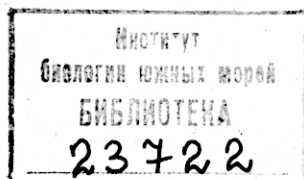


ПРОВ 98.

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР

Институт биологии южных морей
им. А.О. Ковалевского

ВОПРОСЫ ПРОДУКЦИОННОЙ, САНИТАРНОЙ
И ТЕХНИЧЕСКОЙ ГИДРОБИОЛОГИИ ЮЖНЫХ
МОРЕЙ



Издательство "Наукова думка"
Киев - 1971

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ИНКОРПОРИРОВАННЫХ ИСКУССТВЕННЫХ РАДИОНУКЛИДОВ НА МОРСКИЕ ОРГАНИЗМЫ

Задача радиоэкологии водных организмов состоит в изучении закономерностей взаимодействия между гидробионтами, их популяциями и сообществами и радиоактивными компонентами водной среды [1, 2]. Многолетние комплексные исследования отдела радиобиологии Института биологии южных морей АН УССР по накоплению, обмену и распределению радионуклидов в гидробионтах и их сообществах [3] послужили необходимой теоретической базой для разработки актуальной в век ядерной энергетики проблемы действия инкорпорированных радионуклидов на жизнедеятельность морских организмов, их популяций, сообществ и биогеоценозов. Такие исследования должны стать научной основой для прогнозирования радиационной опасности в гидробиосфере и разработки рекомендаций по обеспечению ее радиационной безопасности.

К началу наших исследований по общей и радиационной цитогенетике было мало работ по действию радионуклидов на гидробионты, в частности на рыб на ранних стадиях развития. Эти работы носили противоречивый характер [4, 13]. Критерием радиационного поражения рыб в этих исследованиях служили гибель икры и наблюдаемые уродства у предличинок.

Необходимо было перейти к исследованию поражающего действия инкорпорированных веществ на цитогенетическом уровне (нарушение митозов и хромосомные aberrации). Но для этого требовалось, с одной стороны, наладить изучение хромосомного аппарата, кариотипов эмбрионов морских костистых рыб, а также уровня и характера спонтанного хромосомного мутирования в их клетках. Такие исследования полностью отсутствовали в мировой литературе и поэтому пришлось ставить новые исследования по карио-

логии морских рыб. С другой стороны, остро ощущалась потребность в выяснении закономерностей динамики накопления и распределения радионуклидов в икре и эмбрионах. Наконец, одно из первостепенных значений приобретали методы расчета распределения полей поглощенных доз в развивающихся икринках, статистическая обработка материала и математическое планирование экспериментов. Весьма важными были также аналогичные работы на других объектах (например, водорослях).

Цель исследований по этой теме состояла в изучении кариологии морских рыб, процесса инкорпорирования радионуклидов в икре, оценке поглощенных доз и выявлении радиочувствительности цитогенетического аппарата.

В настоящем сообщении приводятся результаты исследований, выполненных за период с 1966 по 1970 гг. Ответственными исполнителями являлись: В.Г.Цыпугина, В.Н.Иванов, Д.С.Парчевская, А.В.Токарева. Руководитель исследований — чл.-корр. АН УССР, проф. Г.Г.Поликарпов. Методика исследования сводилась к фиксированию и окраске хромосом, радиометрии и микрорадиоавтографии. Характер исследования состоял в микроскопировании препаратов (кариология) и постановке опытов (радиационная цитогенетика) в лаборатории института или в судовой лаборатории. Работы были обеспечены необходимым арсеналом методов математического планирования и последующей обработки материала [14].

Нами впервые для Средиземноморского бассейна описаны хромосомные комплексы эмбрионов черноморских рыб: морского ерша *Scorpaena porcus* L. $2n = 42$ [15, 16], камбалы-калкана *Scophthalmus maeoticus*, *maeoticus*, $2n = 38 - 50$ [16-18], хамсы *Engraulis encrasicolus ponticus* $2n = 44$ [19], барабули *Mullus barbatus ponticus* $2n = 38$, ставриды *Trachurus mediterraneus ponticus* $2n = 44-46$ (В.Н.Иванов, неопубликованные данные), средиземноморских анчоуса *Engraulis encrasicolus*, $2n = 44-46$ и сардины *Sardina pilchardus*, $2n = 80 \pm 4$ [20].

Кариотип морского ерша включает 3 пары метацентрических, 3 пары субметацентрических, 14 пар акроцентрических хромосом и пару хромосом, представ-

ленную у одних эмбрионов двумя акроцентриками, у других — акроцентриком и субметацентриком. Появление гетероморфных хромосом может быть обусловлено перестройкой типа перичентрической инверсии или реципрокной симметричной транслокации. С другой стороны, не исключено, что эти хромосомы являются половыми. В литературе описано несколько случаев предполагаемых половых хромосом у рыб [21–27]. У многих видов гетерохромосомы цитологически не идентифицируются [28].

