

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНЫ
ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ, ОНКОЛОГИИ
И РАДИОБИОЛОГИИ им. Р.Е. КАВЕЦКОГО

На правах рукописи

РАШИДОВ НАМИК МАМЕД оглы

МОДИФИКАЦИЯ ЭФФЕКТОВ ОБЛУЧЕНИЯ РАСТЕНИЙ ТЕПЛОСЫМИ
НЕЙТРОНАМИ МЕТОДОМ ФОРМИРОВАНИЯ ПОГЛОЩЕННОЙ ДОЗЫ

03.00.01 - радиобиология.

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

КИЕВ - 1994

Диссертация написана в виде рукописи.

Работа выполнена в Институте клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины.

Научные консультанты - академик НАН Украины, профессор,
доктор биологических наук
Д. М. ГРОДЗИНСКИЙ

академик АН Азербайджана, профессор,
доктор биологических наук
У. К. АЛЕКПЕРОВ

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор В.А. БАРАВОЙ

Доктор биологических наук Г.И. КОВАЛЬ

Доктор биологических наук Б.А. ЛЕВЕНКО

Ведущая организация - УКРАИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ

Защита диссертации состоится в 14⁰⁰ час 23 июня 1994 г.
на заседании специализированного ученого совета Д.016.38.02 по
защите диссертаций на соискание ученой степени доктора наук в
Институте экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии
им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины
(252 022, Киев-22, ул. Васильковская, 45.).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института
экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им.
Р.Е. Кавецкого НАН Украины.

Автореферат разослан 20 мая 1994 г.

Ученый секретарь
специализированного совета,
кандидат биологических наук

Г.И. ЛАВРЕНЧУК

ЛНБ України ім.В.Стефаніка
00756433 (S)

ЛНБ ім. В. Стефаніка
АН України

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Проблема биологического действия плотнoионизирующего излучения (ПИИ) приобретает первостепенное значение в связи с решением ряда теоретических и практических задач в радиобиологии, сельском хозяйстве и медицине. В частности, особое внимание уделяют выяснению возможности модификации воздействия плотнoионизирующего излучения на клетку.

Применение ПИИ в целях экспериментального мутагенеза, особенно для выведения новых сортов хозяйственно ценных растений и микроорганизмов, уже имеет устоявшиеся традиции, о чем свидетельствуют многочисленные научные данные мировой литературы и периодические отчеты ФАО и МАГАТЭ. Широкое применение и перспективы использования в целях экспериментального мутагенеза и лучевой терапии, всесторонний, глубокий и полный анализ действия ПИИ на биологические системы еще не нашли своего места в научных исследованиях. В связи с этим нахождение способов модификации радиобиологических эффектов ПИИ требует дальнейшего развития экспериментальных работ. Известно, что возможности модификации радиоустойчивости соматических клеток к ПИИ и влияния на генетическую изменчивость различными физико-химическими и биологическими факторами существенно сужены и незначительны. В этом отношении особняком стоит такое ПИИ как тепловые нейтроны (ТН). При облучении растений ТН почти вся доза формируется за счет ядер ^{14}N и ^1H . Ядра азота и водорода при захвате ТН мгновенно излучают протоны и γ -лучи, соответственно.

В природе существует ряд элементов, у которых эффективное дифференциальное сечение захвата (ДСЗ) ТН намного выше, чем у азота и водорода. К ним относятся ^{10}B и ^6Li , которые при захвате ТН мгновенно излучают альфа-частицы, а также такие элементы как Cd, Eu, Dy, Gd, Sm, испускающие γ -лучи. У этих изотопов эффективное сечение захвата ТН по ядерным реакциям $^{10}\text{B}(n, \alpha)^6\text{Li}$, $^{110/113}\text{Cd}(n, \gamma)$, $^{111/114}\text{Cd}$, $^{149/152}\text{Sm}(n, \gamma)$, $^{150/153}\text{Sm}$, $^6\text{Li}(n, \alpha)^3\text{H}$, $^{151/153}\text{Eu}(n, \gamma)$, $^{152/154}\text{Eu}$, $^{155/157}\text{Gd}(n, \gamma)$, $^{156/158}\text{Gd}$ и $^{161/162}\text{Dy}(n, \gamma)$, $^{162/163}\text{Dy}$ на несколько порядков выше, чем для реакций $^{14}\text{N}(n, p)^{14}\text{C}$ и $^1\text{H}(n, \gamma)^2\text{H}$. Вводя в растения перед облучением ТН вышеперечисленные элементы, можно варьировать плотность ионизации в местах расположения данных элементов. Изменение плотности локальных микродозных полей может влиять на

эффективность поражения клеток. В этом и заключается суть метода формирования поглощенной дозы ТН для растительных клеток, аналогичного методу бор-нейтрон-захватной терапии (БНЗТ), применяемому в радиологии, но имеющего более широкие возможности для варьирования условия экспериментов.

Используя этот метод, можно направленно изменять степень поражения определенных оргanelл, клеток, тканей, органов или вызывать широкий спектр соматических и генетических мутаций у высших растений. Изучение закономерностей действия ионизирующих излучений, обладающих микродозовыми локальными полями с различной удельной ионизацией, на генетический аппарат может служить экспериментальным подходом к выяснению механизмов, обеспечивающих надежность генома растительных клеток. Несомненно, что с применением метода формирования поглощенной дозы в исследованиях на растительных клетках можно достаточно полно разобраться в закономерностях механизма мутагенного действия ТН, выяснить относительную роль физического и биологического факторов в индуцированном мутационном процессе.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы явилось изучение закономерностей и механизмов модификации радиационной устойчивости и генетической изменчивости соматических клеток растений при формировании поглощенной дозы ТН, прогнозирование возможностей практического использования полученных данных в медрadiологии и радиационном мутагенезе. В соответствии с указанной целью в задачи исследования входило:

1. Оценить возможность влияния накопления дозы с различными значениями линейной передачи энергии (ЛПЭ) продуктов распада компаунд-ядер и топографии микродозовых полей на модифицирование радиобиологических эффектов в клетках.
2. Определить эффективность модификаторов радиобиологических повреждений для растительных клеток под действием ТН.
3. Изучить последствия действия ТН на мембранный и светоиндуцированные биопотенциалы семян культурных растений.
4. Охарактеризовать повреждения генома интерфазных клеток под действием ТН.
5. Изучить зависимость относительной биологической эффективности тепловых нейтронов (ОБЭ ТН) от величины поглощенной дозы по частоте соматических мутаций у растений сои, гетерозиготной по хлорофилльной мутации в докусе ядерного генома -

У11У11.

6. Исследовать зависимость между радиустойчивостью к ТН и продуктивностью генетически близких сортов гороха.

7. Проследить за формированием радиобиологических повреждений в течение онтогенеза растений при действии в M_0 -поколении радиации с различной ЛДЭ.

8. Выявить закономерности перехода повреждений, возникших при облучении семян ТН в M_0 методом формирования поглощенной дозы, через генеративные клетки в M_2 поколение.

На защиту выносятся следующие положения диссертационной работы:

1. Использование элементов с высоким ДСЗ ТН может существенно модифицировать эффективность повреждения как в M_1 , так и в M_2 поколениях культурных растений. Эффективность перехода соматических повреждений из M_1 в M_2 поколение по выходу хлорофильных мутаций в 10^3 - 10^4 раз выше при облучении ТН по сравнению с облучением редкоионизирующим излучением (γ -лучи ^{60}Co).

2. Степень повреждения облученных ТН семян культурных растений может быть количественно оценено на биофизическом уровне по изменению светоиндуцированного биопотенциала и по распределению мембранного потенциала эпидермальных клеток корневых проростков.

3. Установлены, высокие значения ОБЗ ТН - как по выходу соматических мутаций (от 7 до 16), так и по индуцированному митотическому кроссинговеру (от 16 до 27) у гетерозиготной сои (У11У11).

4. Радиобиологические повреждения, сформированные за счет различных ядерных реакции типа (n, α) или (n, γ) в зародышках семян-ячменя, сохраняются в меристематических клетках в течение всего периода вегетации растений. При этом достоверность различия, оцененная по F-критерию Фишера, между вариантами, различающимися как по обработке веществами с высоким эффективными сечениями захвата ТН, так и по уровню дозы, зависит от чувствительности тест-реакций, которые приходится использовать в различных фазах онтогенеза.

Научная новизна исследований. Получены следующие основные результаты, имеющие принципиальную новизну:

1. Степень поражения клеток и тканей растительного организма зависит от топографии микродозового поля.

2. При действии ТН эффективность модификаторов (ферроценона, диацетилферрацена, цистина, цистеамина и др.) по изменению радиобиологических повреждений у высших растений незначительна по критериям выживаемости корней проростков на 10-день роста, по ОСР на 6-й день и по значениям биопотенциала мембран эпидермальных клеток корней проростков, выросших из облученных семян.

3. Предложены и апробированы новые методические подходы к оценке радиационных повреждений, возникших в зародышах семян при различной топографии микродозовых полей ТН, по изменениям светоиндуцированного и мембранного биопотенциалов эпидермальных клеток корня, характеризующих в основном биофизическую природу повреждения. Установлено, что чем выше плотность ионизации в микродозовых полях, (например в ^{10}B -обогащенных вариантах), тем меньше дисперсия значений биопотенциалов, а вероятность распределения вокруг среднего значения биопотенциала достаточно высока.

