

УДК 597.554.3+597—13+ (577.472:539.16)

О ВЛИЯНИИ РАДИОАКТИВНОГО СТРОНЦИЯ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ДЫХАНИЯ ЭМБРИОНОВ ВЬЮНА

Л. Б. КЛЯШТОРИН, И. А. ШЕХАНОВА, А. А. ЯРЖОМБЕК

В литературе, посвященной воздействию растворенных радионуклидов на животных и в частности рыб, до сих пор мало данных о влиянии радиоактивных изотопов на физиологические показатели гидробионтов. Одним из важных показателей физиологического состояния рыб является уровень их общего обмена, о котором можно судить на основании результатов определения интенсивности дыхания. Использование этого критерия в радиобиологических исследованиях имеет несколько примеров. По интенсивности потребления кислорода развивающейся икрой судили о темпе развития эмбрионов вьюна после воздействия внешнего рентгеновского облучения большой мощности (Нейфах, 1960). Если воздействие больших доз облучения, выражающееся в разрушении ядерных структур, обнаруживается легко, то обнаружить влияние малых доз радиации более сложно. Стимулирующее действие радиоактивного загрязнения на дыхание эмбрионов атлантического лосося выявлено при инкубации икры в растворах Sr^{90} — Y^{90} (Неустроев, Подымахин, 1966). Специально поставленные нами эксперименты (Klyashtorin et al., 1970) по измерению интенсивности дыхания развивающейся икры вьюна и форели показали, что при активности радионуклидов стронция и плутония от 10^{-11} до 10^{-6} *кюри/л* достоверных изменений уровня общего обмена не наблюдается. Было высказано предположение, что при более высоких концентрациях радиоактивных изотопов удастся зафиксировать достоверные изменения общего обмена у эмбрионов рыб. Предлагаемая работа обобщает исследование по выявлению действия радиоактивного загрязнения на дыхание икры вьюна в широком диапазоне концентраций радионуклидов 10^{-10} — 10^{-3} *кюри/л*. Кроме того, были проведены эксперименты по инкубации икры вьюна в растворах смеси изотопов Sr^{90} — Y^{90} Pu^{239} и Cs^{137} общей активностью 10^{-10} и 10^{-6} *кюри/л*. Эти долгоживущие радионуклиды различаются по характеру излучения (α -, β - или γ -) и по интенсивности накопления и локализуются в различных структурах эмбриона. Оценка суммарного действия смеси этих радиоизотопов представляла большой интерес.

Икру вьюна (*Misgurnus fossilis*) получали от производителей, пойманных в водоемах Тамбовской области. Зрелые половые продукты рыб получали после стимуляции производителей гипофизарной инъекцией. После оплодотворения, проведенного в радиоактивных растворах, икру помещали в чашки Петри (по 250—300 икринок) и заливали радиоактивным раствором. Температура воды во время инкубирования икры была в пределах 17—20°С. Смену растворов и отбор погибшей икры производили два раза в сутки. Потребление кислорода развива-

ющейся икрой измеряли в аппарате Варбурга при 20° в сосудиках емкостью 15 мл. В каждый сосудик помещали от 300 до 100 икринок или личинок, добавляли раствор радиоактивного изотопа соответствующей концентрации до конечного объема 4 мл. При таких условиях интенсивность дыхания в расчете на одну икринку не зависит от количества икринок в сосуде (Нейфах, 1960). Измерение скорости дыхания проводили в течение 2—4 ч. Отсчеты снимали через 15—30 мин. Скорость потребления кислорода выражали в микролитрах O₂, поглощаемого 100 икринками в час. Среднюю интенсивность потребления кислорода эмбрионами на каждой стадии развития для каждой из самок вычисляли на основании 8—25 определений. В опытах было использовано 70 000 икринок от 32-х самок вьюна. Всего было сделано 1150 определений скорости потребления O₂ эмбрионами и личинками рыб. Сравнения этих величин с использованием критерия Стьюдента проводили только между показателями дыхания икринок, полученных от одной самки и находящихся на одной и той же стадии развития.

В результате обработки обширного материала (более тысячи определений) для контрольных и опытных групп икры были получены величины интенсивности потребления кислорода, на ряде стадий развития эмбриона (начало гастрულიции, средняя гастрולה, конец гастрულიции, стадия подвижного эмбриона и свободной личинки). Полученные результаты суммированы в таблице.

