

УДК 597.554.3 : 597-13 : 539.16

МОЩНОСТЬ ДОЗЫ ОБЛУЧЕНИЯ И СОМАТИЧЕСКИЙ МУТАГЕНЕЗ У ЭМБРИОНОВ РЫБ

В. Л. Печкуренков

Сопоставляя данные по острому и хроническому облучению икры рыб большого числа работ (Welander, 1954; Templeton, 1966; Нейфах, 1959; Беляева, Покровская, 1958; Прокофьева-Бельговская, 1961; Ромашов, Беляева, 1966; Поликарпов, Иванов, 1962; Поликарпов, Гамезо, 1966; Куликов, 1970; Тимофеева, Альшиц, 1970; Иванов, 1966, 1967; Цыцугина, 1971; Мигаловская, 1971; Шеханова, Печкуренков, 1968; Печкуренков, Шеханова, Тельшева, 1972; Печкуренков, 1970; Bonham, Donaldson, 1966, 1970), можно сделать вывод о том, что на ранних стадиях развития икра рыб более чувствительна к воздействию облучения и что хроническое облучение развивающейся икры от инкорпорированных радионуклидов во много раз эффективнее острого рентгеновского облучения. В большей части экспериментов использованы $\text{Sr}^{90}\text{—Y}^{90}$; энергия β -частиц этих радионуклидов меньше 3 мэв*), а в этом случае относительная биологическая эффективность излучения (по сравнению с рентгеновским облучением) равна 1 (Верховская, 1955). Влияние распада атомов радионуклидов, включенных в хромосомы, настолько мало, что им можно пренебречь (Oliver, 1968) и данные о том, что тысячные доли рада** при хроническом облучении дают тот же эффект, что и 300—500 Р при остром облучении, противоречат данным о снижении эффекта при пролонгировании дозы.

Наши данные (1970, 1972), полученные в экспериментах на икре вьюна с использованием $\text{Sr}^{90}\text{—Y}^{90}$ и Pu^{239} , показали, что количество хромосомных aberrаций у опытных личинок вьюна становится достоверно больше, чем у контрольных, только при инкубации икры в растворе $\text{Sr}^{90}\text{—Y}^{90}$ активностью $2 \cdot 10^{-3}$ Ки***/л (доза примерно 1000 рад за 100 ч).

Установлено, что при хроническом облучении дозой малой мощности выживаемость и выход хромосомных aberrаций определяются не только величиной, но и мощностью дозы (Глембоцкий, Ярмоненко, 1969; Mergen, Thelges, 1967; Дубинин, Шевченко и др., 1972). Известно, что выход двуударных aberrаций снижается при уменьшении мощности дозы (Ли, 1963). Корогодин (Хуг и Келлерер, 1969, примечание на с. 41) считает, что эффект может зависеть от мощности дозы даже в случае одноударных реакций, если пострадиационное восстановление достаточно эффективно. Все это позволило Глембоцкому и Ярмоненко (1969) высказать предположение о существовании пороговой величины дозы и мощности дозы, которые практически не приводят к повышен-

* эВ (электровольт) в системе СИ = $1,60210 \cdot 10^{-19}$ Дж.

** Рад в системе СИ = 0,01 Дж/кг.

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

ному выходу хромосомных aberrаций в опыте по сравнению с контролем. Данные Брауна (Brown, 1964), Филлипса и Скарле (Phillips, Scarle, 1964) по облучению нескольких поколений мышей и крыс и данные Бонхема и Дональдсона (1966, 1970) по облучению икры и личинок нескольких поколений тихоокеанских лососей подтверждают это положение.

Мы пытались: 1) сравнить радиочувствительность стадий эмбриогенеза рыб при хроническом облучении икры от инкорпорированного Sr^{89} , внешнем γ -облучении с малой мощностью дозы и острым рентгеновском облучении примерно равными дозами; 2) определить существование пороговой мощности дозы для образования хромосомных aberrаций у эмбрионов рыб и оценить ее примерную величину.

Радиочувствительность рыб на разных стадиях эмбриогенеза и эффективность остро и хронического облучения. Многочисленные эксперименты по острому облучению икры рыб (Welander, 1954; Нейфах, 1959; Templeton, 1966) показывают, что на ранних стадиях развития она более чувствительна к облучению, чем на поздних. В экспериментах с использованием Ce^{144} это подтвердил Иванов (1966); наши данные (1970, 1972) не позволяли подтвердить этот вывод, поэтому мы поставили три эксперимента на икре вьюна (*Misgurnus fossilis* L.).

Первый эксперимент. Икру вьюна от четырех пар производителей (четыре повторности) инкубировали в растворе Sr^{80} активностью $1 \cdot 10^{-2}$ Ки/л и в отстоявшейся водопроводной воде при температуре 19—21°С. Коэффициент накопления Sr икрой вьюна поддерживался на постоянном уровне в ходе эмбриогенеза (Шеханова, Печкуренок, 1968), что обеспечивало постоянство мощности дозы на всех стадиях эмбриогенеза. Опыт длился 101 ч. В каждой повторности инкубировалось по 100 икринок в бюксах в 5 см³ раствора радионуклида или воды, которые меняли 2 раза в сутки, погибшую икру также отбирали 2 раза в сутки. Перед опытом поверхность бюксов насыщалась Sr^{89} . Радиометрия проводилась на установке Б-3 с малофононовой приставкой УМФ-1500 с использованием фильтров из фольги. По данным радиометрии, мощность дозы равнялась примерно 80 рад/ч. Было поставлено пять вариантов опыта, в каждом из которых икру инкубировали в растворе Sr^{89} : 1) со стадии морулы (6 ч после оплодотворения) до выклева (101 ч после оплодотворения); 2) со стадии ранней гаструлы (12 ч после оплодотворения) до выклева; 3) со стадии закрытия blastopora (28 ч после оплодотворения) до выклева; 4) со стадии «вращающийся зародыш» (73 ч после оплодотворения) до выклева; 5) для определения количества погибшей икры и уродливых личинок в каждой повторности в двух бюксах (проверка воспроизводимости данных) инкубировали по 100 икринок от стадии морулы до выклева.