4. Впервые проведен анализ повреждений генома растительных клеток, облученных ТН, с учетом соотношения выхода хромосомных и хроматидных aberrаций, а также по характеристикам нейтральной и щелочной элюции ДНК на мембранных фильтрах.

5. Выявлена зависимость ОБЭ ТН величины макросечения захвата ТН (МСЭ ТН) при обогащении семян ячменя элементами с высоким дифференциальным сечением захвата ТН (ДСЭ ТН). Установлено, что зависимость относительной генетической эффективности (ОГЭ) ТН в M_2 и ОБЭ ТН в M_1 от МСЭ ТН при обогащении семян ячменя в M_0 элементами с высокими ДСЭ ТН имеет почти линейный характер.

6. Впервые установлено, что у сои, гетерозиготной по ядерному гену Y_{11} под действием ТН по сравнению с гамма-облученным вариантом, выход митотических кроссинговерных и других соматических мутаций возрастает в 3-10 раз.

7. Установлено существование обратной корреляции между радиустойчивостью генетически близкородственных сортов гороха и их продуктивностью.

8. Впервые показано, что у ячменя, выросшего из семян, облученных в M_0 ТН при введении некоторых элементов (^{10}B , ^6Li), наблюдается значительное увеличение выхода и расширение спектра хлорофильных мутаций в M_2 по сравнению с γ -облученными

ми вариантами.

9. Впервые приводятся данные, характеризующие модифицирующее действие кадмия и некоторых других редкоземельных элементов (Dy, Sm, Eu, Gd), обладающих высоким ДСЗ ТН, в опытах со злаками и двудольными растениями.

10. Разработана и апробирована оригинальная программа компьютерной обработки данных многофакторного полевого опыта с элементами моделирования для определения выхода генетических мутаций в M_2 в зависимости от повреждений в M_1 , полученных от радиации с различной ЛДЭ излучений.

Практическая ценность работы. Совокупность представленных в диссертации экспериментальных данных, относительно проявлений радиобиологических повреждений при формировании поглощенной дозы у растений под действием ТН, обоснованных научных положений и теоретических обобщений можно рассматривать в целом как развитие нового научного направления в радиобиологии растений, имеющего важное значение для понимания механизмов, обуславливающих разную радиочувствительность клеток при формировании различных микродозных полей под действием ТН.

Данные об усилении эффекта повреждающего действия ТН изотопами ^{10}B и ^6Li , а также снижении эффективности ТН у семян, обогащенных Cd, Sm, Gd, Dy, Eu, необходимо учитывать при разработке БИЗТ опухолевых клеток в медрadiологии.

Данные, касающиеся метода формирования поглощенной дозы ТН в модификации лучевого поражения растений, вошли в учебник Д. М. Гродзинского "Радиобиология растений", Киев, Наукова думка, 1989.

Обнаруженный эффект увеличения частоты и расширения спектра хлорофильных мутаций в M_2 , а также повышения уровня индукции митотического кроссинговера у семян сои, подвергшихся облучению ТН, перспективны для использования в области радиационного мутагенеза растений.

Модификация лучевого эффекта у растений, подвергшихся действию плотной ионизирующей радиации ТН, вполне достижима при использовании различных веществ (^{10}B , ^6Li , Cd, Sm, Gd, Eu, Dy), которые вмешиваются в первичные процессы размена поглощаемой клеткой энергии и в последующие, определяющие реализацию возникших молекулярных повреждений. Полученные данные перспективны как научная база для разработки БИЗТ и могут дать, хотя

бы частично, ответ на вопрос "займет ли БНЗТ свое место среди других методов лечения рака? Это зависит от результатов исследований, которые проводятся сейчас во многих научных центрах всего мира. Возможно, что именно они определят, как будут лечить рак в XXI столетии [Barth et al, 1990]".

Апробация материалов диссертации. Материалы диссертации докладывались, демонстрировались и представлялись на: VII Международном конгрессе по радиационным исследованиям (ICRR) в Голландии (Амстердам, 1983); Всесоюзном семинаре "Проблемы количественной радиобиологии" (Чернигов, 1986); Всесоюзном рабочем совещании "Надежность биологических систем" (Чернигов, 1986); Всесоюзном совещании "Интерфазаная гибель клеток" (Пушино - на-Оке, 1987); V Всесоюзной междуниверситетской конференции "Биология клетки" (Тбилиси, 1987); Биофизическом семинаре Объединенного института ядерных исследований (Дубна, 1989); Всесоюзной конференции по прикладной радиобиологии растений (Чернигов, 1990); XXII Европейской конференции новых методов в сельском хозяйстве (ESNA) в Турции (Анталья, 1991); XXIII Европейской конференции новых методов в сельском хозяйстве (ESNA) в Германии (Галле, 1993); Радиобиологическом съезде (Киев, 1993); II Съезде Украинского товарищества физиологов растений (Киев, 1993) и других международных и республиканских научных форумах.

Публикация результатов исследований. Основные положения диссертации опубликованы в более чем 50 печатных работах.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, одиннадцати глав, посвященных изложению результатов и их обсуждению, заключения, выводов, списка литературы и приложения. Работа изложена на 346 страницах машинописного текста, содержит 55 таблиц и 60 рисунков. Список литературы включает 331 наименование, в том числе 170 иностранных источников.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для проведения экспериментов были привлечены различные радиобиологические, биофизические, цитологические, биохимические и генетические методы исследований. Использованы семена и проростки гороха сортов *Рамонский 77*, *Уладовский юбилейный*, *Рапорт*, *Черниговский 190*, *Богатырь чешский*; ячменя сортов *Эльгина* и *Романтик*; нут сорта *Узбекистан*; гетерозиготная линия оои *Glucine max* (У11У11).

Облучение образцов ТН осуществляли в тепловой колонне ядерного реактора Института ядерных исследований АН Украины. Флюенс нейтронов варьировали от 10^{15} до 10^{17} нейтрон·м⁻². Мощность потока ТН на дне канала ТК-3 составляла $(3,6 \pm 0,3) \cdot 10^{14}$ нейтрон·м⁻²·с⁻¹, при этом мощность дозы сопутствующих γ -лучей на дне канала составляла 0,1 Гр/с.

В качестве стандартного излучения для расчета ОБЭ ТН были выбраны γ -лучи от источника ⁶⁰Co. Облучение семян γ -лучами осуществляли в дозах от 50 до 400 Гр при мощности дозы 16 Гр/мин. Поглощенную дозу, накопленную в образце под действием ТН, рассчитывали по формуле:

$$D_1 = 1,6 \cdot 10^{-14} \cdot N_i \cdot F_i \cdot E_i \cdot \beta_i \cdot c / A_i \quad (\text{Гр/нейтрон} \cdot \text{м}^2),$$

где N-число Авогадро, A₁- атомная масса изотопа 1, E₁-энергия частиц, испускаемых из компаунд-ядер (МэВ), $1,6 \cdot 10^{-14}$ -коэффициент пересчета единиц из МэВ в Гр, β_i -ДСЗ ТН i-го изотопа, c-коэффициент пересчета: для ПИ с-1, а для редкоионизирующего излучения (РИ) с - μ d, где μ -линейный коэффициент поглощения γ -излучения в образце (м⁻¹), d-толщина образца (м). Общую дозу находили как сумму D₁ с добавлением дозы от сопутствующего γ -излучения атомного реактора.

Макрорезечение захвата ТН (см²/г) изотопами рассчитывали по формуле:

$$\Sigma_1 = N \cdot P_i \cdot \beta_i \cdot \rho_i / 100 \cdot A_i,$$

где N-число Авогадро, P_i- распространенность i-го изотопа в %, β_i - ДСЗ ТН в барн, ρ_i - содержание изотопа в мкг/г в образце и A₁- атомная масса изотопа.

Определяли содержание веществ, которые вводили в семена перед облучением ТН, в образце в мкг/г, используя атомно-адсорбционный, пламенноионизационный и колориметрический методы анализа. При этом параллельно измеряли количество самария в семенах более точным методом - нейтронно-активационным анализом.

Семена обрабатывали в водных растворах H₃¹⁰BO₃, ⁶LiCl, ZCdSO₄5H₂O, SmCl₃, Eu(SO₄)₃, Gd(C₂H₃O₂)₃4H₂O, DyCl₃, а контроль - в дистиллированной воде, а затем их высушивали до исходной влажности под вентиляторной установкой. Обработанные таким образом семена подвергали действию ТН и/или γ -радиации. На указанных растительных объектах определяли: всхожесть, выживаемость, абсолютную массу стеблей, длину и относительную скорость роста (ОСР) корней, уровень генных, ядерных и хлорофильных мутаций, хроматидные и хромосомные aberrации, мембранные и светоиндуцированные биопотенциалы, одно- и двунитевые разрывы ДНК, прямые и обратные соматические мутации, митотические кроссинговеры и другие тест-реакции, характеризующие степень повреждения растения. Одновременно осуществляли анализ спектра мутаций, пролиферативной активности клеток, взаи-

мосьязь радиоустойчивости с МСЗ ТН, корреляции между радиоустойчивостью и продуктивностью культурных растений, математический анализ кривых "доза-эффект" в M_1 и кривые "доза-выход хлорофилльных мутаций" для прогнозирования и оценки перехода повреждений из поколения M_1 в поколение M_2 . Полученные данные подвергали микродозиметрическому анализу. Для обработки данных многофакторных экспериментов была разработана специальная программа, оценивающая наименьшую существенную разность между вариантами, влиянием и взаимодействием факторов.

