

Член-корреспондент АН СССР Н. И. НУЖДИН, Р. Л. ДОЗОРЦЕВА

ОСОБЕННОСТЬ ВЫХОДА ХРОМОСОМНЫХ МУТАЦИЙ ПРИ ДРОБНОМ ОБЛУЧЕНИИ γ -ЛУЧАМИ Cs^{137} СЕМЯН ЯЧМЕНЯ

Изучение выхода мутаций в зависимости от формы подачи энергии излучения (однократное и фракционированное, пролонгированное и острое облучение) имеет существенное значение для решения проблемы индуцированного мутагенеза. В выполненных ранее работах при облучении семян ячменя, находящихся в органическом и вынужденном покое (клетки зародыша соответственно в фазе G_0 и G_1), радиацией с низкой линейной передачей энергии (л.п.э.) был установлен ряд явлений, имеющих принципиальное значение. Среди последних отметим следующие: 1) более слабый биологический эффект второй полудозы фракционированного облучения, что определяет пониженный, по сравнению с однократным облучением, выход аберрантных клеток («эффект фракционирования»); 2) распространение «эффекта фракционирования» на потенциальные поражения и его отсутствие у истинных поражений; в противоположность этому «эффект мощности дозы» распространяется на обе категории названных поражений; 3) наличие эффекта пострадиационного хранения только после однократного облучения или, при фракционированном облучении, у семян, получивших первую полудозу, и его отсутствие при облучении второй полудозой (1^{-4}).

Интересно было выяснить характер проявления как перечисленных, так и других особенностей выхода хромосомных мутаций при делении дозы не на две, а на большее число фракций, различающихся по величине дозы и различным их сочетаниям. Этому и посвящено настоящее исследование.

Использовались семена ячменя Зимующего московского в состоянии органического и вынужденного покоя. Вскоре после снятия урожая партии тех и других семян были облучены γ - Cs^{137} , при мощности дозы 610 р/мин, однократно и фракционированно. Дозы и типы фракционирования приведены в табл. 1. Разрыв между фракциями во всех опытах был вдвое суток.

Независимо от физиологического состояния семян (органический или вынужденный покой) они облучались в кожуре. Хотя для прорастания семян в вынужденном покое не требовалось стимуляции, производилось удаление семенных покровов с целью выяснения возможного их влияния на частоту индуцированных аберраций. Это диктовалось тем, что при облучении семян в органическом покое удаление покровов выводило их из состояния покоя. Поэтому этот метод применялся во всех опытах. В связи с этим было решено в каждой серии опытов с использованием семян в вынужденном покое иметь варианты, в которых семена проращивались как с удаленными покровами, так и без удаления таковых. Поскольку не было установлено различий в частоте аберрантных клеток между указанными вариантами, в сериях с вынужденным покоем семян (табл. 1) приводятся суммарные результаты.

Семена, облученные в органическом покое, ставились на проращивание по только что описанной схеме. Часть проращивалась в кожуре, у остальных в сухом состоянии удалялись семенные покровы и одна порция