Оценка проводилась по количеству икры, погибшей за время инкубации, по количеству личинок с тяжелыми уродствами и с нарушениями осевого скелета, по количеству анафаз с хромосомными aberrациями и величине митотического индекса в тканях эмбрионов. В опыт брали икру хорошего качества (правильно дробящихся икринок было более 85%), неправильно дробящихся икринок не отбирали, так как качество перемешивания перед распределением по вариантам опыта проверялось воспроизводимостью данных как в опыте, так и в контроле по каждой повторности в пятом варианте опыта. Для цитогенетического анализа икру и личинки фиксировали по Карнуа и окрашивали ацетокармином. Варианты опыта и сроки фиксации были выбраны таким образом, чтобы можно было оценить выход хромосомных aberrаций во время дробления, в начале органогенеза и перед выклевом. Величину

митотического индекса и количество aberrантных анафаз в каждом варианте опыта на время фиксации определяли по двум-четырем эмбрионам в каждой повторности, осредняли на точку фиксации по повторностям в варианте опыта, а затем осредняли на точку фиксации для варианта опыта. Таким образом, на точку фиксации в каждом варианте опыта изучали 8—12 эмбрионов. Митотический индекс у эмбрионов оценивали на основании просмотра 300 клеток, количество aberrантных анафаз просмотром 60—100 анафаз. Количество погибшей икры, уродливых личинок, величина митотического индекса и количество aberrантных анафаз выражались в процентах. Каждый вариант опыта по каждому показателю сравнивали с контролем по критерию Колмогорова — Смирнова (χ^2 -критерий) по повторностям. Данные по величине икры и уродствам личинок (табл. 1) по каждой повторности опыта сравнивали с контролем как выборочные доли, при этом величину показателя в % выражали в радианах ($\varphi = 2 \arcsin \sqrt{P}$, где P — показатель, %) с целью нормализации (Урбах, 1964). Данные по величине митотического индекса и количеству aberrантных анафаз, осредненные по вариантам опыта на точку фиксации, также выражали в радианах и сравнивали с контролем как выборочные доли. При этом количество просмотренных клеток принималось равным среднему количеству клеток, просмотренных у одного эмбриона. Различия считались достоверными на уровне 0,05.

Таблица 1

Количество погибшей икры и личинок при инкубации икры выюна в растворе Sr^{89} активностью $1 \cdot 10^{-2}$ Ки/л. %

Показатели	Икра				Личинки							
					тяжелые уродства				нарушение осевого скелета			
	Повторность опыта											
	первая	вторая	третья	чет- вертая	первая	вторая	третья	чет- вертая	первая	вторая	третья	чет- вертая
Опыт	9	21	16	11,5	2,7	8,2	0,6	2,8	2,1	25,5	2,3	3,4
Контроль	8	11	15	12,5	5,5	8,9	2,9	1,1	4,8	3,3	2,3	4,6
Достоверность различий												
по выборочным долям	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—
по χ^2 -критерию	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Примечание. «—» — различия недостоверны; «+» — различия достоверны.

Из данных табл. 1 видно, что количество погибшей икры и уродливых личинок в растворе Sr^{89} достоверно не отличается от контроля.

Величина митотического индекса и количество aberrантных анафаз в тканях эмбрионов на разные сроки фиксации по вариантам опыта приведены в табл. 2.

Из табл. 2 видно, что по митотическому индексу все опытные эмбрионы не отличаются от контрольных, т. е. темп деления клеток при хроническом облучении дозой малой мощности не изменяется. Количество aberrантных анафаз у эмбрионов из первого и второго вариантов опыта до органогенеза хотя и выше, чем у контрольных, но досто-

верно от него не отличается. Различий между этими вариантами также нет, хотя икра во втором варианте опыта получила дозу на 480 рад меньше, чем икра в первом варианте опыта. Количество aberrантных анафаз у эмбрионов в третьем варианте за первые 26 ч органогенеза

Таблица 2

Митотический индекс и количество aberrантных анафаз у эмбрионов вьюна в разных вариантах опыта, %

Варианты опыта	Средняя гастрולה	Закрытие бластопора	Начало сегментации хвоста	Начало формирования	Вращающийся зародыш	Личинки	
						Время фиксации после оплодотворения	
						25	28
Митотический индекс							
1	5,8	3,9	3,1	2,9	2,8	2,7	2,3
2	6,2	3,2	3,1	3,1	2,9	2,7	2,2
3	—	3,7	3,8	2,2	3,0	2,3	2,3
4	—	—	—	—	3,2	2,5	3,0
Контроль	5,8	3,7	3,7	2,9	3,2	2,2	2,4
Aberrантные анафазы							
1	9,5	12,5	16,5+	23,6+	29,3+	34,4+	41,0+
2	12,2	10,7	15,5+	23,0+	28,7+	35,1+	42,3+
3	—	4,3	10,3	18,8+	27,2+	39,6+	43,2+
4	—	—	—	—	4,7	5,0	21,7+
Контроль	5,7	4,3	2,9	3,0	4,7	5,6	4,0

Примечание. «+» — различия с контролем достоверны.