Все экспериментальные результаты подвергали статистическому анализу по общепринятым методам.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. ФОРМИРОВАНИЕ ГЕТЕРОГЕННОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЗАХВАТНОЙ ДОЗЫ ТЕПЛОВЫХ НЕЙТРОНОВ В ОРГАНАХ И КЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУРАХ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Известно, что ТН имеют очень низкое значение кинетической энергии (0,025 эВ), в связи с чем упругих столкновений нейтронов с атомными ядрами элементов, составляющих биоматериал, ничтожно мало. Поэтому почти вся доза образуется за счет захвата ядрами нейтронов и последующего мгновенного распада компаунд-ядер с испусканием либо γ -лучей, либо корпускулярного излучения.

Для ПИИ образование керна в треке играет главную роль, приводя к ряду специфических явлений, с которыми мы не встречаемся при использовании излучений с низкой ЛПЭ. Описанные методы варьирования ЛПЭ связаны с использованием разных источников радиации. При использовании метода формирования поглощенной дозы источник облучения один и тот же (ТН), а различия в локальных ЛПЭ создаются за счет захвата нейтронов разными изотопами эндогенного либо экзогенного происхождения. Здесь эндогенными названы изотопы, которые содержатся в нативных биологических структурах, а экзогенными - те, которые дополнительно вводятся в облучаемый объект. В отличие от внешнего облучения, при котором треки частиц пересекают объект случайным образом, подчиняясь законам стохастики, метод захватной дозы дает возможность управлять распределением треков по клеткам и клеточным органеллам.

Под действием ТН ядра ^{10}B и ^6Li излучают α -частицы, которые имеют очень короткий пробег по сравнению с линейными размерами клеток. В связи с этим изучение распределения изотопов бора и лития в субклеточных структурах является достаточно важным. Количество лития и бора в органеллах клеток корня убывает в следующем порядке: митохондрии - пластиды - ядра - цитоплазма. Меньше всего лития и бора обнаружено в свободном состоянии в цитоплазме, где они содержатся главным образом в связанном состоянии с низкомолекулярным компартиментом цитоп-

лазны.

При испускании γ -лучей ЛПЭ очень низка, и излучение охватывает довольно большой, по сравнению с клеточными размерами, объем. Ядра азота и водорода, благодаря которым в клетке формируется поглощенная доза, можно принять равномерно распределенными по всему объему клетки. Но если ввести в растения элементы с высокими эффективными ДСЭ ТН, такие как ^{10}B , ^6Li , Cd , Gd , Sm , Eu , Dy , то можно наблюдать и неравномерное их распределение по органеллам и тканям растений. У растений в качестве критических тканей выступают апикальные меристемы корня и побега, в связи с чем мы определяли накопление элементов, используемых для формирования захватной дозы, именно в этих частях растения.

Мы можем предположить, что накопление исследуемых элементов в апексах корня и побега является определяющим фактором, приводящим к лучевому поражению меристематических клеток критических тканей и целого растения при облучении их ТН. Изучение распределения лития по органам двухдневных проростков гороха показало, что этот элемент в несколько больших количествах накапливается в апексе корня, чем в апексе побега, а в семядолях в несколько раз меньше, чем в апексе корня проростков. Определение накопления бора в семенах гороха показало, что среднее по семенам значение ниже, чем в эндосперме или зародыше. Для проростков обнаружено высокое содержание бора в апексе побега, по сравнению с апексом корня.

Редкоземельные элементы (Gd , Sm , Eu , Dy) больше накапливаются в зародыше семян, чем в эндосперме. У трехдневных проростков гороха, которые намачивались в водных растворах сульфата кадмия при различных концентрациях, Cd накапливается в большей степени в семядолях, чем в зародышах.

Результаты, полученные нами, и данные, приведенные в литературе, свидетельствуют о том, что испытуемые вещества распределяются гетерогенно как по органам растений, так и по органеллам растительной клетки. Это дает надежду на то, что можно формировать гетерогенно различные микродозовые поля в тканях, клетках и субклеточных органеллах растений под действием гомогенного потока ТН.

II. МОДИФИКАЦИЯ РАДИОУСТОЙЧИВОСТИ СЕМЯН КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ МЕТОДОМ ФОРМИРОВАНИЯ ПОГЛОЩЕННОЙ ДОЗЫ ТН

Для выяснения влияния испытуемых веществ на характер поражений растений гороха, сои, нута и ячменя под действием ТН были проведены соответствующие опыты. Эффект поражающего действия радиации выражали в виде кривых "доза-эффект", используя в качестве критерия различные тест-реакции растений. На рис. 1 приведена кривая "доза-эффект" по критерию всхожести для семян ячменя, которые перед облучением ТН или γ -радиацией

были обогащены ^{10}B , ^6Li и Sm .

Значения плеча (D_q) для кривых "доза-эффект" у небогатенных (контроль, кривая-1) и обогащенных ^{10}B (2), ^6Li (4) и Sm (3) семян, облученных ТН, составляли соответственно: 0,5; 0,0; 1,5; 2,5 Гр. Для одноименных вариантов, но облученных γ -радиацией, значения D_q , были соответственно- 135; 200; 175; 185 Гр (рис.1Б). Углы наклона кривых тоже существенно различались. Эти различия хорошо видны из значений D_{37} для вышеуказанных вариантов- 310; 340; 350 и 375 Гр для γ -облученных семян и 37,5; 10; 17,5; 47,5 Гр для ТН облученных вариантов соответственно. Еще более четко различия прослеживаются по значениям D_0 в вариантах для небогатенных (контроль, кривая 1); ^{10}B (2)-, ^6Li (4)- и Sm (3)- обогащенных семян; 37; 10; 16; 45 Гр под действием ТН и 135; 140; 175; 185 Гр под влиянием гамма-радиации, соответственно. При этом следует отметить, что чем выше плотность ионизации локальных микродозовых полей, тем меньше величина плеча дозовых кривых.

Дозовая кривая для семян ячменя, обогащенных ^6Li и облученных ТН, характеризуется меньшим наклоном и более явно выраженном плечом, чем таковые для ^{10}B -обогащенных вариантов. По-видимому, эти различия обусловлены тем, что значение ЛПЭ α -частиц от компаунд-частиц ядер Li меньше, чем бора. Для семян, обогащенных самарием и облученных ТН, дозовая кривая сохраняет пороговый характер и отличается относительно малым наклоном, что может быть связано с осуществлением эффективной репарации и ее вкладом в формирование критического числа клеток.

Обогащение семян различными элементами перед воздействием γ -радиацией модифицировало эффект поражения, сказываясь на значениях фактора изменения дозы (ФИД). Почти во всех графиках, описывающих действие γ -лучей на семена, не обогащенные и обогащенные ^{10}B , ^6Li , Sm , Cd , Gd , Eu , Dy , кривые "доза-эффект" имеют плечо, свидетельствующее о том, что после γ -облучения в семенах растений осуществляются интенсивные репарационные процессы на всех фазах (этапах) роста и развития растений, и используемые элементы могут модифицировать степень поражения клеток, что проявляется в изменении угла наклона кривых. Сходные кривые "доза-эффект" также строили для семян ячменя обогащенных Cd , Gd , Dy , Eu и облученных ТН. Для адекватности сравнения полученных нами экспериментальных данных, все кривые аппроксимировали к уравнению:

$$\ln[1-(1-T)^{1/m}] = lD, \quad (1)$$

где T -выживаемость растений, m -постоянная, l - характеризует радиочувствительность растений. Используя подобный подход, определяли аналитически значение полудетальной дозы (LD_{50}), m , l . На их основании вычисляли ОБЭ ТН и ФИД (табл. 1).

Таблица 1.

Параметры l и m уравнения 1, величина полудетальной дозы и ОБЭ тепловых нейтронов или ФИД, рассчитанные по критерию "выживаемость" для семян ячменя, которые перед облучением ТН или γ -радиацией были необработаны или обработаны веществами с высокими значениями дифференциальных сечений захвата ТН

Обработка веществами	l	m	ДД ₅₀	ОБЭ ТН или ФИД
Облучение тепловыми нейтронами				
Контроль	0,017 ± 0,008	0,94 ± 0,38	38,0	7,10
¹⁰ B	0,108 ± 0,006	1,34 ± 0,07	8,3	34,94
⁶ Li	0,042 ± 0,006	0,78 ± 0,10	12,0	19,58
Sm	0,016 ± 0,003	0,99 ± 0,15	33,4	6,30
Gd	0,014 ± 0,004	1,00 ± 0,02	51,0	5,29
Dy	0,025 ± 0,006	1,36 ± 0,30	37,0	6,76
Eu	0,030 ± 0,006	1,69 ± 0,43	36,0	6,67
Cd	0,033 ± 0,001	1,95 ± 0,10	36,0	6,11
Облучение γ - радиацией				
Контроль	0,013 ± 0,002	10,20 ± 4,70	268	1,00
¹⁰ B	0,013 ± 0,003	25,00 ± 21,0	290	1,08
⁶ Li	0,007 ± 0,002	3,20 ± 2,10	235	0,98
Sm	0,005 ± 0,003	2,00 ± 1,60	242	0,91
Gd	0,007 ± 0,001	3,75 ± 1,35	270	1,00
Dy	0,006 ± 0,001	2,20 ± 0,78	250	0,93
Eu	0,005 ± 0,001	2,24 ± 0,41	240	0,90
Cd	0,009 ± 0,001	4,30 ± 0,69	220	0,82

Как видно из табл. 1, вещества с высоким ДСЗ ТН, вводимые в семена ячменя, различным образом действуют на эффект поражения. Необходимо учитывать тот факт, что вводимые вещества имеют не только разное значение ДСЗ ТН, но и различаются по их количеству в семенах (последние замачивались при различных концентрациях растворов); кроме того, не все элементы имеют одинаковые значения коэффициентов накопления. В связи с этим предпочтительнее пользоваться не только ДСЗ ТН, а и макросечением захвата (МСЗ) ТН, то есть иметь информацию о том, какое эффективное сечение захвата нейтрона имеет 1 грамм биоматериала. Особенно важно это для объектов со сложным элементарным составом, к которым можно отнести и семена культурных растений. При введении в семена элементов с высоким ДСЗ ТН изменяется значение МСЗ ТН тканей в зависимости от степени их обогащения. Нами была показана линейная зависимость коэффициента изменения эффективности (КИЭТН) ТН от значений логарифма ДСЗ ТН испытуемых веществ для семян гороха. Эти данные свидетельствуют о том, что изменение сечения захвата ТН для семян имеет глубокую связь с эффективностью их действия. Рассчитали МСЗ ТН для семян ячменя, а также его изменения в долях - зависимости от обогащения веществами, имеющими очень высокое ДСЗ ТН (табл.2).