У камбалы-калкана на ранних стадиях развития и в разных тканях обнаружена значительная изменчивость кариотипа, связанная, возможно, с процессами дифференцировки тканей. Подобная вариабильность числа хромосом отмечена и у некоторых других видов рыб [29–31].

Кариотип хамсы содержит 4–8 метацентриков, 20–28 субметацентриков и 6–10 акроцентриков. Обнаружено, что спирализация хромосом в различных клетках одного и того же зародыша довольно сильно варьирует.

Хромосомный набор барабули состоит из 4–6 пар метацентриков, 8–10 пар субметацентриков, 2–4 пары телоцентриков. В состав кариотипа ставриды входит 18 мета- и субметацентриков, остальные — акро- и телоцентрики.

Уровень спонтанной хромосомной изменчивости в клетках эмбрионов морских рыб относительно высок. У морского ерша он составляет $10,6 \pm 2,77\%$, у камбалы-калкана — $16,5 \pm 1,48\%$, у анчоуса — $5,9 \pm 1,49\%$, у сардины — $2,7 \pm 1,17\%$ [16, 20], у хамсы — 13% (Иванов). Высокая хромосомная изменчивость может быть связана со спецификой активно пролиферирующих клеток развивающихся эмбрионов [32]. Возможно также, что высокий уровень хромосомной изменчивости обусловлен наличием в кариотипах рыб значительного количества акроцентриков, которые характеризуются высокой мутабельностью [33]. Наконец, возможно, что условия инкубации икры в лаборатории также повышают частоту ядерных нарушений.

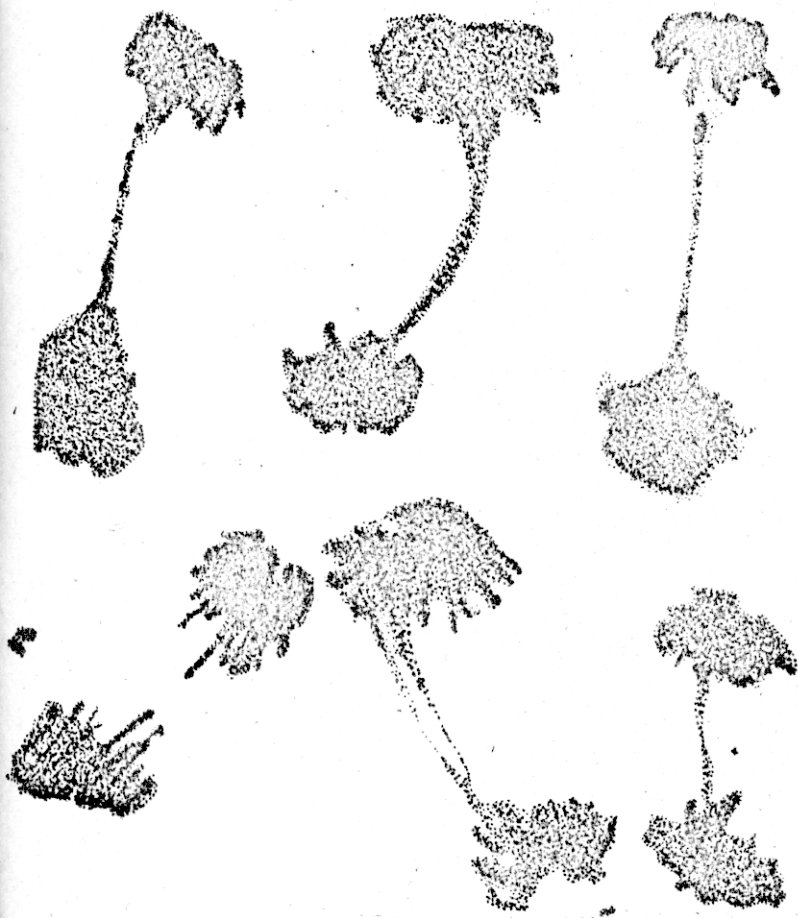
Основную долю в спектре спонтанной хромосомной изменчивости составляют одиночные мосты и одиночные ацентрические фрагменты, и встречаются они чаще всего независимо друг от друга [16]. По-видимому, наблюдаемая

нами картина определяется не только теми нарушениями, которые возникли непосредственно в предшествующем анализу митотическом цикле, но и переживающими перестройками, главным образом мостами, из более ранних клеточных циклов. Подобная слабая связь между совместной встречаемостью мостов и фрагментов в спонтанном хромосомном мутировании обнаружена и у других организмов [34].