достигает величины, достоверно не отличающейся от количества aberrантных анафаз у эмбрионов в первом и втором вариантах опыта. По данным табл. 2 были рассчитаны методом наименьших квадратов (Румшинский, 1971) уравнения линейной регрессии количества aberrантных анафаз от времени после начала инкубации в растворе Sr⁸⁹. Для первого и второго вариантов (оптимальная степень многочлена равна 1) уравнение имеет вид:

$$y = 0,5x - 6,4,$$

где y — процент aberrантных анафаз;

x — время развития, ч;

для третьего варианта на отрезке 28—54 ч уравнение имеет вид:

$$y = 0,8x - 22,2.$$

На отрезке 54—101 ч

$$y = 0,5x - 6,4.$$

Для четвертого варианта на отрезке 78—101 ч уравнение имеет вид:

$$y = 0,7x - 77.$$

Коэффициенты линейной регрессии представляют среднюю скорость накопления aberrантных анафаз по стадиям эмбриогенеза. В первом и втором вариантах эта скорость одинакова, а в третьем (на участке 28—54 ч) и в четвертом вариантах она достоверно выше (0,8 и 0,7 достоверно больше 0,5). Это совпадает с данными М. Б. Королева и А. А. Нейфаха (1965), которые нашли, что облучение в период

интенсивной дифференцировки тканей сказывается на их развитии в гораздо большей степени, чем в тот момент, когда дифференцировка еще не наступила. Следует отметить снижение скорости накопления aberrантных анафаз в тканях эмбрионов вьюна в третьем варианте опыта, когда количество aberrантных анафаз у них достигает такого же уровня, как в первом и втором вариантах. Это снижение скорости накопления aberrантных анафаз отчетливо прослеживается у всех просмотренных эмбрионов третьего варианта во всех повторностях опыта. Создается впечатление, что в данном случае достигается какой-то «разрешенный» уровень aberrантных анафаз, поддерживаемый, по-видимому, элиминацией клеток с хромосомными aberrациями. Количество хромосомных aberrаций у личинок из первого, второго и третьего вариантов опыта практически одинаково, хотя они получили соответственно дозы по 8000, 7500 и 5600 рад. Это свидетельствует о том, что клетки с хромосомными aberrациями элиминируются достаточно интенсивно; можно полагать, что почти все клетки с хромосомными aberrациями, возникшими в первые часы облучения, элиминируются за несколько клеточных делений.

Однако вывод о пониженной радиочувствительности икры на стадии дробления к хроническому облучению следует делать с осторожностью, так как может иметь место так называемый продленный мутагенез, когда возникающие первичные повреждения могут реализовываться через несколько циклов клеточного деления. В эксперименте это не было проверено из-за невозможности быстрого выведения радионуклида из развивающейся икры и прекращения облучения, а проверялось при γ -облучении икры вьюна на разных стадиях развития.

Второй эксперимент. Во втором эксперименте икра вьюна подвергалась внешнему γ -облучению от источника Cs^{137} . Предварительно было выяснено, что γ -облучение икры вьюна в течение всего периода эмбрионального развития при мощности дозы 4 Р/ч приводит к достоверному повышению количества aberrантных анафаз у выключившихся личинок без увеличения количества aberrантных анафаз на стадиях дробления по сравнению с контролем. Такие же данные были получены при инкубации икры вьюна в растворе $Sr^{90}-Y^{90}$ активностью $2 \cdot 10^{-3}$ Ки/л (1972). Поэтому в основном опыте облучение проводилось от того же источника Cs^{137} при мощности дозы 10 Р/ч. Облучалась икра, полученная от двух пар производителей вьюна (опыт имел две повторности). Показатели, использовавшиеся для оценки влияния облучения, были те же, что и в первом опыте. Опытные и контрольные варианты в двух повторностях сравнивали как выборочные доли. Выводы о влиянии облучения делали на основании сравнения данных по двум повторностям.

В опыте было четыре варианта: 1) икра облучалась со стадии 16 бластомер до средней гастролы в течение 19 ч при температуре $16^{\circ}C$ и получила дозу 190 Р; 2) икра облучалась со стадии средней гастролы до начала сегментации туловищного отдела зародыша в течение 25 ч при температуре $16^{\circ}C$ и получила дозу 250 Р; 3) икра облучалась со стадии начала сегментации туловищного отдела зародыша до стадии вращающегося зародыша в течение 25 ч при температуре $17^{\circ}C$ и получила дозу 250 Р; 4) икра облучалась в последние 24 ч перед выклевом при температуре $17^{\circ}C$ и получила дозу 240 Р.

В табл. 3, 4, 5 приводятся данные этого опыта по количеству погибшей икры, уродливых личинок и aberrантных анафаз у эмбрионов после облучения и у выключившихся личинок.

