате

* Ки (кюри) в системе СИ = $3,7 \cdot 10^{10}$ с⁻¹.

этого скрытые, подпороговые сдвиги, не проявляющиеся при обычных условиях среды, могут быть выявлены и оценены.

Цель работы — выявить возможные скрытые патологические эффекты ионизирующей радиации в развивающейся икре форели. В качестве дополнительной (функциональной) нагрузки использовали изменение активной реакции (рН) инкубационной среды.

Икру форели (*Salmo clarkii*) получали из Чернореченского форелевого хозяйства. Через три дня после оплодотворения икру помещали в чашки Петри (по 80 шт. в чашку). В одни чашки заливали отстоянную водопроводную воду (контроль), в другие растворы Sr^{90} — Y^{90} активностью $1 \cdot 10^{-6}$ Ки/л, приготовленные на той же воде (опыт). Во второй серии чашек опытную и контрольную икру инкубировали при измененной и активной реакции среды. Икру инкубировали в термостате при температуре $10 \pm 1^\circ$. Воду с различными значениями рН готовили из отстоянной водопроводной воды, которую под контролем рН-метра ЛПУ-01 подщелачивали 2N раствором NaOH или подкисляли 2N раствором H_2SO_4 . Значение рН растворов контролировали с точностью до 0,05 рН. В инкубационной среде части чашек содержался Na_2SO_4 в концентрации 1, 0,5 и 0,1 г/л в качестве контроля на внесение ионов Na^{+1} или SO_4^{2-} при добавлении NaOH или H_2SO_4 для смещения рН среды. Относительно низкая токсичность ионов Na^{+1} и SO_4^{2-} определила выбор соответствующей щелочи и кислоты в качестве смещающих рН-агентов. Использование буферных систем сильно усложнило бы постановку опыта и потребовало бы большого числа контрольных вариантов для оценки токсичности вносимых соединений.

рН в чашках контролировали с помощью рН-метра дважды в течение суток непосредственно после смены инкубационного раствора и перед следующей сменой раствора. Значение рН в течение суток несколько смещалось:

| Исходное | Через сутки | Исходное | Через сутки |
|----------|-------------|----------|-------------|
| 0,6 | 0,6 | 7,7 | 7,7 |
| 2,0 | 3,1 | 9,0 | 8,9 |
| 3,0 | 4,9 | 10,3 | 9,1 |
| 4,6 | 6,5 | 12,0 | 10,6 |
| 6,0 | 7,4 | 12,9 | 12,5 |

Из приведенных данных видно, что рН смещается в сторону нейтрализации раствора. При этом следует учитывать, что выделяемые развивающейся икрой азотистые метаболиты, аммиак, мочевина и свободные аминокислоты оказывают буферное действие, нейтрализуя смещение активной реакции среды. Аналогичное буферное действие в щелочных растворах оказывает CO_2 воздуха и углекислота, выделяемая при дыхании икры. При дальнейшем обсуждении полученных данных используются как значения рН среды, полученные сразу после смены растворов, так и значения рН, полученные в результате изменений в конце суточного периода.

Данные опытов по выживаемости эмбрионов форели при совместном воздействии измененного рН среды и растворенных радионуклидов приведены на рис. 1.

Выживаемость икры зависит от активной реакции среды. Если рассматривать в качестве опорных точек значения рН исходных растворов, то пределы выживаемости икры форели лежат в диапазоне рН 4,0—10,5. За пределами этого диапазона смертность эмбрионов близка к 100%-ной, т. е. интервал значения рН определяет величину Cl_{100} . Если в качестве опорных точек использовать значение рН инкубационной

среды в конце суточных периодов (при смене растворов), то пределы выживаемости икры будут характеризоваться несколько более узким диапазоном значений рН — от 5—9,5. Если кривые выживаемости на рис. 1 пересечь прямой на уровне 50%-ной выживаемости икры форели, то можно получить три пары значений Cl_{50} . Максимальные значения этой величины соответствуют значениям рН 4 и 10,2, средние рН 5 и 9,5 и минимальные — рН 6 и 8,8. Можно полагать, что в наибольшей степени действительным значениям рН среды соответствуют концентрации водородных ионов, измеренные в конце суточного периода инкубации. Поэтому за пределы выживаемости икры форели может быть принята величина Cl_{50} , соответствующая рН 6 для кислой и рН 8,8 для щелочной среды. Из приведенной на рис. 1 кривой также видно, что интервал рН-оптимума для развития икры форели (когда смертность не превышает 15%) узок (6,5—8,5). Это указывает на малую мощность механизмов гомеостаза, способных поддерживать нормальную жизнедеятельность эмбрионов при изменении концентрации водородных ионов в среде.

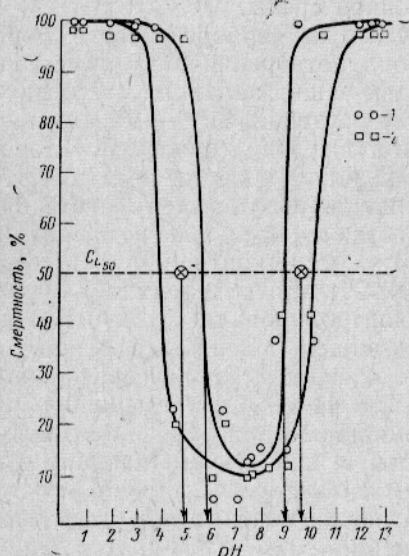


Рис. 1. Выживаемость эмбрионов форели в зависимости от рН среды:

1 — инкубация в радиоактивных растворах; 2 — контроль. Светлые фигуры измерение рН сразу после смены раствора, заштрихованные — измерение его в конце суток.