Таблица 2.

Макросечение захвата (МСЗ) тепловых нейтронов для ^{10}B , ^6Li , Cd , Sm , Gd , Eu , Dy и для обогащенных ими семян ячменя

Элементы с высоким ДСЗ ТН в соединениях и в семенах	Молярность растворов для обработки семян, мм	Содержание МСЗ ТН элементов в семенах, мкг/г	МСЗ ТН для ячменя, $(\Sigma_1 + \Sigma_k)$		Соотношение $\frac{(\Sigma_1 + \Sigma_k)}{\Sigma_k}$
			элемент, Σ_1 , $\text{см}^2/\text{г} \cdot 10^3$	ячменя, Σ_k , $\text{см}^2/\text{г} \cdot 10^3$	
Контроль семян ячменя, Σ_k	^1H	0,0	9500	19,00	1,00
	^{14}N	0,0	2700	2,10	
	^{10}B	0,0	$2,5 \pm 0,4$	0,5	
$\text{H}_3^{10}\text{BO}_3$	8,0	114 ± 4	29,94	46,5	2,15
$^6\text{LiCl}$	1,0	90 ± 4	8,10	29,7	1,38
$3\text{CdSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,3	170 ± 8	2,23	23,8	1,10
SmCl_3	1,0	220 ± 6	5,07	26,7	1,23
$\text{Eu}(\text{SO}_4)_3$	0,5	110 ± 2	1,74	23,3	1,09
$\text{Gd}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,2	41 ± 3	7,25	28,9	1,34
DyCl_3	0,5	129 ± 3	0,03	21,7	1,00

Как видно из последней колонки этой таблицы, при используемых концентрациях ^{10}B , ^6Li , Gd и Sm существенным образом увеличивается МСЗ ТН у семян ячменя. Это связано, прежде всего с тем, что эти вещества обладают очень высоким ДСЗ ТН и имеют большое распространение в природе. Сравнительное низкое ДСЗ ТН имеет диспрозий, в связи с чем он дает малый вклад в величину макросечения ячменя при его предварительном обогащении. То есть по "прозрачности" семена ячменя, обогащенные Dy , почти не отличаются от необогащенных (контроля).

Зависимость КИЭТН от МСЗ ТН приведена на рис. 2 по выживаемости семян ячменя.

Как видим из рис. 2, с увеличением МСЗ ТН для семян ячменя КИЭТН уменьшается, то есть изотопы, участвующие в (n, γ) реакциях, имеют защитные свойства. Это происходит из-за того, что часть нейтронов участвует в создании редкоионизирующей компоненты захватной дозы.

При реакциях $^{10}\text{B}(n, \alpha)^7\text{Li}$ образуется ядро отдачи лития с очень высоким ЛПЭ, пробег которого равен 4,81 мм и α -частицы с пробегом 8,96 мм. А при реакции $^6\text{Li}(n, \alpha)^3\text{H}$ с испусканием α -частиц и трития значение ЛПЭ сравнительно низкое и равное приблизительно 170 кэВ/мм. Таким образом, от компаунд-ядер бора формируются локальные микродозовые поля с более высокой ЛПЭ, чем от компаунд-ядер лития (рис. 3).

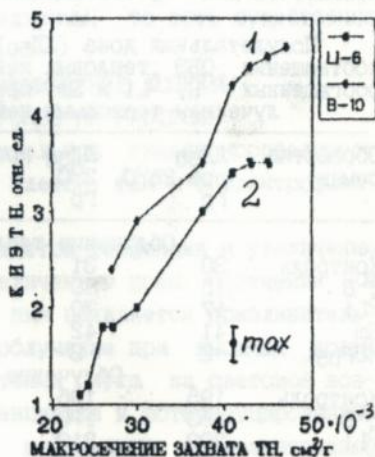
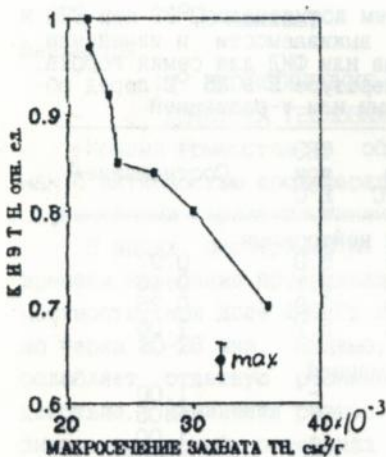
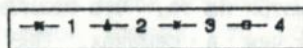
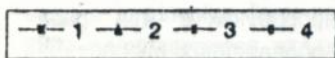
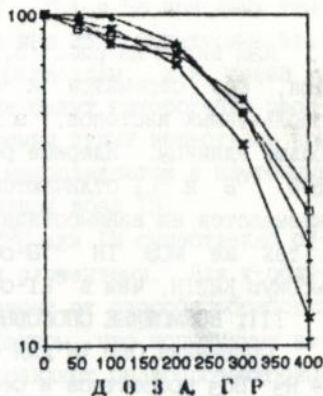
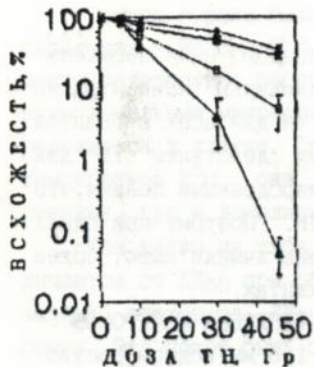


Рис.1. Всхожесть семян ячменя в зависимости от поглощенной дозы тепловых нейтронов (А) и от дозы γ -радиации (Б). Семена перед облучением не обогащали - 1 (контроль) и обогащали: ^{10}B -2, Sm -3 и ^6Li -4.

Рис.2. Коэффициент изменения эффективности тепловых нейтронов по критерию выживаемости проростков ячменя в M_1 в зависимости от макросечения захвата (МСЗ) ТН. 1-контроль (необработанные семена); семена обогащены: Dy -2, Eu -3, Cd -4, Sm -5, Gd -6 (при 0,2 мМ) и Gd -7 (при 0,3 мМ).

Рис.3. Коэффициент изменения эффективности тепловых нейтронов по выживаемости проростков ячменя в зависимости от макросечения захвата (МСЗ) ТН для ^{10}B (1) и ^6Li (2)-обогащенных семян.

Как видно из рис. 3, кривые не совпадают и не пересекаются, обе стремятся к единице при снижении концентрации используемых изотопов, а также, что КИЭ ТН для всех вариантов больше единицы. Ядерные реакции (n,α) под действием ТН для ядер ^{10}B и ^6Li отличаются локальными микродозными полями, что сказывается на взаимосвязи КИЭ ТН и МСЭ ТН. Поэтому при одних и тех же МСЭ ТН ^{10}B -обогащенные семена ячменя имеют более высокую КИЭТН, чем в ^6Li -обогащенных вариантах.

III. ВОЗМОЖНЫЕ СПОСОБЫ ИЗМЕНЕНИЯ ОБЭ ТЕПЛОВЫХ НЕЙТРОНОВ

Сравнение ОБЭ ТН для обработанных в 1,5 мМ водном растворе $\text{H}_3^{10}\text{BO}_3$ проростков и семян гороха дает информацию о вкладе излучений с низкой или высокой ЛПЭ в эффект повреждения. Несмотря на то, что количество бора в проростках в два раза выше, чем в семенах, ОБЭ ТН для ^{10}B -обогащенных проростков меньше, чем для ^{10}B -обогащенных семян (Табл. 3).

Таблица 3.

Полулетальная доза (ЛД₅₀) по выживаемости и изменение соотношения ОБЭ тепловых нейтронов или ФИД для семян гороха, обогащенных ^{10}B , ^6Li и Sm, при температуре 2 и 26 °С перед облучением тепловыми нейтронами или γ-радиацией

Обработка семян	ЛД ₅₀ при 26°С, Гр	ЛД ₅₀ при 2°С, Гр	ОБЭ при 26°С	ОБЭ при 2°С	Соотношение*
Облучение тепловыми нейтронами					
Контроль	30	31	6.5	6.3	0.97
^{10}B	12	80	13.3	2.1	0.16
^6Li	17	70	11.8	3.0	0.25
Sm	41	42	5.4	5.7	1.06
HCP05	2	3			
Облучение γ-радиацией					
Контроль	195	196	-	-	1.00
^{10}B	160	170	-	-	1.05
^6Li	200	210	-	-	1.00
Sm	220	240	-	-	1.09
HCP05	5	6			

*Примечание: для облученных тепловыми нейтронами - ОБЭ, γ-радиацией - ФИД.