Половина икры сразу после облучения взята для другого экспери-

Гибель икры

Варианты опыта	Первая повторность				Вторая повторность				
	опыт		контроль		опыт		контроль		
	количество икры, шт.	процент погибшей икры	количество икры, шт.	процент погибшей икры	количество икры, шт.	процент погибшей икры	количество икры, шт.	процент погибшей икры	
В ходе облучения									
1	210	3,8	105	2,9	210	5,2	105	4,8	
2	196	3	102	3,9	203	6,4	100	6	
3	198	0	98	0	187	1,1	94	0	
4	186	0	98	0	184	0	94	0	
После облучения									
1	91	3,3	102	3,9	88	2,3	100	6	
2	85	0	98	0	85	0	94	0	
3	99	0	98	0	93	0	94	0	
4	98	0	98	0	97	1	94	0	

Таблица 4

Количество уродливых личинок

Варианты опыта	Первая повторность						Вторая повторность					
	опыт			контроль			опыт			контроль		
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>v</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>v</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>v</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>v</i>
1	88	0	1,1	98	1	0	86	3,5	5,8	94	3,2	10,6
2	85	0	3,5	—	—	—	85	5,9	9,4	—	—	—
3	89	0	2,2	—	—	—	83	4,8	6	—	—	—
4	98	0	1	—	—	—	96	8,3	7,3	—	—	—

Примечание. *a* — количество личинок шт. *b* — тяжелые уроды, %; *v* — нарушение осевого скелета, %.

мента. Указано среднее количество анафаз, просмотренное у одного эмбриона. Данные по повторностям объединены.

Данные по величине митотического индекса не приводятся, так как ни в одном варианте опыта они не отличались от контроля. Из табл. 3 и 4 видно, что и количество погибшей икры, и количество уродливых личинок во всех вариантах опыта было таким же, как в контроле.

Количество aberrantных анафаз в тканях эмбрионов сразу после облучения (см. табл. 5) представляют собой ту же картину, что и в эксперименте по инкубации икры в растворе Sr⁸⁹. Количество aberrantных анафаз у эмбрионов на стадии средней гастролы так же, как и в предыдущем опыте, варьировало от 6 до 19%. Сравнивая количество aberrantных анафаз в тканях эмбрионов сразу после облучения и у выклюнувшихся личинок по вариантам опыта, можно видеть, что в первом варианте опыта у облученных личинок количество aberrantных анафаз статистически незначительно больше, чем у эмбрионов сразу после облучения, однако если сопоставить это с заметным уменьшением количества aberrantных анафаз в контроле, то приходится признать, что облучение либо снизило темпы элиминации пораженных клеток или хромосом, либо это следует приписать продленному мутагенезу. Во втором варианте опыта количество aberrantных анафаз у личинок почти в 2 раза меньше, чем у эмбрионов сразу после облу-

чения, причем это снижение произошло как за счет фрагментов, так и за счет хроматидных мостов и полумостов. В третьем варианте в отличие от второго варианта у личинок заметно повышается количество aberrантных анафаз. Объяснить это мы не можем. Во всяком случае из данных табл. 5 можно видеть, что количество потенциальных поврежденных хромосом, возникающее на стадиях дробления, не меньше, чем на стадиях органогенеза, но, по-видимому, скорость их реализации меньше.

Таблица 5

Количество анафаз с хромосомными aberrациями в тканях эмбрионов

Варианты опыта	Аберрантные анафазы			
	сразу после облучения		у личинок	
	количество просмотренных анафаз на эмбрион, шт.	процент aberrантных анафаз	количество просмотренных анафаз на личинку, шт.	процент aberrантных анафаз
Первый	115	7,2	115	12*
	111	5,9	102	1,5
Второй	135	17,8*	115	9,1*
	75	4	103	2,9
Третий	165	14,5	95	22
	153	2	102	2
Четвертый	—	—	103	13*
			104	3,8

* Различия с контролем достоверны.

к Примечание. В числителях данные опыта, в знаменателях — контрольные.

Данные описанных выше экспериментов противоречат данным экспериментов по острому облучению икры рыб, показывающим более высокую радиочувствительность икры рыб на ранних стадиях развития. В связи с этим был поставлен эксперимент по острому рентгеновскому облучению икры вьюна на ранних и поздних стадиях развития.

Третий эксперимент. Икру вьюна от трех пар производителей (три повторности) облучали на стадии ранней морулы (через 4 ч после оплодотворения) и на стадии вращающегося зародыша (за сутки до выклева) дозой 300 Р (установка РУП-200 без фильтра, мощность дозы 260 Р/мин). Развитие проходило при температуре 21—22°C. Количество погибшей икры и уродливых личинок оценивали и сравнивали с их количеством в контроле так же, как в предыдущем эксперименте. Для цитогенетического анализа фиксировали на стадии средней гастрюлы эмбрионы, облученные на стадии морулы, и личинки двух вариантов опыта. Опытные данные сравнивали с контрольными так же, как в предыдущем эксперименте.

Данные по количеству погибшей икры, уродливых личинок и количеству aberrантных анафаз у эмбрионов и личинок в вариантах опыта приведены в табл. 6 и 7. Величина митотического индекса ни в одном из опытных вариантов не отличалась от контроля.