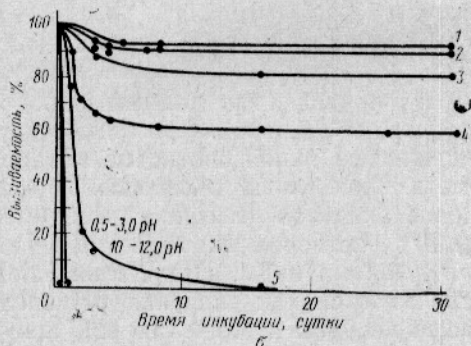
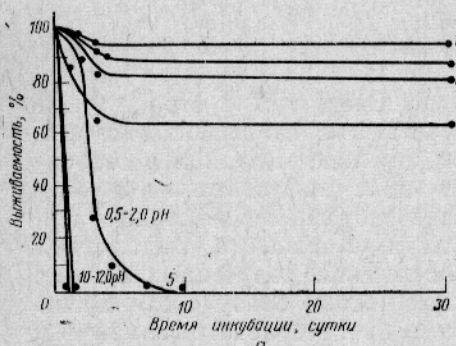


Рис. 2. Продолжительность жизни эмбрионов форели при различных значениях рН среды:

а — инкубация в растворах радиоактивного Sr^{90} активностью $1 \cdot 10^{-6}$ Ки/л: 1 — рН 1, 2 — рН 8,2, 3 — рН 6,5, 4 — рН 9,0, 5 — рН 4,9; б — контроль: 1 — рН 7,4, 2 — рН 7,7—8,3, 3 — рН 6,5, 4 — рН 9,0, 5 — рН 4,9.

Из рис. 1 можно также видеть, что кривые суммарной выживаемости икры форели, инкубируемой в растворах радионуклидов, при изменении рН не отличаются от кривых выживаемости икры форели в контроле (без радионуклидов). Статистическая обработка результатов суммарной (за весь срок инкубации) гибели икры при изменении рН и радиационной нагрузке и в контроле с использованием χ^2 -критерия

не выявила достоверных различий по этому показателю, полученному в разных вариантах опыта. У уродливых личинок после выклева в основном был нарушен осевой скелет. Процент уродливых личинок в контроле составил 4,2%, а в опыте (с добавлением радиоактивного Sr^{90} — Y^{90})—3,6%, что указывает на отсутствие достоверных различий и по этому показателю. Для сравнения динамики гибели эмбрионов в зависимости от pH среды служат графики, показанные на рис. 2, а и б, из которых видно, что при крайних значениях исследованного диапазона pH (2,6—10,5 и 0,5—3) контрольная и опытная икра гибнет в течение одних суток. При pH 4,6—4,9 время гибели половины эмбрионов не превышает трех суток как в опыте, так и в контроле. При pH от 6,5 до 8,3 динамика гибели контрольной икры идентична динамике гибели опытной икры.

Выводы

1. 100%-ная гибель эмбрионов форели наступает в течение 1—2 суток при значениях pH выше 10 и ниже 3.
2. Величина Cl_{50} для икры приближенно соответствует значениям pH среды 5,5—6 для кислых растворов и pH 8,8—9,2 для щелочных.
3. pH-оптимум развития икры форели находится в диапазоне pH 6,0—8,5.
4. Инкубирование икры форели при исследованных значениях pH в растворах Sr^{90} — Y^{90} активностью $1 \cdot 10^{-6}$ Ки/л не приводит к достоверному увеличению гибели или изменению длительности выживания эмбрионов по сравнению с контрольной икрой.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Кошелева В. В. О накоплении радиоактивных изотопов развивающейся икрой семги.—«Труды ПИНРО», 1971, вып. 29, с. 8—15.
- Лукьяненко В. И.—«Вестник ЛГУ. Серия биологическая», 1968, № 1 (3), 215 с.
- Поликарпов Г. Г. Радиоэкология морских организмов. М., Атомиздат, 1964, 212 с.
- Поликарпов Г. Г., Иванов В. Н. Повреждающее действие стронция-90—иттрия-90 на ранний период развития барабули, зеленушки и хамсы. ДАН СССР, 1962, 144, № 1, с. 219.
- Федорова Г. В. О действии Si^{90} на икру и личинки сига—лудог. «Вестник ЛГУ. Серия биологическая», 1963, № 3, вып. I, с. 48.
- Шеханова И. А., Печкуренок В. Л. Накопление растворенного в воде стронция-90 и его влияние на эмбриональное развитие выюна.—«Вопросы ихтиологии», 1968, № 8 (4), с. 689—701.
- Brown V. M., W. L. Templeton. Resistance of fish embryos to chronic irradiation. Nature, 1964, 203, p. 4951.
- Welander A. D. Some effects of x-irradiation on different stages of the trout (*Salmo gairdneri*). Growth, 1954, 18(4), p. 127.

SUMMARY

The eggs of rainbow trout were incubated in media with pH ranging from 0,6 to 12,5. In the tests where pH was less than 3 or higher than 10 the mortality rate of embryos constituted 100% within 1 or 2 days. When pH was in the range of 6,0—8,5 the mortality rate did not exceed 20% during the incubation period and embryos were normally hatched. The incubation of eggs in strontium-90—yttrium-90 solutions with the activity of 10^{-6} curie/l and pH within the investigated range does not bring about a higher mortality rate or changes in the survival rate of embryos as compared to the non-irradiated control.