Сводка результатов экспериментов по дыханию икры вьюна в растворах изотопов разной активности

Показатели	И з о т о п ы									
	Pu ²³⁹			Pu ²³⁹ , Sr ⁹⁰ —Y ⁹⁰ , Cr ¹³⁷				Sr ⁹⁰ —Y ⁹⁰		
	10 ⁻¹¹	10 ⁻¹⁰	10 ⁻⁸	10 ⁻¹⁰	10 ⁻⁶	10 ⁻¹⁰	10 ⁻⁸	10 ⁻⁶	10 ⁻⁴	10 ⁻³
Актив- ность, кюри/л										
Число опытов	13	4	4	8	8	19	5	5	32	32
«Стиму- ляция» дыхания	1 (—)	1 (—)	0	1 (—)	1 (—)	0	1 (—)	0	11 (+)	10 (+)
«Угнете- ние» дыхания	0	1 (—)	1 (—)	1 (—)	1 (—)	1 (—)	0	0	1 (—)	2 (—)

Примечание. В скобках: «+» — достоверно отличающаяся от случайной частота проявления эффекта; «—» — недостоверная частота проявления эффекта.

В графе «число опытов» приведено только количество экспериментов с икрой, инкубированной в растворах радионуклидов. На каждый опытный вариант приходилось такое же число контрольных опытов. Количество экспериментов, в которых наблюдали статистически достоверное (по t-критерию) увеличение интенсивности дыхания по сравнению с нерадиоактивным контролем помещали в графу «стимуляция» дыхания. Количество экспериментов с достоверным уменьшением потребления O₂ приведено в графе «угнетение дыхания». Наибольшее внимание в работе было уделено исследованию предельно допустимых концентраций (ПДК) изотопов, а также измерениям интенсивности дыхания при наиболее высоких (из использованных нами) концентраций радионуклидов.

Из данных таблицы видно, что из 13-ти поставленных с Pu^{239} опытов только в одном случае было получено достоверное отличие интенсивности дыхания эмбрионов. Из 19-ти экспериментов со $\text{Sr}^{90} - \text{Y}^{90}$ с раствором активностью 10^{-10} *кюри/л* «угнетение дыхания» обнаружено только в одном опыте. Гораздо большее число опытов, достоверно отличающихся по потреблению кислорода эмбрионами, выявлено при инкубации икры в растворах $\text{Sr}^{90} - \text{Y}^{90}$ активностью 10^{-4} *кюри/л* (13 из 32-х опытов) и при активности раствора 10^{-3} *кюри/л* (12 из 32-х экспериментов). В подавляющем большинстве случаев при этих активностях наблюдалась «стимуляция» дыхания. Что касается промежуточных активностей радионуклидов 10^{-10} и 10^{-8} *кюри/л* для Pu^{239} и 10^{-6} и 10^{-8} *кюри/л* для смеси изотопов, то в этом случае обнаруживали равное число опытов со «стимуляцией» и «угнетением» дыхания (по три опыта из 26-ти). Полученные данные можно представить как результат определенного числа испытаний, при которых в ряде случаев наблюдали эффект «стимуляции» или «угнетения» дыхания. В таком случае оценить вероятность появления эффекта возможно с использованием закономерностей биномиального распределения. Заключение о достоверности (или недостоверности) эффекта можно сделать на основании того, насколько частота его проявления отличается от случайной. При расчетах пользовались формулой для вычисления доверительного интервала параметра биномиального распределения (Янко, 1961; Яржомбек, 1971).