При инкубации эмбрионов морского ерша и камбалы-калкана в растворах стронция-90 - иттрия -90, иттрия - 91, цезия-137 и углерода-14 со стадии дробления до гастролы обнаружено увеличение в их клетках частоты ядерных нарушений (рисунок) [3,16]. Мы провели статистический анализ с помощью критерия χ^2 относительной частоты встречаемости разных категорий перестроек хромосом в клетках эмбрионов, развивающихся в чистой морской воде и при различных уровнях загрязнения воды иттрием-91 и углеродом-14, т.е. теми радионуклидами, которые различаются между собой величиной энергии бета-частиц и характером локализации в икре. Иттрий-91 накапливается на оболочке икринок, а углерод-14 локализуется в тканях эмбрионов [3, 9]. Анализ показал, что соотношение различных категорий перестроек хромосом у эмбрионов из радиоактивных растворов и в контроле не отличается ($P=0,1$), т.е. вероятность появления различных типов хромосомных aberrаций в контроле и при облучении остается постоянной.

Обнаружено, что статистические распределения хромосомных aberrаций в эмбрионах разных видов морских рыб и на разных стадиях их развития могут быть различными (Парчевская). Этот факт необходимо учитывать для правильного применения статистических критериев.

При интерпретации полученных нами данных необходимо иметь в виду специфические особенности радиоэкологических экспериментов. Показано [3, 9], что радионуклиды обладают способностью аккумулироваться в икре и на ее оболочке со значительными коэффициентами накопления, в результате чего могут создаваться локально повышенные дозы и, тем самым, усиливаться радиоэкологический эффект. Расчет поглощенных в икре доз, проведенный на основе графической



Хромосомные нарушения в клетках эмбрионов
морского ерша (Цыпугина).

зависимости последних от энергии излучения радионуклидов и типа локализации их в икре с учетом коэффициента накопления [35] показал, что одинаковые дозы создаются различными радионуклидами в разных концентрациях. Так, при равных концентрациях радионуклидов поглощенные дозы в икре за счет стронция-90 - иттрия-90 и иттрия-91 превышают таковые за счет углерода-14 в 10 раз и цезия-137 в

100 раз. Цитогенетическое действие стронция-90 - иттрия-90 и иттрия-91 оказалось, при прочих равных условиях, более эффективным, по-видимому, в связи с большой способностью икры накапливать радиоиттрий - до 10000 единиц.

Область действия малых доз, в том числе и особенно инкорпорированных радионуклидов чрезвычайно трудна для исследования. Характер действия инкорпорированных радионуклидов весьма сложен, и поэтому в настоящее время пока еще трудно ожидать большой сходимости результатов исследований на разных объектах. Поглощенные дозы рассчитываются в первом приближении, исходя из целого ряда допущений, без учета весьма возможной неравномерности микрораспределения доз по биологическим структурам.

Морские одноклеточные планктонные водоросли являются хорошей экспериментальной моделью для исследования микрораспределения инкорпорированных радионуклидов. Методом микроавторадиографии было изучено распределение по компонентам клетки в культуре *Proocentrum micans* углерода-14 (Токарева). Обнаружено, что радиоуглерод вначале (в первые 3 часа) локализуется в основном в ядре, затем (через 8 час) обнаруживается как в ядре, так и на оболочке. Через 12 час он присутствует не только в ядре и на оболочке, но и в протоплазме.

Эта работа представляет собой первое принципиальное решение трудной задачи получения материала по микрораспределению радионуклидов в клетке для расчета поглощенных доз мягких бета-излучений в отдельных клеточных компонентах при разных типах инкорпорирования радиоактивных веществ.

Проведенные исследования, хотя и важный, но лишь первый шаг в области цитогенетики морских организмов [39]. В перспективе - создание атласа хромосом животных и растений Черного, Азовского, Средиземного и других морей. Возможно осуществить исследование хромосомных комплексов морских массовых планктонных организмов, которое может внести существенный вклад в систематику и экологию этих животных, весьма важных в экономике морей и океанов.

Цитогенетические исследования рассматриваются нами также как плацдарм для перехода к генетике морских организмов и их популяций. Это совершенно не изученная, но весьма перспективная область исследований в морской биологии, имеющая прямое отношение к практике разведения морских организмов.