Здесь исключительно важное значение имеют два обстоятельства. У проростков количество воды выше, за счет этого увеличивается вклад γ-компоненты в общую поглощенную дозу ТН. И второе - у проростков линейные размеры клеток больше, чем у клеток зародыша семян, что может влиять на расстояние между местом распада компаунд-ядер бора и чувствительным объемом (мишенью). Второе обстоятельство играет немаловажную роль в эффекте поражения.

Семена гороха были обогащены ^{10}B , ^6Li и Sm при двух температурах - 26°C и 2°C . Известно, что при 26°C испытуемые элементы гетерогенно распределяются по органеллам, и в связи с этим локальные микродозовые поля также будут гетерогенно распределяться в клетке. При обогащении семян этими веществами при температуре 2°C , они, в основном, накапливаются в клеточных стенках, где и локализуется вся захватная доза ТН.

Как видно из табл. 3, LD_{50} при 2°C для ТН существенно отличается от LD_{50} при обогащении этими элементами. Для γ -облученных вариантов LD_{50} почти не зависит от способа обработки семян. Это может быть связано с тем фактом, что испытуемые вещества у γ -облученных образцов проявляют радиопротекторные свойства в пострadiационный период. А действие на них сказывается в первичные фазы повреждения. Так как треки α -частиц (при 2°C) располагаются вдали от чувствительной мишени, то соответственно, их ОБЭ снижается. Поэтому отношение ОБЭ ТН при 2°C к ОБЭ при 26°C становится меньше единицы, то есть существенно снижается.

IV. БИОФИЗИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ДЕЙСТВИЯ ТЕПЛОВЫХ НЕЙТРОНОВ НА РАСТЕНИЯ

Ионный гомеостаз в образовательных тканях коррелирует как с активностью пролиферативных клеток, так и с электрофизиологическими характеристиками.

В наших экспериментах наблюдается тенденция к увеличению времени колебания потенциала с увеличением дозы облучения, в частности, при дозе 400 Гр первый пик появляется приблизительно через 20-25 мин. Видимо, γ - облучение при высоких дозах ослабляет ответную реакцию растения нута на световое воздействие. Изменения разности потенциалов и фотоиндуцированный биоэлектрический потенциал дают информацию о неравновесном состоянии ионов между симпластом и свободным пространством в мезофилле листа и о роли биоэнергетических процессов в поддержании этого неравновесия.

Сходные данные мы получили для облученных ТН растений. Но вопрос о том, можно ли по биофизическому отклику отделить эффекты ПИ иалучения от РИ, остается открытым. Для ответа на этот вопрос мы провели специальные опыты, целью которых было изучение распределения значений мембранного потенциала на корневых волосках гороха, повреждения в которых формировалась за

счет различных микродозовых полей. Для этого семена гороха Богатырь чешский обогащали ^{10}B и Sm и не обогащали этими веществами (контроль) и подвергли действию ТН либо γ -лучей. При выбранных дозах ТН или γ -радиации выживаемость облученных образцов колебалась в пределах 5-10 %. Для каждого варианта было проведено не менее 30 измерений биопотенциала, что дало нам возможность построить их распределение в зависимости от значений потенциала.

Среднее значение мембранного потенциала для контрольных вариантов ($74,0 \pm 2,0$) достоверно отличается от вариантов, где семена обогащали ^{10}B (54.8 ± 2.1) и Sm (53.5 ± 3.8) и облучали ТН, а также для γ -облученных проростков ($41,0 \pm 3.5$) мВ. Хотя различия средних значений биопотенциалов между облученными ТН и γ -радиацией не достоверны, но они различаются по дисперсии значений мембранных биопотенциалов. Это свидетельствует о том, что ТН все же более существенно, чем РИ излучение, подавляет метаболизм эпидермальных клеток гороха.

Иначе говоря, если при воздействии редкоионизирующего излучения мы встречаем клетки с непрерывным уровнем повреждений, то при использовании плотноионизирующего излучения только часть выживших клеток в состоянии поддержать метаболическую активность. Эту идею более полно иллюстрируют данные, полученные на семенах ячменя - изменение митотического индекса и выхода метафазных aberrаций (табл. 4 и 5).

Таблица 4.
Значения ОБЭ тепловых нейтронов для ^{10}B и Sm -обогащенных и необогащенных семян ячменя сорта Эльгина по уровню 50 % изменения митотического индекса

Варианты опыта	Доза, ЛД ₅₀ , Гр	ФИД или ОБЭ ТН	Коэффициент изменения эффективности ТН
γ -облучение			
Контроль	140	1.00	-
^{10}B -обог. сем.	140	1.00	-
Sm -обог. сем.	145	1.05	-
Облучение тепловыми нейтронами			
Контроль	40	3.5	1.0
^{10}B -обог. сем.	32	4.4	1.3
Sm -обог. сем.	42	3.4	1.0

Как видно из табл. 4, ТН вызывает большие, чем γ -облучение, задержки в делении клеток.

Из табл. 5 следует, что с увеличением плотности локальных микродозовых полей выход aberrаций хромосомного типа увеличи-

вается, по сравнению с выходом хроматидных aberrаций, т.е. "тяжесть" одиночных событий в повреждении клеток играет решающую роль у облученных ТН растений.

Таблица 5.
Выход хроматидных и хромосомных aberrаций на одну метафазную клетку ячменя

Варианты опыта	Число aberrаций на одну метафазную клетку	Тип aberrации		Отношение aberrаций хроматидного типа к хромосомным
		хроматидный	хромосомный	
Облучение тепловыми нейтронами				
Контроль (9,75 Гр)	1.8±0.2	0.4	1.4	0.29
¹⁰ B (9.00 Гр)	2.0±0.1	0.4	1.6	0.25
Sm (9.78 Гр)	1.8±0.3	0.5	1.3	0.38
γ-облучение (200 Гр)				
Контроль	2.6±0.3	1.5	1.1	1.36
¹⁰ B	2.4±0.1	1.4	1.0	1.40
Sm	2.4±0.4	1.5	0.9	1.66

Методом щелочной и нейтральной элюции исследовали структурное состояние генома интерфазных меристематических клеток корешков проростков гороха после облучения ТН и γ-радиацией. Меристемные участки трехдневных корешков, выросших из облученных ТН и γ-радиацией семян, инкубировали в течение 2 часов в 0.2 МБК/мл растворе ³H- тимидина и выделяли ядра, которые подвергали ступенчатой элюции. Полученные данные свидетельствуют о том, что в γ-облученных вариантах в элюирующий раствор переходит более значительное количество фрагментов ДНК, чем в контроле. Также было проведено исследование содержания ДНК, получаемой в результате ступенчатой щелочной элюции ядер из клеток проростков и количества ДНК во фракциях спектрофотометрическим методом при длинах волн 268 и 284 нм.

Мы полагали, что если основная масса вновь синтезированной ДНК является продуктом репаративного синтеза, равномерно распределенного по ДНК всех фракций, то элюаты будут мало отличаться друг от друга. Если же γ- и облучение индуцирует в ядрах клеток синтез ДНК, подобный репликативному, то мы должны зарегистрировать обогащение новосинтезированным продуктом одной из элюируемых фракций. Скорее всего эта фракция при кратковременном (по сравнению с периодом S) мечении должна состоять из наиболее коротких однонитевых меченных фрагментов ДНК, которые могут соответствовать интермедиатам пострадиационной репликации или фрагментам Оказаки. Полученные нами результаты подт-

вердили последнее предположение.

Известно, что в покоящихся семенах клетки находятся в состоянии G_1 блока, а в первые сутки роста клетки активно пролиферируют. В связи с этим возрастание числа элизируемых фрагментов связано с двунитевыми фрагментами ДНК, переходящими в элизируемый раствор при pH 9.6, тогда как при pH 12.1, высвобождающем одонитевые фрагменты, их количество в опыте и контроле отличается незначительно, особенно для семян, облученных ТН.

Методом щелочной элюции мы выявляли двунитевые повреждения ДНК в зависимости от объема аликвоты, промывающей мембранный фильтр. Получено, что количество смывой с фильтра ДНК превышало таковое в контроле. Это свидетельствует о наличии определенного количества долгоживущих неотрепарированных повреждений, которые в процессе щелочной элюции реализуются в виде разрывов. С увеличением захватной дозы облучения относительное количество элизируемых с фильтра фрагментов ДНК возрастало почти линейно (рис. 4).

Полученные результаты подтверждают, что в геноме клеток меристемы корешков гороха существуют долгоживущие неотрепарированные повреждения, которые подобны щелочеллабильным сайтам или шивкам ДНК-белок и в процессе щелочной элюции реализуются как одно- и/или двунитевые разрывы.

V. ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ РАСТЕНИЙ ТЕПЛОВЫМИ НЕЙТРОНАМИ

Радиопротекторное действие при облучении растений редкоизирующей радиацией определяется факторами биологической природы. А при облучении плотноизирующей (ПИ) радиацией с высокой ЛПЭ большее значение приобретают факторы физической природы, изменяющие характер микрораспределения поглощенной энергии, структуры трека, условия диффузии и взаимодействия свободных радикалов и кислорода [Красавин Е. А., 1986].