Как видно из данных табл. 6 и 7, ничего принципиально нового по сравнению с ранее полученными данными по острому облучению икры вьюна (Ромашов, Беляева, 1966) обнаружить не удалось. Облу-

Таблица 6

Количество погибшей икры, уродливых личинок и аберрантных анафаз у эмбрионов и личинок после облучения на стадии морулы, %

Повторность	Икра		Личинки			Количество аберрантных анафаз	
	общее количество	погибшая	общее количество	тяжелые уроды	уроды с нарушением осевого скелета	средняя гастрולה	личинки
1	221	14,0	181	7,4	2,3	5,7	2,6
	$\frac{185}{165}$	$\frac{16,8}{21,7+}$	$\frac{151}{126}$	$\frac{21,5+}{24,3+}$	$\frac{8,4+}{9,1+}$	$\frac{22,0+}{25,5+}$	$\frac{13,4+}{16,4+}$
2	230	11,0	195	15,2	1,9	5,6	2,4
	$\frac{165}{165}$	$\frac{21,7+}{11,2}$	$\frac{126}{135}$	$\frac{24,3+}{25,8}$	$\frac{9,1+}{15,2}$	$\frac{25,5+}{23,0+}$	$\frac{16,4+}{18,2+}$
3	162	5,4	148	22,8	9,1	5,3	2,3
	$\frac{165}{165}$	$\frac{11,2}{11,2}$	$\frac{135}{135}$	$\frac{25,8}{25,8}$	$\frac{15,2}{15,2}$	$\frac{23,0+}{23,0+}$	$\frac{18,2+}{18,2+}$

Примечания: 1. „+“ — различия с контролем достоверны.

2. В числителе контрольные данные, в знаменателе — опытные

чение икры на ранних стадиях развития приводит к повышенному выходу уродливых личинок, а облучение ее на поздних стадиях развития — нет. Хромосомные перестройки в клетках образуются гораздо быстрее, чем при хроническом облучении (данные первого и второго экспериментов). Однако тот факт, что при облучении икры на поздних стадиях развития количество погибшей икры и уродливых личинок не увеличивается, еще не говорит о более низкой чувствительности к облучению икры на этих стадиях развития. Известно (Королев, Нейфах, 1965), что клетки дифференцирующихся тканей более чувствительны к облучению. По-видимому, это объясняется тем, что РНК, программирующие синтез белков, необходимых для данной стадии развития, синтезируются генами задолго до этой стадии (Девидсон, 1972). Острое облучение икры на ранних стадиях развития поражает гены, программирующие синтез белков, необходимых уже в раннем органогенезе, а облучение ее на стадиях органогенеза поражает гены, программирующие развитие более поздних этапов онтогенеза, которые мы не анализируем.

Таблица 7

Количество погибшей икры, уродливых личинок и аберрантных анафаз у личинок, облученных за сутки до выклева, %

Повторность	Икра		Личинки			Количество аберрантных анафаз
	общее количество	погибшая	общее количество	тяжелые уроды	уроды с нарушением осевого скелета	
Первая	182	0,8	181	7,4	2,3	2,6
	192	0,6	191	9,2	4,2	13,9*
	196	0,8	195	15,2	1,9	2,4
Вторая	161	0,9	160	16,2	3,7	15,9*
	149	0,3	148	22,8	9,1	2,3
Третья	163	0,3	162	16,4	8,1	17,9*

* Различия с контролем достоверны.

Примечание. В числителе — контрольные данные, в знаменателе — опытные.

Различия в воздействии острого и хронического облучения в этом случае, видимо, можно полностью объяснить эффектом мощности дозы: вероятность поражения генов, контролирующих какой-то определенный этап дифференцировки, выше при облучении дозой высокой мощности. При облучении той же дозой низкой мощности эффект как бы сглаживается даже при дозах очень большой величины (эксперимент по инкубации икры вьюна в растворе Sr^{89}).

Пороговая мощность дозы для образования хромосомных перестроек у рыб. Наши предыдущие эксперименты (1970, 1972) показали, что количество клеток с хромосомными aberrациями достоверно повышается у личинок вьюна только в результате инкубации икры в растворе Sr^{90} — 1^{90} активностью $2 \cdot 10^{-3}$ Ки/л и не повышается при инкубации икры в растворах более низкой активности. Тимофеева и Альшиц (1971) нашли, что количество клеток с хромосомными aberrациями начинает повышаться по сравнению с контролем в результате инкубации икры щуки в растворе активностью $n \cdot 10^{-7}$ Ки/л и выше; Мигаловская (1970) нашла, что для лосося активность раствора должна быть не ниже $2 \cdot 10^{-5}$ Ки/л. Все эти авторы в принципе признают наличие пороговости эффекта (судя по их данным). Цыцугина (1972) находит повышенные количества клеток с хромосомными aberrациями у эмбрионов рыб, инкубированных в растворах активностью $n \cdot 10^{-10}$ Ки/л (при дозах около 0,001 рад).

По-видимому, можно говорить о двух способах поражения хромосом: 1) трансмутация включенных в хромосому радионуклидов; 2) попадание ионизирующей частицы в хромосому (даже при рентгеновском облучении — Тимофеев-Рессовский, Иванов, Корогодин, 1968). Влияние радиотоксинов при таких небольших дозах вряд ли ощутимо. Попытаемся оценить эти способы.