Ожидают изучения легко уязвимые и наиболее устойчивые звенья в биологической структуре гидросферы, наиболее радиочувствительные и радиорезистентные виды и биоценозы морских организмов. Сложной проблемой продолжают оставаться стимулирующее и повреждающее действие малых доз ионизирующих излучений, а также закономерности лучевого поражения гидробионтов. Назрела необходимость постановки широких работ по радиационной биоценологии для изучения закономерности изменения структуры биоценозов морских организмов под действием радиоэкологического фактора. Не подлежит сомнению необходимость дальнейшего изучения и создания основ для предвидения влияния искусственных радионуклидов в морских водоемах на биологическую продуктивность и жизнь моря.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. ПОЛИКАРПОВ Г.Г. Радиоэкология морских организмов. М., Атомиздат, 1964.
2. POLIKARPOV G.G. *Radioecology of aquatic organisms*. North-Holl. Publ. Co - Reinhold Book Div., Amsterdam - New-York. 1966.
3. Морская радиоэкология под ред. Г.Г.ПОЛИКАРПОВА (коллективная монография). Киев, "Наукова думка", 1970.
4. HIBIYA T., YAGI T. *In Research in the Effects and Influences of the Nuclear Bomb Test Explosions*. Ueno, Tokyo, 11, 1956.
5. MIKAMI Y., WATANABE H., TAKANO K. *ibid*, 1956.
6. ПОЛИКАРПОВ Г.Г., ИВАНОВ В.Н.-Вопросы ихтиологии, т. 1, вып. 3 (20), 1961.
7. ПОЛИКАРПОВ Г.Г., ИВАНОВ В.Н.-Докл. АН СССР, т. 144, № 1, 1962 а.

8. ПОЛИКАРПОВ Г.Г., ИВАНОВ В.Н.—Бюлл. МОИП, отд. биол., т. 67, № 3, 1962 б.
9. ИВАНОВ В.Н. Некоторые особенности радиоэкологии морских рыб на ранних этапах онтогенеза. Автореф.канд. дисс., Севастополь—Днепропетровск, 1965.
10. ПОЛИКАРПОВ Г.Г., ГАМЕЗО Н.В.—Гидробиол. журн., т.2, № 5, 1966.
11. BROWN K.M., TEMPLETON W.L. *Nature*, v. 203, № 4951, 1964.
12. ФЕДОРОВ А.Ф. и др.—Вопр.ихтиологии, т.4, вып.3(32), 1964.
13. TEMPLETON W.L. *In Disposal of Radioactive Wastes Into Seas, Oceans and Surface Waters. Proc. of a Symp., Vienna.*
14. ПАРЧЕВСКАЯ Д.С. Статистика для радиоэкологов. Киев, "Наукова думка", 1969.
15. ЦЫГУГИНА В.Г.—Цитология, т.2, № 5, 1969а.
16. ЦЫГУГИНА В.Г. Некоторые кариологические характеристики морских костистых рыб на ранних стадиях развития (в норме и при лучевом воздействии). Автореф. канд.дисс., Севастополь, 1969.
17. ЦЫГУГИНА В.Г.—Природа, № 10, 1967.
18. ИВАНОВ В.Н.—Докл. АН СССР, т.187, № 6, 1969.
19. ИВАНОВ В.Н.—Цитология и генетика, т.3, № 3, 1969.
20. ЦЫГУГИНА В.Г.—В кн.: "Радиоэкологические исследования Средиземного моря". Киев, "Наукова думка", 1970.
21. SVARDSON O. *Rep. Inst. Freshwater Res.*, 23, 1945.
22. LIEDER U. *Biol. Zentralblatt*, Bd. 78, № 2, 1963.
23. CHEN T.R. *Comparative karyology of selected deep-sea and shallow-water teleost fishes. Ph.D. Diss. Yale Univ., New-Haven. 1967.*
24. CHEN T.R. *Postilla*, № 130, 1969.
25. CHEN T.R., EBELING A.W. *Chromosoma, Berl.*, v. 16, № 1. 1966.
26. CHEN T.R., EBELING A.W. *Copeia*, 1, 1968.
27. CHEN T.R., REISMAN H.M. *Cytogenetics*, v. 9, № 6, 1970.
28. MIKINO S. *An atlas of the chromosome numbers in animals. Iowa State Coll. Press. 1951.*
29. OHNO S., STENIUS S., FAISST E., ZENZES M.T. *Cytogenetics*, v. 4, № 2, 1965.

30. OHNO S., ATKIN N. *Chromosoma*, Berl., v. 18, № 3, 1966.
31. BECAK W., BECAK M.L., OHNO S. *Cytogenetics*, v. 5, № 5, 1966.
32. ТИНЯКОВ Г.Г., ТИНЯКОВ Ю.Г. — Докл. АН СССР, т. 184, № 1, 1960.
33. MCGILINTOCK B. *Cold. Spring Harbor, Symp. Quant. Biol.*, v. 9, 1941.
34. ДУБИНИН Н.П. и др. — Цитология, т. 7, № 1, 1965.
35. ПАРЧЕВСКАЯ Д.С. — Радиобиология, т. 9, вып. 2, 1969.
36. ПОЛИКАРПОВ Г.Г. и др. Проблемы цитогенетики морских организмов. — В кн.: Проблемы морской биологии. Киев, "Наукова думка", 1971.