Для исследования зависимости радиобиологического ответа растений на ТН от физиологического состояния семян и содержания в них некоторых веществ семена гороха сорта Рапорт перед воздействием γ -излучения и ТН обогащались цистином, либо редкоземельным элементом - гадолинием. Следует отметить, что ядра атомов гадолиния, захватывая ТН, испускают γ -кванты, благодаря чему можно увеличить вклад редкоизирующих излучений в захватную дозу.

Установлено, что при обогащении семян перед облучением гадолинием, а также цистином в сочетании с гадолинием эффект действия ТН снижался, а при обогащении семян одним цистином - не сказывался на лучевом поражении семян. Во всех вариантах, где семена облучали γ -излучением, растения отличались от контрольных, т.е. наблюдалось защитное действие этих веществ, особенно гадолиния в сочетании с цистином. Значения ОБЭ для контроля, гадолиния, цистина и гадолиния с цистином по критерию ОСР составляют, соответственно, 6.0, 4.7, 5.8, и 4.8, а по критерию изменения массы надземной части растений - 6.3, 6.3, 6.4 и 6.3. Как видно из приведенных данных, цистин проявляет радиопротекторные свойства при действии γ -радиации, но не при облучении ТН. К подобным результатам мы пришли, когда в качестве радиопротектора использовали также цистеамин. Очевидно, лучевые реакции растения при воздействии ПИ излучения не поддаются модификации известными протекторами. Если в качестве модификатора использовать гадолиний - вещество, которое под действием ТН участвует в (n, γ) - ядерных реакциях, то можно ослабить эффективность ПИ излучения.

VI. РАДИОУСТОЙЧИВОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ПО ПРОДУКТИВНОСТИ СОРТОВ ГОРОХА

Исследовали радиустойчивость генетически близкородственных сортов гороха, районированных на Украине в течение последних 20 лет. Определяли LD_{50} у 4-х сортов гороха (Рапорт, Черниговский 190, Уладовский юбилейный, Рамонский 77), облученных γ - радиацией или ТН, по выживаемости основного корня: в первом случае значения LD_{50} составили соответственно; 140, 175, 200 и 245 Гр, во втором - 22, 28, 30 и 40 Гр. При этом ОБЭ ТН для всех изученных сортов была близка к 6.3 ± 0.3 (индивидуальные значения - 6.4, 6.3, 6.6 и 6.1 соответственно).

Как видим, достоверные различия между сортами по значению ОБЭ ТН не существенны. Между величинами LD_{50} при облучении γ - радиацией и ТН имеется положительная линейная корреляция: при заданной повторности коэффициент корреляции составил $r = 0.74$.

Однако, в большинстве случаев не удается выявить определенные гены, непосредственно контролируемые радиустойчивость семян, и чаще всего она определяется многими факторами, оказывающими не прямое действие на те процессы, от которых зависит уровень радиустойчивости: наличием нативных радиопротекторов,

антиоксидантов, интенсивностью репарации и т. п.

Не исключено, что некоторые из физиолого-биохимических свойств растений, определяющих их продуктивность, могут быть связаны с радиустойчивостью. В связи с этим представляет интерес сравнение вышеуказанных сортов гороха по урожайности, которую рассчитывали согласно литературным данным на основании достоверности соответствующих оценок. Получены следующие значения урожайности: для сорта Рамонский 77 - 26.2 ± 2.1 ц/га, Уладовский юбилейный - 34 ± 1.2 , Черниговский 190 - 36 ± 1.1 и для сорта Рапорт - 39.4 ± 1.4 ц/га.

Как видно из рис. 5 зависимость LD_{50} ТН от урожайности линейная, обратная, и коэффициент корреляции равен -0.743 . Изучаемые сорта были районированы на Украине с 1973 по 1990 гг., поочередно сменяя друг друга, согласно указанной в тексте последовательности. Новые сорта в основном избирались по увеличению их продуктивности. Показано, что увеличение урожайности сортов (в среднем на 5 ц/га) сопровождалось снижением радиустойчивости их семян. Очевидно из-за того, что все сорта, кроме Черниговского 190, генетически близки между собой, у них наблюдается четкая обратная корреляция этих признаков. Видимо, гены (признаки), переданные при селекции по линии повышения их продуктивности, не сцеплены с генами, определяющими радиустойчивость, поэтому часть генов (блоков генов) теряется при селекционном процессе или при гибридизации.

VII. ПРОЯВЛЕНИЕ РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ТЕПЛЫХ НЕЙТРОНОВ В ОНТОГЕНЕЗЕ ЯЧМЕНЯ

В предыдущем разделе показано, что радиустойчивость генетически детерминирована. В связи с этим исследовали как будет изменяться степень повреждения растений в течение онтогенеза в зависимости от микродозовых полей с различной ЛПО, сформированных под действием ТН. Для этого изучали фенотипические изменения у растений ячменя, выросших из семян, обогащенных ^{10}B и Sm и не обогащенных, а также облученных γ -радиацией и ТН в течение всего периода вегетации (Табл. 6).

Как видим из табл. 6, ^{10}B -обогащенные семена по критерию полевой всхожести при облучении ТН оказались поврежденными в наибольшей степени. Для семян, обогащенных Sm , наблюдалось снижение эффективности повреждающего действия ТН.

Для расчета ОБЭ ТН как основа используются дозовые кривые

для γ -облученных семян. Однако, и бор, и самарий могут модифицировать радиоустойчивость семян, вследствие чего полудетальные дозы по критерию всхожести (LD_{50}^{BCX}) при γ -облучении различны для контрольных и обработанных бором и самарием семян. Для преодоления данного затруднения КИЭТН можно нормировать по ФИД, т.е. учесть модифицирование радиоустойчивости семян исследуемыми веществами. По значениям КИЭТН/ФИД, видно, что полевая всхожесть ^{10}B -обогащенных семян пострадала в большей степени, чем у Sm -обогащенных вариантов: она оказалась на 25% ниже, чем у семян, обработанных дистиллированной водой (контроль) и облученных ТН. Если эти данные по полевой всхожести сравнить с теми, которые получены по критерию выживаемости в конце вегетации, то для семян ячменя, обогащенных Sm и облученных ТН наблюдается увеличение повреждений. Также видно, что значения ФИД, при γ -облучении рассчитанные по критерию выживаемости растений к концу вегетации, существенно выше, чем для полевой всхожести.

Таблица 6.
Радиобиологические характеристики всхожести семян и выживаемости растений ячменя

Обработка семян	Полудетальная доза		ФИД	ОВЭ	КИЭТН	КИЭТН/ФИД
	γ -радиации, Гр	ТН, Гр				
По критерию всхожести						
Контроль	255	25	1.00	10.0	1.00	1.00
^{10}B	290	7	1.14	41.4	4.10	3.60
Sm	325	34	1.27	9.5	9.5	0.75
По критерию выживаемости						
Контроль	210	47	1.00	4.5	1.0	1.0
^{10}B	290	10	1.40	29.0	6.5	4.6
Sm	310	43	1.45	7.2	1.6	1.1

Значения полудетальной дозы по критерию выживаемости ($LD_{50}^{выжив}$) для ТН у всех вариантов для периода достаточного проявления выживаемости семян были выше, чем соответствующие значения LD_{50}^{BCX} . Видимо, это объясняется тем, что полевая всхожесть отражает процент семян, у которых инактивированных клеток зародыша оказалось меньше некоторого критического значения, в то время, как на показателях роста оказываются процессы репопуляции в меристемных тканях, регенерация и клеточный отбор. Это хорошо проявляется по критерию кустистости, которая в зависимости от дозы облучения изменялась за счет подгона. По продуктивной кустистости различия выражены еще менее

реакто. Растения в вариантах с γ -облучением по высоте не различались, чего нельзя сказать о растениях, выросших из семян, облученных ТН. В этом случае растения всех вариантов достоверно различались по высоте, что, видимо, отражает специфику действия ТН, состоящую в ингибировании восстановительных, регенерационных процессов.

Органообразование у проростков ячменя существенным образом зависит от дозы облучения семян. Кроме того, плотноионизирующее излучение, особенно в случае обработанных ^{10}B семян, приводит к тяжелым отдаленным последствиям, когда число стерильных колосков с ростом захватной дозы сильно увеличивается.

Масса 1000 зерен, взятых из главных колосьев, слабо зависит как от дозы γ -облучения, так и от поглощенной дозы ТН. Только для вариантов с обогащением семян ^{10}B масса 1000 зерен снижалась с увеличением поглощенной дозы. По длине главного колоса наблюдается незначительное увеличение размеров колосков под действием γ -радиации и ТН. Эти тест-реакции оказались устойчивыми к действию радиации и почти не зависели от дозы даже для радиации с высоким ЛПЭ.

Известно (Плешков В.П., 1980), что около 40% белков зерна ячменя составляют гордеины. Разработанная ранее их классификация основана на подвижности их компонентов. Было обнаружено 6 гордеин-кодирующих локусов. Гордеины, контролируемые одним локусом, располагаются на электрофореграмме в определенной зоне, что облегчает идентификацию аллельных вариантов блоков компонентов. Исходя из того, что они наследуются как простые менделевские признаки, и в популяции ячменя представлены значительным числом вариантов, они могут служить эффективными генетическими маркерами не только в селекционном процессе, но и в радиобиологии.