По данным Оливера (1968), влияние трансмутации включенных трития и углерода настолько мало, что ими можно пренебречь. Оценим вероятность включения в хромосому и распада за время митоза (1 ч) атома Sr^{90} . Если допустить, что вероятность включения атома Sr как аналога кальция в хромосому клетки и в другие органеллы клетки одинакова, то оценочная вероятность включения атома Sr^{90} в хромосому клетки будет равна:

$$P_{\text{вкл}} = \frac{56 V_{\text{хр}}}{V_{\text{ш}}} \cdot \frac{K_{\text{Sr}}}{K_{\text{Ca}}} \cdot \frac{K_{\text{Sr}^{90}}}{K_{\text{Sr}^{\text{ст}}}} \cdot \frac{1}{10},$$

где $P_{\text{вкл}}$ — вероятность включения атома Sr^{90} в хромосому клетки;

56 — количество хромосом в клетке вьюна;

$V_{\text{хр}}$ — средний объем хромосомы, мк^3 ;

$V_{\text{ш}}$ — объем шара, радиус которого (200 мк) равен половине длины пробега β -частицы Sr^{90} (Ли, 1963); половина длины пробега берется потому, что траектория β -частицы является ломаной линией, мк^3 ;

K_{Sr} — концентрация стабильного стронция и Sr^{90} в воде, мг/л;

K_{Ca} — концентрация Ca в воде, мг/л;

$K_{\text{Sr}^{\text{ст}}}$ — концентрация стабильного Sr в воде, мг/л;

$K_{\text{Sr}^{90}}$ — концентрация Sr^{90} в воде, мг/л;

$\frac{1}{10}$ — коэффициент дискриминации в накоплении Ca и Sr (Поликарпов, 1964).

Вероятность распада $P_{\text{расп}}$ включенного атома Sr^{90} за митотический цикл равна отношению длительности митотического цикла (1 ч) к средней продолжительности жизни атома 1,43 Т (ч) (Верховская и др.,

1955). Таким образом, вероятность включения атома Sr^{90} в хромосому клетки и распада его за митотический цикл равна:

$$P = P_{\text{вкл}} P_{\text{расп.}}$$

Принимаем, что: 1) радиус метафазной хромосомы вьюна равен 0,3 мкм, а средняя длина 7 мк (Панкова, 1963); 2) концентрация Са в воде равна 40 мг/л; 3) концентрация стабильного стронция в воде равна 0,2 мг/л; 4) количество Sr^{90} активностью 1 Ки равно 6,6 мг; 5) количество стабильного Sr на 1 Ки Sr^{90} в препарате равно 5,04 мг; 6) период полураспада Sr^{90} равен 25 лет (Верховская и др., 1955).

Данные расчетов вероятностей распада в течение митоза атомов Sr, включенных в хромосомы клетки, приведены в табл. 8. Если принять, что коэффициент накопления Sr сохраняется на одном уровне в ходе эмбриогенеза (Шеханова, Печкуренков, 1968) и равен примерно 5 и что икринка вьюна имеет массу 3 мг, то, используя метод расчета, предложенный нами (1970), можно рассчитать вероятность попадания β -частицы Sr^{90} в одну из хромосом клетки эмбриона вьюна, инкубирующегося в растворах разной активности (см. табл. 8).

Таблица 8

Вероятности распада атомов Sr^{90} , включенных в хромосомы клетки, и попадания в хромосомы клетки β -частицы, образовавшейся при распаде атома Sr^{90} , не включенного в хромосомы, за 1 ч

Активность раствора, Ки/л	Вероятность распада включенного в хромосомы атома Sr	Количество атомов Sr^{90} , распадающихся за 1 ч на одну икринку	Вероятность попадания в хромосомы клетки β -частицы от распавшегося атома Sr, не включенного в хромосомы
$1 \cdot 10^{-10}$	$2 \cdot 10^{-20}$	$4 \cdot 10^{-2}$	$8 \cdot 10^{-7}$
$1 \cdot 10^{-8}$	$2 \cdot 10^{-18}$	$4 \cdot 10^0$	$8 \cdot 10^{-5}$
$1 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-16}$	$4 \cdot 10^2$	$8 \cdot 10^{-3}$
$1 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-14}$	$4 \cdot 10^4$	$8 \cdot 10^{-1}$
$1 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{-12}$	$4 \cdot 10^6$	$8 \cdot 10^{+1}$

Совершенно ясно, что модели, по которым рассчитывались данные табл. 8, не полностью соответствуют реальности, и поэтому при расчетах может быть допущена какая-то ошибка. Даже если допустить, что ошибка занижает расчетные данные на два порядка, данные расчетов показывают, что роль распада атомов, включенных в хромосому, пренебрежимо мала по сравнению с ролью облучения β -частицами, образовавшимися при распаде атомов, не включенных в хромосомы, и что по механизму воздействия облучение от распадающихся инкорпорированных радионуклидов — β -излучателей вполне сопоставимо с внешним рентгеновским и γ -облучением.

Если учесть, что по данным Вольфа (Wolfs, 1966) 99% первичных повреждений хромосом восстанавливаются и не дают видимых aberrаций (при остром облучении), то легко подсчитать, что за 100 ч инкубации икры в растворе активностью $1 \cdot 10^{-10}$ Ки/л можно ожидать всего $8 \cdot 10^{-5}$ анафаз, в растворе активностью $1 \cdot 10^{-8}$ Ки/л — $8 \cdot 10^{-3}$, в растворе активностью $1 \cdot 10^{-6}$ Ки/л — $8 \cdot 10^{-1}$ анафаз с хро-

мосомными аберрациями. Эти количества достаточно хорошо укладываются в индивидуальные различия, поэтому данные авторов по увеличению количества погибшей икры, уродливых личинок и количества клеток с хромосомными аберрациями в результате инкубации икры в растворах указанной активности непонятны.

Если учесть, что при облучении дозой низкой мощности процессы восстановления первичных повреждений хромосом, по-видимому, идут с большей эффективностью, то пороговой мощностью дозы, видимо, следует считать такую, при облучении которой репарационные системы клетки должны работать с максимальной мощностью так, чтобы были репарированы за митотический цикл все потенциальные повреждения хромосом, во всяком случае, чтобы разница с контролем по количеству хромосомных аберраций не была статистически значимой даже при хромосомном облучении дозой такой мощности.