Выход aberrантных клеток при однократном и фракционированном облучении семян

Серия	Тип облучения и доза, кр.	Вынужденный покой			Органический покой			
		всего клеток	абerrантных	%	вариант	всего клеток	абerrантных	%
1	10	3345	690	$20,6 \pm 0,69$	2	1492	165	$11,0 \pm 0,81$
					3	1414	276	$19,5 \pm 1,1$
2	7,5	3204	521	$16,2 \pm 0,65$	2	1915	168	$8,7 \pm 0,64$
					3	2000	285	$14,1 \pm 0,76$
3	$7,5 \pm 2,5$	3753	681	$18,1 \pm 0,63$	2	2033	229	$11,3 \pm 0,75$
					3	1246	200	$16,0 \pm 1,03$
4	$2,5 \pm 7,5$	3829	619	$16,2 \pm 0,59$	2	2100	212	$10,1 \pm 0,65$
					3	2380	387	$16,3 \pm 0,75$
5	5	9300	956	$10,3 \pm 0,30$	2	2520	156	$6,2 \pm 0,48$
					3	3935	402	$10,1 \pm 0,48$
6	5 ± 5	8227	1342	$16,3 \pm 0,40$	2	1673	185	$11,0 \pm 0,77$
					3	1847	285	$15,4 \pm 0,83$
7	$5 \pm 2,5$	2814	376	$13,4 \pm 0,64$	2	2000	200	$10,0 \pm 0,67$
					3	1943	258	$13,2 \pm 0,76$
8	$5 \pm 2,5 \pm 2,5$	3070	504	$16,4 \pm 0,67$	2	1985	201	$10,1 \pm 0,67$
					3	1616	268	$16,6 \pm 0,93$
9	$2,5 \pm 2,5 \pm 5$	2910	445	$15,3 \pm 0,66$	2	2084	210	$10,0 \pm 0,66$
					3	1944	295	$15,1 \pm 0,77$
10	2,5	3527	200	$5,6 \pm 0,38$	2	2260	87	$3,8 \pm 0,40$
					3	5500	350	$6,3 \pm 0,31$
11	$2,5 \times 2$	3531	309	$8,7 \pm 0,47$	2	3468	230	$6,6 \pm 0,42$
					3	3550	325	$9,2 \pm 0,68$
12	$2,5 \times 3$	2060	260	$12,6 \pm 0,73$	2	1443	138	$9,5 \pm 0,77$
					3	1730	210	$12,1 \pm 0,78$
13	$2,5 \times 4$	2536	348	$15,7 \pm 0,72$	2	1300	150	$11,6 \pm 0,89$
					3	1566	238	$15,2 \pm 0,90$
	Контроль	2147	13	$0,60 \pm 0,17$	2	2226	43	$1,8 \pm 0,36$
					3	1403	20	$1,3 \pm 0,30$

таких семян ставилась на проращивание сразу (табл. 1, вариант 2), другая проращивалась спустя 10 суток после удаления покровов и хранения на воздухе (табл. 1, вариант 3). Семена, поставленные на проращивание в оболочке, не проросли, так как находились в органическом покое.

Семена ставились на проращивание во всех случаях спустя двое суток после завершающего облучения, полного (10 кр) или частичного, в соответствии со схемой опыта. Контролем служили семена тех же репродукций, отличавшиеся от опытных тем, что не подвергались облучению. Фиксация материала и приготовление препаратов производились по описанной методике (²). Учитывались хромосомные нарушения (мосты и фрагменты) в поздних анафазах и ранних телофазах в первых митозах меристемы корешков. Результаты экспериментов сведены в табл. 1.

Сопоставляя результаты в сериях вынужденного покоя (табл. 1), которые в пересчете на 1 рад энергии графически представлены на рис. 1А, прежде всего отметим четко выраженную дозовую зависимость. При однократном облучении в дозах 10; 7,5; 5 и 2,5 кр 1 рад энергии излучения индуцирует одинаковый процент aberrантных клеток. На диаграмме также видно, что фракционированное облучение семян менее эффективно, чем однократное в той же дозе. Эти данные полностью соответствуют полученным ранее результатам, когда впервые был продемонстрирован «эффект фракционирования» при облучении воздушно-сухих семян (¹).

В цитированной работе, кроме установления самого факта снижения эффективности фракционированного облучения, было показано, что это снижение определяется второй полудозой, которая биологически менее эффективна по сравнению с первой.