Используя метод SDS-электрофореза, мы проанализировали 500 зерен, облученных тепловыми нейтронами во всех использованных нами дозах, как с обработкой ^{10}B и Σm , так и без нее. При данном объеме исследованной выборки зерна с мутантным типом по гордеин-кодирующим локусам не были обнаружены. Аналогичные данные были получены и для опыта с использованием γ -радиации для такого же объема выборки.

Таким образом, эффективность действия радиации по-разному отражается в тех или иных тест-реакциях растения. Такие

тест-реакции, как изменение высоты растения, длины главного колоса и масса 1000 зерен, количество и спектр электрофорграмм запасающих белков, определенное по гордеин-кодирующим генам, слабо реагируют на дозу радиации. Различия по каждой из них в зависимости от применяемых факторов не достоверны, согласно полученным значениям НСР₀₅.

Глубокое повреждение семян под влиянием ТН, обнаруживаемое к концу вегетации, по-видимому, имеет фундаментальный радиобиологический смысл. Очевидно, повреждения, полученные в начальный период развития зародыша, определялись характером микродозовых полей и сохранялись в виде особых скрытых форм повреждений растения, в дальнейшем приводящих к инактивации, репродуктивной и интерфазной гибели клеток и т.д. Необходимо отметить, что при больших дозах ТН появляется большое число уродливых форм колосьев ячменя.

VIII. ОБЗ ТН ПО ИНДУКЦИИ СОМАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ У ГЕТЕРОЗИГОТНОЙ ПО YELLOW ГЕНУ СОИ

Линия сои L65-1237xT219, гетерозиготная по yellow гену, является одним из редких видов покрытосеменных растений, которая при прорастании расщепляется на 3 фенотипически различающихся класса проростков, в соотношении 1:2:1. Это растения, соответствующие генотипу $u_{11}u_{11}$ (присутствие гена yellow в гомозиготном состоянии обуславливает ярко-оранжевую окраску растения), в альтернативном состоянии $U_{11}u_{11}$ (темно-зеленые растения) и $U_{11}U_{11}$ (ген U_{11} частично доминирует над u_{11} , и поэтому гетерозиготные растения фенотипически четко отличаются от обоих видов гомозигот, имея светло-зеленую окраску). На листьях гомозиготных растений определяли прямые и обратные мутации. На листьях гетерозиготных растений ($U_{11}u_{11}$) - митотический кроссинговер $U_{11}U_{11} \leftarrow U_{11}u_{11} \rightarrow u_{11}u_{11}$ и другие случаи соматического мозаицизма (табл. 7 и 8).

Используя данные из табл. 8 и 9, строили кривые зависимости ОБЗ ТН от поглощенной дозы (рис. 6, 7 и 8).

Видно, что кривая рис. 6 имеет колоколообразный вид и в общих чертах соответствует под концепцию классической интерпретации подобных кривых в радиобиологии.

Представленная на рис. 7 зависимость прямой мутации типа $U_{11} \rightarrow u_{11}$ от поглощенной дозы ТН снижается с ростом дозы, что соответствует общепринятому представлению.

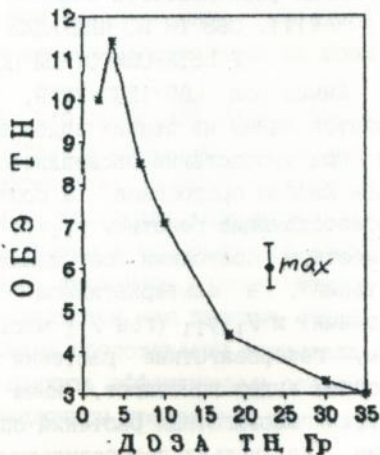
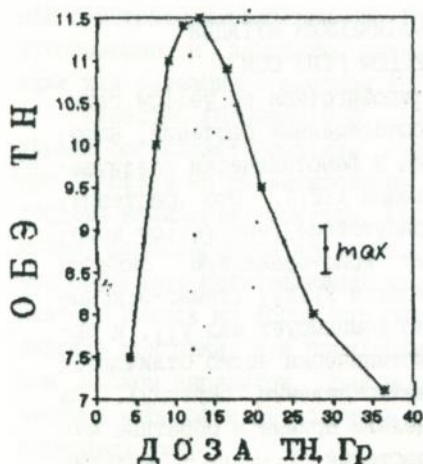
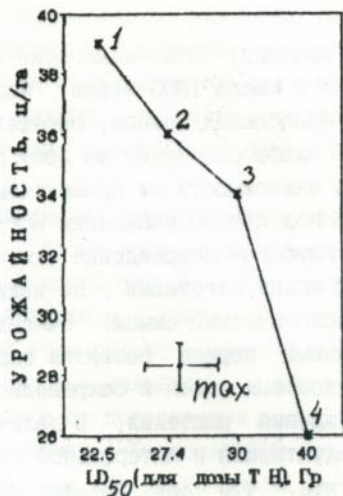
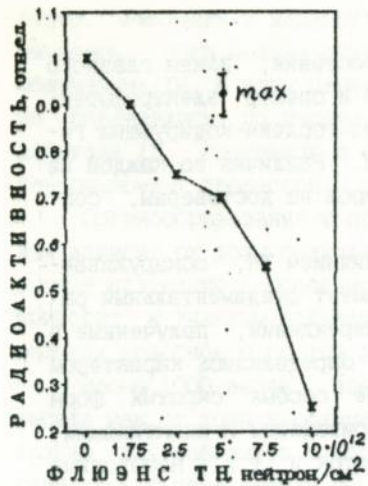


Рис. 4. Выход двойных разрывов ДНК в зависимости от флюэнса тепловых нейтронов.

Рис. 5. Зависимость полублетальной дозы тепловых нейтронов (LD₅₀) от урожайности различных сортов гороха (1- Репорт, 2- Черниговский 190, 3- Уладовский юбилейный, 4- Рамонский 77).

Рис. 6. Зависимость относительной биологической эффективности тепловых нейтронов (ОБЭ ТН) от поглощенной дозы для обратных мутаций у сои Y₁₁*Y₁₁.

Рис. 7. Зависимость ОБЭ ТН от поглощенной дозы для прямых мутаций у сои Y₁₁*Y₁₁.

Таблица 7.

Частота прямых и обратных мутаций, кроссинговера и соматического мозаицизма при облучении ТН сои

Число пятен на один простой лист	Флюэнс тепловых нейтронов, нейтрон/см ²					
	0	10 ¹¹	5·10 ¹¹	10 ¹²	2.5·10 ¹²	5·10 ¹²
Частота прямых мутаций						
Светло-зелен.	0.1±0.1	0.5±0.1	1.8±0.2	2.4±0.3	2.8±0.3	3.1±0.4
Желтых	0.2±0.1	0.2±0.1	0.3±0.1	0.6±0.1	0.9±0.1	1.9±0.1
Общее число	0.3±0.2	0.7±0.2	2.1±0.3	3.0±0.4	3.7±0.3	5.0±0.5
Частота обратных мутаций						
Зеленых	0.2±0.1	0.6±0.2	9.0±1.2	20.1±1.6	58.4±2.1	83.4±2.8
Частота кроссинговера и соматического мозаицизма						
Темно-зелен.	0.7±0.4	1.4±0.1	8.0±0.5	17.0±1.5	45.7±2.1	74.5±2.1
Желтых	0.2±0.2	0.8±0.1	5.7±0.6	20.0±1.2	25.5±2.3	86.0±2.4
Двойных	0.1±0.1	0.1±0.1	0.8±0.3	2.8±1.5	11.0±1.3	15.0±1.2
Общее число	1.0±0.5	2.3±0.1	14.5±0.9	39.8±2	82.2±3.0	175.6±5.0

Таблица 8.

Частота прямых и обратных мутаций, кроссинговера и соматического мозаицизма при облучении семян сои γ -радиацией

Число пятен на один простой лист	Доза γ -излучений, Гр				
	0	100	200	300	400
Частота прямых мутаций					
Светло-зел.	0.1±0.1	3.1±0.7	8.5±0.8	18.3±1.3	26.5±4.3
Желтых	0.2±0.1	2.0±0.5	5.2±0.7	8.0±1.0	14.0±4.3
Общее число	0.3±0.2	5.1±0.9	13.7±1.0	26.3±1.5	40.5±5.0
Частота обратных мутаций					
Зеленых	0.2±0.2	30.0±1.2	68.0±4.0	128.0±12.0	179.0±29.0
Частота кроссинговера и соматического мозаицизма					
Темно-зелен.	0.5±0.3	35.0±0.2	42.3±0.3	55.5±0.5	64.8±2.8
Желтых	0.2±0.1	32.5±0.1	41.1±0.4	53.0±1.0	56.2±3.9
Двойных	0.1±0.1	3.0±0.1	5.0±0.6	8.5±0.5	10.0±2.9
Общее число	0.8±0.4	70.5±0.8	88.4±1.0	117.0±1.4	131.0±4.1

Обе кривые рис. 8 имеют нетрадиционный вид: с ростом дозы они увеличиваются. То есть плотноионизирующее излучение ускоряет индуцированный кроссинговер и увеличивает мозаицизм на листовой пластинке. При увеличении дозы выход соматических мутаций всех видов имеет тенденцию к насыщению, т.е. кривая выходит на плато. Для таких кривых в радиобиологии приемлема интерпретация Росси и Келлерера, основанная на линейно-квадратичном описании кривых "доза-эффект", а для кривых "ОБЭ-доза" допускающая существование верхнего и нижнего предела ОБЭ. При одних и тех же дозах ТН и γ -радиации частота прямых мутаций достаточно низка. В то же время частота выхода соматических мутаций у гетерозиготных растений сравнительно высока. Видимо,

перед индуцированным митозом гомологичные хромосомы с гетерозиготными аллелями обмениваются сегментами хромосом, что приводит к гомозиготному $Y_{11}Y_{11}$ или $y_{11}y_{11}$. В случае если обе клетки инициируют пул клеток, то получаются двойные пятна, если по каким-то причинам (обычно из-за позиционной информации между клетками) деление одной из клеток не происходит, то мы наблюдаем одиночные пятна. Видимо, высокая эффективность ТН, по сравнению с γ -лучами, в индукции митотического кроссинговера обусловлена особенностями распределения поглощенной дозы ТН и может быть связана с тем, что протоны от реакции $^{14}\text{N}(n,p)^{14}\text{C}$ могут с большой вероятностью вызвать двунитевые разрывы в молекулах ДНК.