По нашим данным, полученным в опытах по инкубации икры выюна в растворах Sr^{90} — Y^{90} разной активности и по γ -облучению икры выюна в течение эмбрионального развития, мы могли считать, что пороговая мощность дозы, еще не приводящая к повышенному выходу хромосомных аберраций в клетках эмбрионов выюна, лежит в пределах 1—4 рад/ч (инкубация при температуре 16—18°C). Однако икра выюна инкубируется около 100 ч и получает в таких условиях дозу 100—400 рад, и если сопоставить полученные данные с данными по острому облучению икры выюна (Ромашов, Беляева, 1966; Беляева, Покровская, 1958), то трудно было решить, чем определяется эффект — суммарной дозой или мощностью дозы. Поэтому величину пороговой мощности дозы определяли на икре радужной форели (*Salmo gairdneri* *iridens*).

В этом опыте 50 икринок радужной форели подвергали γ -облучению от источника Ce^{137} при мощности дозы 4, 2 и 1 Р/ч в течение 30 суток со стадии пигментации «глазка» до выклева личинок при температуре 10°C. За это время эмбрионы получили дозы 3000, 1500 и 700 Р соответственно. Оценка проводилась по тестам, описанным выше, данные сравнивались по способу, описанному ранее. Ни по количеству погибшей икры и уродливых личинок, ни по величине митотического индекса ни один из вариантов опыта значимо не отличался от контроля. Количество анафаз с хромосомными аберрациями в плавниковой кайме личинок в разных вариантах опыта приводится в табл. 9.

Таблица 9

Количество анафаз с хромосомными аберрациями у личинок радужной форели в разных вариантах опыта

Варианты опыта	Мощность дозы облучения, Р/ч	Суммарная доза за время облучения, Р	Количество аберрантных анафаз, %
Первый	4	3000	19,6*
Второй	2	1500	1,8
Третий	1	700	3,7
Контроль	—	—	2,3

* Различия с контролем значимы.

По данным Прокофьевой-Бельговской (1961), при остром облучении икры лосося (*Salmo salar*) на ранних стадиях развития дозой 800 Р

количество анафаз с хромосомными aberrациями уже на стадии бластулы достигает 72,7%. Сравнивая эти данные с данными табл. 9, можно видеть, что эффект в значительной мере определяется мощностью дозы, и пороговая величина мощности дозы, вызывающая увеличение количества хромосомных aberrаций в данных условиях инкубации икры радужной форели, равна примерно 3 Р/ч.

Выводы

1. Полученные данные не позволяют с уверенностью подтвердить положение о повышенной чувствительности к облучению икры рыб на ранних стадиях развития в условиях хронического облучения. Этот вывод был сделан по данным экспериментов с острым облучением икры рыб, а воздействие хронического облучения дозы низкой мощности, по видимому, имеет свою специфику.

Выход структурных мутаций хромосом на ранних стадиях развития ниже, чем на стадиях органогенеза, что не отмечается в опытах с острым облучением.

2. Поражение хромосом за счет распада включенных в них радионуклидов пренебрежительно мало по сравнению с внешним по отношению к хромосоме облучением. Это позволяет приравнять по механизму влияния внешнее рентгеновское облучение к облучению от распадающихся инкорпорированных радионуклидов (с одинаковой относительной биологической эффективностью). Пороговая мощность дозы для образования хромосомных перестроек у эмбрионов рыб равна примерно 3 Р/ч.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Беляева В. Н., Покровская Г. Л. Нарушение митоза при рентгенизации ранних стадий развития икры вьюна. ДАН СССР, 1958, т. 119, № 2. 361 с.
- Верховская И. Н. и др. Метод меченых атомов в биологии. Изд. Московского университета, 1955, с. 1—452.
- Глембоцкий Я. Л., Ярмоненко С. П. Генетические эффекты малых доз ионизирующих излучений в половых и соматических клетках.— В сб.: «Современные проблемы радиационной генетики», М., Атомиздат, 1969. 135 с.
- Дэвидсон Э. Действие генов в раннем развитии. М., «Мир», 1972. 342 с.
- Иванов В. Н. Изменение радиочувствительности икры рыб в процессе ее развития.— «Гидробиологический журнал», 1966, т. 2, № 5. 79 с.
- Иванов В. Н. Действие радиоактивных веществ на эмбриональное развитие рыб.— «Вопросы биоокеанографии», Киев, «Наукова думка», 1967. 185 с.
- Королев М. Б., Нейфах А. А. Радиационное исследование морфогенетической функции ядер в тканевой дифференцировке раннего развития вьюна.— «Журнал общей биологии», 1965, т. 26, № 3, с. 41.
- Куликов Н. В. О действии радионуклидов на гидробионты.— В сб.: «Действие ионизирующих излучений на гидробионты и наземные растения». Труды Института экологии растений и животных. 1970, вып. 74, УФ АН СССР, с. 3.
- Ли Д. Е. Действие радиации на живые клетки. М., Госатомиздат, 1963. 288 с.
- Мигаловская В. Н. Хроническое воздействие стронция-90 + иттрия-90 на частоту хромосомных aberrаций в клетках зародышей семги.— «Труды ПИНРО», 1971, вып. XXIX, с. 74.
- Нейфах А. А. Использование метода радиационной инактивации ядер для исследования их функций в раннем развитии рыб.— «Журнал общей биологии», 1959, т. 20, № 3, с. 202.
- О генетических процессах в популяциях, подвергающихся хроническому воздействию ионизирующей радиации.— «Успехи современной генетики», 1972, т. 4, 170 с. Авт.: Н. П. Дубинин, В. А. Шевченко, А. Я. Алексеенок, Л. В. Черезанова, Е. М. Тищенко.
- Панкова Н. В. Изменения клеточного ядра на ранних стадиях развития вьюна.— «Цитология», 1963, т. 5, № 1, с. 36.
- Печкуренок В. Л. Возникновение хромосомных aberrаций у личинок вьюна,

развивающихся в растворах стронция-90 и иттрия-90 разной активности.— «Генетика», 1970, т. VI, № 10, с. 67.