Только в опытах с икрой, инкубируемой при активности растворов $\text{Sr}^{90} - \text{Y}^{90}$ 10^{-3} и 10^{-4} *кюри/л*, полученные результаты выходят за пределы случайного появления ожидаемого эффекта. Необходимо отметить, что в этой группе опытов достоверно проявление только эффекта стимуляции дыхания. Что касается активностей радионуклидов, соответствующих их предельно допустимым концентрациям и промежуточных активностей ($10^{-8} - 10^{-6}$ *кюри/л*), то число достоверных отклонений от контроля в этом случае не выходит за пределы случайного. Данные сводной таблицы говорят о том, что количество опытов, где был отмечен достоверный «стимулирующий» эффект, не увеличивается при возрастании активности раствора от 10^{-4} до 10^{-3} *кюри/л*. Не выявлено также увеличения частоты проявления эффекта на каких-либо стадиях эмбриогенеза. Выявленная зависимость между присутствием в растворе радиоактивного изотопа и увеличением интенсивности дыхания эмбрионов, таким образом, не безусловна и является статистической. Следует отметить, что наблюдаемые в работах (Неустроев, Подымахин, 1966; Шеханова и др., 1970) случаи «стимуляции» дыхания икры бычка и атлантического лосося выявлены при концентрации радионуклидов 10^{-10} и 10^{-6} *кюри/л*, в то время как в данной работе достоверное увеличение случаев «стимуляции» наблюдали только при активностях в 100—1000 раз более высоких. Обращает на себя внимание тот факт, что статистически достоверное повышение числа хромосомных aberrаций в клетках эмбрионов начинает обнаруживаться только при активностях раствора радионуклида выше 10^{-4} *кюри/л* (Печкуренок и др., 1972).

Интенсивность потребления кислорода развивающейся икрой может изменяться как в результате непосредственного воздействия ионизирующей радиации на обмен эмбриона, так и в результате ускорения (или замедления) темпов эмбрионального развития. Имеются литературные данные об изменении темпов развития икры некоторых видов рыб при инкубировании в растворах радионуклидов активностью $10^{-6} - 10^{-10}$ *кюри/л* (Неустроев, Подымахин, 1966; Поликарпов, Иванов, 1961; Brown, 1969; Mikame et al., 1956). В то же время некоторые исследователи (Федорова, 1963; Templeton, 1966) не обнаружили

влияния растворов радиоизотопов активностью $10^{-10} - 10^{-5}$ кюри/л на интенсивность дыхания и темп развития развивающейся икры. В наших экспериментах не наблюдалось тенденции к ускорению (или замедлению) темпов эмбрионального развития икры в радиоактивных растворах. Отмеченные эффекты увеличения интенсивности потребления кислорода у части эмбрионов можно отнести за счет непосредственного влияния ионизирующего излучения $Sr^{90} - Y^{90}$ на обмен эмбрионов, хотя механизм такого «стимулирующего» действия пока не ясен. Зафиксированные нами достоверные эффекты «стимуляции» дыхания проявляются при активности радиоактивного раствора $10^{-4} - 10^{-3}$ кюри/л. Такой уровень радиоактивности во много раз превышает предельно допустимые нормы радиоактивного загрязнения водной среды (Закутинский и др., 1962).

ВЫВОДЫ

1. Инкубирование икры выюна в растворах смеси изотопов Pu^{239} , $Sr^{90} - Y^{90}$ и Cs^{137} активностью $10^{-10} - 10^{-6}$ кюри/л не вызывает достоверных изменений уровня общего обмена.

2. При увеличении радиоактивности растворов $Sr^{90} - Y^{90}$ до уровня $10^{-4} - 10^{-3}$ кюри/л выявляется тенденция к увеличению интенсивности дыхания эмбрионов.

ЛИТЕРАТУРА

Закутинский Д. И., Парфенов Ю. Д., Селиванова Л. Н. Справочник по токсикологии радиоактивных изотопов. Гос. изд-во мед. лит. М., 1962.

Нейфах А. А. Действие ионизирующей радиации на ранние этапы развития рыб. Труды ИМЖ. Вып. 24, 1959.

Нейфах А. А. Радиационная инактивация клеточных ядер как метод исследования их роли в развитии дыхания у зародышей рыб. Биохимия. Т. 25. Вып. 4, 1960.

Неустроев В. Г., Подымахин В. Н. О дыхании икры семги в условиях радиоактивного загрязнения водной среды. Радиобиология. Т. 4. Вып. 1, 1966.

Неустроев В. Г., Подымахин В. Н. О скорости развития икры семги в условиях радиоактивного загрязнения водной среды. Радиобиология. Т. 6. Вып. 2, 1966.

Поликарпов Г. Г., Иванов В. Н. О действии стронция-90 — иттрия-90 на развивающуюся икру хамсы. «Вопросы ихтиолог.» Т. 1. Вып. 3/20, 1961.

Печкуренко В. Л., Шеханова И. А., Телышева И. Г. Результаты исследования хронического воздействия разных концентраций радионуклидов на эмбриогенез рыб. Опубликовано в настоящем сборнике.