Эта закономерность отчетливо выявилась и в настоящем исследовании. Например, при однократном облучении в дозе 10 кр 1 рад энергии

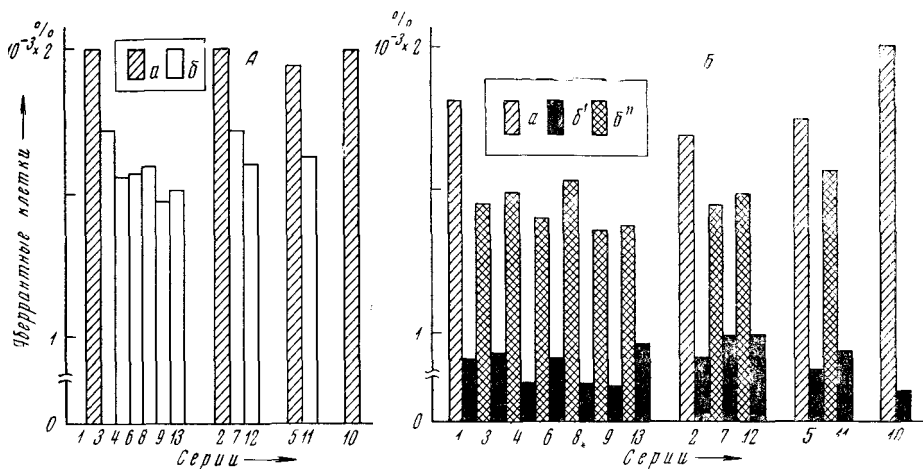


Рис. 1. Выход aberrантных клеток в пересчете на 1 рад энергии при однократном (а) и фракционированном (б) облучении семян в состоянии вынужденного (А) и органического (Б) покоя. б' — вариант 2, б'' — вариант 3

индуцировал $2 \cdot 10^{-3}\%$ aberrантных клеток; фракционированное облучение ($5 + 5$ кр) дало $1,57 \cdot 10^{-3}\%$ aberrантных клеток на такое же количество энергии; первая полудоза индуцировала $1,94 \cdot 10^{-3}\%$ aberrантных клеток, а вторая лишь $1,20 \cdot 10^{-3}\%$. Сходная картина наблюдается и при облучении в дозе 5 кр однократно и $2,5 + 2,5$ кр фракционированно. Выход aberrантных клеток на 1 рад энергий соответственно составлял: $1,94 \cdot 10^{-3}$; $1,62 \cdot 10^{-3}$ и $2 \cdot 10^{-3}$; $1,24 \cdot 10^{-3}\%$.

Дробное облучение наиболее полно представлено при фракционировании дозы 10 кр (рис. 1А). Из 6 серий фракционирования, приведенных в этой группе, только одна характеризуется повышенным выходом aberrантных клеток на 1 рад энергии (серия 3). Вероятно, в тех случаях, когда первая полудоза по величине приближается к полной дозе однократного облучения, суммарная доза 2 фракций индуцирует хотя и меньше поражений по сравнению с однократной дозой, но реально больше по сравнению с другими типами фракционирования (например $7,5 + 2,5$ и $2,5 + 7,5$). В остальных сериях разбираемой группы различия не существенны, несмотря на разнообразие в типах фракционирования. Это свидетельствует о том, что только первая фракция индуцирует соответствующий дозе процент aberrантных клеток, все последующие фракции дают одинаково сниженный эффект.

Переходя к рассмотрению результатов, полученных при облучении семян в состоянии органического покоя, отметим, что каждая серия состоит из 2 вариантов (табл. 1). В варианте 2 клетки зародыша вступали в первый митоз сразу после их перехода из фазы G_0 в фазу G_1 . В варианте 3 митоз наступал после того, как клетки зародыша перешли в фазу G_1 ; до вступления их в первый митоз семена десять суток хранились на воздухе.

На рис. 1Б результаты табл. 1 (семена в органическом покое), пересчитанные на 1 рад энергии, представлены графически. Среди всех серий один вариант характеризуется очень низким выходом aberrантных клеток. Это вариант 2, в котором в связи с отсутствием кислородного эффекта реализовались лишь поражения I класса. С этим и связаны низкий процент aberrантных клеток и отсутствие «эффекта фракционирования». Этот эффект отчетливо выявляется в варианте 3, т. е. в клетках, которые до вступления в первый митоз после их перехода из фазы G_0 в фазу G_1 находились в условиях, обеспечивающих возможность кислородного допоражения (хранение семян, после удаления их покровов, на воздухе).