Печкуренков В. Л., Шеханова И. А., Тельшева И. Г. Результаты исследования влияния хронического воздействия разных концентраций радионуклидов на эмбриогенез рыб.— «Труды ВНИРО», 1972, т. LXXXV, с. 9.

Поликарпов Г. Г., Иванов В. Н. Повреждающее действие стронция-90 и иттрия-90 на ранний период развития барабули, зеленушки, ставриды и хамсы. ДАН СССР, 1962, т. 144, № 1, с. 219.

Поликарпов Г. Г., Гамезо Н. В. О радиочувствительности икры морского ерша и морского карася (действие стронция-90 и иттрия-90).— «Гидробиологический журнал», 1966, т. 2, № 5, с. 66.

Прокофьева-Бельговская А. А. Радиационные поражения хромосом на ранних стадиях развития лосося.— «Цитология», 1961, т. 3, № 4, с. 437.

Поликарпов Г. Г. Радиэкология морских организмов. М., Атомиздат, 1964, 295 с.

Румшинский Л. З. Математическая обработка результатов эксперимента. М., «Наука», 1971. 192 с.

Ромашов Д. Д., Беляева В. Н. О сохранении радиационных повреждений хромосом в эмбриогенезе рыб.— «Генетика», 1966, № 4, с. 4.

Тимофеева Н. А., Альшиц Л. К. Влияние хронического облучения на развитие икры щуки *Esox lucius* L.— В сб. «Действие ионизирующих облучений на гидробионты и наземные растения». Труды института экологии растений, УФ АН СССР, Свердловск, 1970, вып. 74, с. 8.

Тимофеев-Ресовский Н. В., Иванов В. И., Корогодин В. И. Применение принципа попадания в биологию. М., Атомиздат, 1968. 225 с.

Урбах Ю. В. Биометрические методы. М., «Наука», 1964. 45 с.

Хуг О., Келлерер А. Стохастическая радиобиология. М., Атомиздат, 1969. 183 с.

Цыцугина В. Г. Действие инкорпорированных радионуклидов на хромосомный аппарат рыб. Влияние ионизирующей радиации на организм.— «Труды ПИРО», 1971, вып. XXIX, с. 128.

Шеханова И. А., Печкуренков В. Л. Накопление растворенного в воде стронция-90 — иттрия-90 и влияние его на эмбриональное развитие выюна.— «Вопросы ихтиологии», 1968, т. 8, вып. 4(51), с. 689.

Brown S. O. Effects of continuous low intensity radiation on successive generations of the albino rat. *Genetics*, 1964, v. 50, N 5, p. 28, part. 2.

Bonham, K., L. R. Donaldson. Low-level chronic irradiation of salmon eggs and alevins. *Disposal Radioactive Wastes into Seas, Oceans and Surface Waters*, Vienna, 1966, p. 869.

Donaldson L. R., K. Bonham. Effect of chronic exposure of chinook salmon eggs and alevins to gamma irradiation. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 1970, v. 99, N 1, p. 112.

Mergen F., B. A. Thielges. Radiation-induced damage in vegetative tissues of *Pinus rigida* Mill. *Cytologia*, 1967, v. 32, N 2, p. 248.

Oliver K. Some dosimetric and radiation protection aspects of cellular irradiation from incorporated radioactive materials. *Biol. Effects of Transmutation and Decay of Incorporated Radionuclides*. Vienna, 1968, p. 165.

Phillips R. Y. S., A. G. Scarle. The effect of dose rate on yield of translocations and dominant lethals following spermatogonial irradiation of mice. *Genet. Res.* 1964, v. 5, N 3, p. 468.

Templeton W. L. Resistance of fish eggs to acute and chronic irradiation. *Disposal Radioactive wastes into Seas, Oceans and Surface Waters*. Vienna, 1966, p. 847.

Welder A. D. Some effects of X-irradiation of different embryonic stages of the trout (*Salmo gairdneri*). *Growth*, 1954, v. 18, N 4, p. 227.

Wolff S. Repair of chromosomae damage. *Genetical Aspects of Radiosensitivity Mechanisms of repair*. Vienna, 1966, p. 1.

SUMMARY

The eggs of loach were incubated in a solution of strontium-89 and under chronic γ -radiation from the source of caesium-137. It was found that the rate of structural mutations in chromosomes at early stages of development is lower than at the stages of organogenesis. The observations on dead eggs and deformed larvae did not show any increased sensitivity in fish at early stages of development in the experiments conducted under chronic irradiation at a low rate of dose. The estimate made indicated that the role of transmutation of radionuclides included into chromosomes was neglectfully unimportant. It was ascertained that the threshold rate of dose needed for structural changes in chromosomes approximated 3 r/hr.