Федорова Г. В. О действии Sr^{90} на икру и личинки сига-лудого. Естник ЛГУ, сер. биолог. Вып. 1, № 3, 1963.

Шеханова И. А., Бельмаков В. С., Лапин В. И., Ляшенко А. Г., Милорадов Г. К. Влияние растворенных в воде радиоизотопов на развивающуюся икру рыб. Труды ВНИРО. Т. 59, 1970.

Янко Я. Математико-статистические таблицы. Госстатиздат. М., 1961.

Яржомбек А. А. Номограммы для быстрого определения 95%-ных доверительных интервалов при альтернативном разнообразии. «Иструкция по радиобиологическим исследованиям эмбрионального периода развития рыб», М., ОНТИ ВНИРО, 1971.

Brown, V. and Templeton, W. Resistance of fish embryos to chronic irradiation. Nature, No. 203, 1964.

Klyashtorin, L. B., Shekhanova, I. A., Jarzhombek, A. A. Effect of small concentrations of Pu^{239} and $Sr^{90} - Y^{90}$ on the intensity of respiration of loach and rainbow embryos. Book of Abstr. IV-Congr. Intern. Rad. Phys. Chim. Ray. Evian, 1970.

Mikame, I., Watanabe, H., Takano, K. Research in the effects and influences of the nuclear bomb test explosions. II, Vienna 8, Tokyo, 1956.

Templeton, W. L. Resistance of fish eggs to acute and chronic irradiation. In: Disposal of Radioactive Wastes into Seas, Oceans and Surface Waters. Vienna, 1962.

ON THE EFFECT OF RADIOACTIVE STRONTIUM ON THE RESPIRATION RATE OF THE EMBRYOS OF LOACH.

L. B. Klyashtorin, I. A. Shekhanova and A. A. Yarzhombek

Summary

The measurement by the manometric method of the respiration rate of the developing eggs of loach in solutions of radioactive strontium ($^{90}Sr - ^{90}Y$) has revealed that no statistically reliable changes occur in the intensity of embryonic metabolism with the specific radionuclide activity of 10^{-11} to 10^{-6} Ci/l. With the radionuclide activity of 10^{-4} to 10^{-3} Ci/l, a tendency to an increased oxygen consumption by the developing eggs is observed.

ЗАМЕЧЕННЫЕ ОПЕЧАТКИ
Труды ВНИРО, том LXXXV «Вопросы физиологии рыб».

Стр.	Строка	Напечатано	Следует читать
9	15-ая сверху	Musqurnus	Misgurnus
10	17-ая сверху	$n \cdot 10^{-4}$	$n \cdot 10^{-11}$
10	22-ая сверху	Cr ⁹⁰	Sr ⁹⁰
10	25-ая сверху	$1,4 \cdot 10^{-10}, 1,4 \cdot 10^{-6}$	$1,4 \cdot 10^{-10}, 1,4 \cdot 10^{-8}, 1,4 \cdot 10^{-6}$
28	Таблица	Cr ¹³⁷	Cs ¹³⁷
60	Таблица 5	г/кг веса рыбы (P)	мг/кг веса рыбы (P)
108	11-ая снизу	$N = (10_n (\lg N_N - \lg N_o) - 1) \cdot 100$	$N = (10 \frac{1}{n} (\lg N_N - \lg N_o) - 1) \cdot 100$
115	21-ая снизу	saktilis	saxatilis
117	Название статьи	NOTOTENIA	NOTOTHENIA
119	3-я снизу	negleta	neglecta
126	21-ая снизу	antartcum	antarcticum
126	19-ая снизу	gibberibrons	gibberifrons
127	19-ая снизу	жизнестойкое и потомство	жизнестойкое потомство
148	19-ая снизу	(Vallas)	(Pallas)
148	13-ая снизу	Oncorhynchus	Oncorhynchus
148	10-ая снизу	O. mason	O. masu
139	17-ая сверху	сирмана устанавливали на ры- бах, пойманных за 1—2 су- ток до опыта	стандартного обмена
149	Таблица, послед- няя строка	+ + по данным 1962	O. rhodurus + + по данным Hikita, 1962
151	10-ая сверху	Oncorhynchis	Oncorhynchus
152	16-ая сверху	(Baalsrood)	(Baalsrud, 1956)