Располагая данными по выходу aberrантных клеток при различном сочетании фракций дробного облучения, было решено определить роль

каждой из них в общем снижении процента aberrантных клеток. Выше мы уже отмечали, что при делении дозы на две равные фракции снижение процента aberrантных клеток определяется более слабым биологическим эффектом второй полудозы. Сохраняется ли эта особенность при дроблении дозы на большее число фракций или «эффект фракционирования» определяется более сложными взаимоотношениями?

Проведенный расчет показывает, что только первая фракция индуцирует количество aberrантных клеток, соответствующее дозе облучения. Вместе с тем, воздействие первой фракции облучения переводит клетку или клеточное ядро в более устойчивое к повреждающему действию радиации состояние, которое сказывается на выходе потенциальных поражений. На этом «резистентном фоне» все последующие фракции лучевого воздействия дают практически одинаково сниженный эффект, величина которого не меняется от сочетания использованных фракций и величины дозы первой фракции. Это хорошо видно на кривых (рис. 2), построенных на основании данных табл. 1, высчитанных для однократного облучения по формуле: $A_{од} = 2 \cdot 10^{-3} \cdot D$ и для фракционированного облучения, по формуле: $A_{фр} = (2 \cdot 10^{-3} \cdot D_1) + 1,22 \cdot 10^{-3} (D_2 + D_3 + D_n)$, где A — процент aberrантных клеток при однократном и фракционированном облучении, D — доза облучения соответствующих фракций. Отклонения от расчетных частот будут иметь место в вариантах, в которых величина дозы первой фракции будет близкой к величине полной дозы. Выявленная количественная закономерность, возможно, сохранится при использовании других доз и других сочетаний фракций дробного облучения.

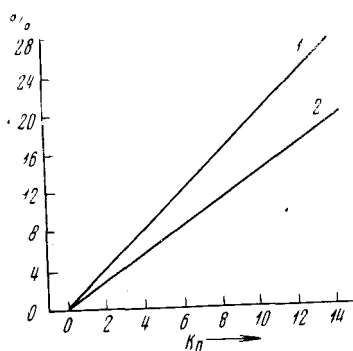


Рис. 2. Кривые выхода хромосомных aberrаций при однократном (1) и дробном (2) облучении семян

Результаты, приведенные в табл. 1, позволяют также рассмотреть вопрос о доле истинных и реализованных потенциальных поражений в общем проценте зарегистрированных aberrантных клеток. В среднем такие поражения (за вычетом контроля) достигают 9,2%. Общий процент aberrантных клеток, являющихся результатом истинных и реализованных потенциальных поражений, равен 18,20. Следовательно, истинные поражения составляют 50% общего количества зарегистрированных aberrантных клеток.

Приведенные отношения 2 типов aberrантных клеток не являются стабильными. Определяющим будет реализация потенциальных поражений, которая зависит как от условий облучения, так и условий, складывающихся в пострadiационный период.

Институт биологической физики
Академии наук СССР
Пушино-на-Оке

Поступило
5 I 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. И. Нуждин, Р. Л. Дозорцева, Н. С. Самохвалова, В сборн. Действие ионизирующих излучений на растительный и животный организм, «Наука», 1965, стр. 4.
- ² Н. И. Нуждин, Изв. АН СССР, сер. биол., № 6, 883 (1970).
- ³ Н. И. Нуждин, Р. Л. Дозорцева, Н. С. Самохвалова, ДАН, 191, 1169 (1970).
- ⁴ Н. И. Нуждин, Н. С. Самохвалова, Э. М. Шекшеев, Действие радиации на растения. Матер. II Всесоюз. симпозиума по радиобиологии растений, Ташкент, 1971, стр. 59.