IX. ЗАВИСИМОСТЬ ВЫХОДА ГЕНЕТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ В M_2 ОТ ПОВРЕЖДЕНИЙ, ВОЗНИКАЮЩИХ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ В M_1

В радиобиологии уже долгие годы дискутируется вопрос о взаимосвязи выхода генетических мутаций в M_2 , которые сохраняются и передаются через генеративные клетки, с радиобиологическими эффектами, полученными соматическими клетками в M_1 . Этот вопрос представляет непреходящий интерес, особенно для определения степени риска в популяционных анализах, когда одно поколение особей получает определенный уровень коллективной радиационной нагрузки излучением с различной ЛПЭ.

Цель опыта состояла в том, чтобы оценить качественное и количественное влияние захватной дозы на частоту выхода и спектр хлорофилльных мутаций ячменя. А также проследить за тем, как гетерогенность распределения микродозовых полей в поколении M_1 у ^{10}B и Sm -обогащенных семян в поколении M_0 влияет на выход мутаций в последующих поколениях.

На рис. 9 показана частота появления хлорофилльных мутаций в поколении M_2 , полученном из семян ячменя, обработанных в M_0 ^{10}B и Sm и облученных ТН и/или γ -радиацией.

Видно, что зависимость у γ -облученных в M_0 семян от дозы имеет нелинейный характер. Для полноты картины мы провели подобные эксперименты с элементами ^6Li , Cd , Gd , Eu , Dy (табл. 9). Данные всех экспериментов были подвергнуты компьютерной обработке по методу среднеквадратического отклонения, а все кривые аппроксимировали к кривым типа:

$$Y - Y_0 + kD^N, \quad (2)$$

где y и y_0 означают выход хлорофилльных мутаций при дозах D и

Д-О, к - коэффициент пропорциональности для дозы, показывающей выход хлорофильных мутаций на единицу дозы в Грех, N- показатель степени для дозы.

Таблица 9.

Параметры для кривых "доза-хлорофильные мутации" (U_0 , к, N), значения дозы для выхода 2%-ных мутаций и ОГЭ (или ФИД) в M_2 у ячменя

Обработка семян	U_0	к	N	Доза для выхода 2% мутаций	ОГЭ или ФИД
Облучение тепловыми нейтронами					
Контроль	0.24±0.01	0.52±0.01	0.66±0.01	6.2	23.9
^{10}B	-0.20±0.14	1.40±0.85	0.69±0.15	1.8	121.1
6Li	0.02±0.02	1.00±0.18	0.61±0.04	2.5	68.0
Sm	0.21±0.16	0.48±0.16	0.43±0.08	22.0	10.9
Cd	0.07±0.09	0.21±0.04	0.90±0.04	12.0	16.3
Dy	-0.02±0.02	0.25±0.08	0.86±0.08	10.0	20.5
Eu	0.08±0.03	0.29±0.16	0.83±0.15	10.0	22.0
Gd	0.16±0.06	0.22±0.02	1.10±0.04	13.0	16.2
Облучение γ -радиацией					
Контроль	0.05±0.06	$3.6 \cdot 10^{-4} \pm 1.9 \cdot 10^{-4}$	1.72±0.08	148	1.00
^{10}B	0.50±0.07	$1.6 \cdot 10^{-8} \pm 1.4 \cdot 10^{-8}$	3.39±0.13	218	1.47
6Li	-1.10±1.25	$6.5 \cdot 10^{-3} \pm 9.3 \cdot 10^{-3}$	1.20±0.16	170	1.15
Sm	0.67±0.66	$2.4 \cdot 10^{-8} \pm 3.0 \cdot 10^{-8}$	3.25±0.19	240	1.62
Cd	-0.40±0.60	$1.4 \cdot 10^{-4} \pm 9.7 \cdot 10^{-5}$	1.85±0.11	195	1.32
Gd	-0.41±0.63	$1.5 \cdot 10^{-4} \pm 1.1 \cdot 10^{-4}$	1.80±0.12	205	1.33
Eu	-0.02±0.03	$3.4 \cdot 10^{-6} \pm 1.1 \cdot 10^{-6}$	2.50±0.05	220	1.57
Dy	-0.07±0.05	$3.8 \cdot 10^{-6} \pm 5.0 \cdot 10^{-6}$	2.50±0.20	210	1.42

Отсюда видно, что U_0 в принципе должен соответствовать спонтанному уровню мутирования. Однако, в силу того, что семена в M_0 перед облучением были обогащены различными элементами, обладающими высокими значениями ДСЭ, то, соответственно, и уровень спонтанного мутирования для этих экспериментов различен. В отличие от U_0 , коэффициенты к и N намного информативнее. Их значения достоверно отличаются как для различных вариантов с обогащением элементами, так и в зависимости от типа радиации, действию которой были подвергнуты семена в M_0 . Порядок N для облученных ТН вариантов не превосходит единицы, а у γ -облученных - он выше 1. Это свидетельствует о нелинейности кривых "доза-эффект" для обоих типов ионизаций. Несмотря на отдаленность мутаций в M_2 от эффектов повреждений в M_0 , различия от типов облучения не элиминируются. В связи с этим нами был проведен опыт с целью получить достоверные данные хотя бы на уровне $P > 0.95$. Под действием ТН появление двухцветных мутаций преобладает над появлением одноцветных, что совсем не характерно для действия γ -лучей (табл.10). Особенно высока частота мутаций типа maculata. Отмечена также повышенная частота

редких мутаций с пестрой окраской. Видимо, подобные типы мутаций появляются за счет митотического кроссинговера в M_1 , отражая главным образом геномные нарушения. Эта гипотеза подтверждается многочисленными данными о появлении пестролистности, соматического мозаицизма в M_1 при больших дозах γ -радиации.

Таблица 10.

Выход в M_2 семей $P \pm m$ (%) с хлорофильными мутациями разных типов у ячменя сорта Романтик для обогащенных ^{10}B и/или Sm и облученных в M_0 тепловыми нейтронами или γ - радиацией семян

Типы мутаций в M_2	Обогащение веществами			Обогащение веществами		
	Доза тепловых нейтронов, Гр			Доза γ - радиации, Гр		
	контроль	^{10}B	Sm	контроль	^{10}B	Sm
	45.8	48.7	46.3	400	400	400
Albina	2.20± ±0.39	1.96± ±1.94	0.56± ±0.21	5.67± ±1.33	3.92± ±2.70	5.67± ±1.30
xantha	0.52± ±0.19	1.96± ±1.94	0.79± ±0.25	1.67± ±0.74	3.92± ±2.70	0.67± ±0.47
Viridis	0.79± ±0.24	-	0.56± ±0.21	1.76± ±0.74	1.96± ±1.96	0.67± ±0.47
Alboviridis	0.22± ±0.13	3.92± ±2.72	0.08± ±0.08	0.67± ±0.47	-	0.33± ±0.33
Xantha viridis	0.14± ±0.10	1.96± ±1.94	0.40± ±0.18	0.33± ±0.33	-	0.33± ±0.33
Alboxantha	0.07± ±0.07	1.96± ±1.94	-	0.33± ±0.33	-	-
Tigrina	0.22± ±0.13	-	-	-	-	-
Striata	0.22± ±0.13	-	0.24± ±0.14	-	-	-
Maculata	2.39± ±0.41	7.84± ±3.76	0.24± ±0.14	0.33± ±0.33	1.96± ±1.96	0.33± ±0.33
Все типы мутаций	6.72± ±0.67	19.60± ±5.60	2.80± ±0.50	10.60± ±1.80	11.80± ±4.50	8.70± ±1.57

Несмотря на то, что мы проанализировали большое число семей в M_2 , все же при высоких дозах характеристика спектра мутаций не всегда достоверна [Рашидов Н.М., и др. 1992]. У растений, полученных из ^{10}B -обогащенных семян, облученных ТН,

расширение спектра существенно для всех уровней доз. Это важный факт, т.к. если по данным рис. 9 рассчитать относительную генетическую эффективность ТН для 2X уровня выхода хлорофильных мутаций, то для контрольных, ^{10}B и Sm - обогащенных семян этот показатель будет равен соответственно 15, 100 и 10. То есть в рассматриваемом варианте выход мутаций в M_2 в 6.7 раза выше, а у Sm-обогащенных - на 30% ниже, чем в контроле. При высоких дозах γ -облучения незначительное расширение спектра связано с тем, что при частичном снятии повреждающего эффекта и увеличении выживаемости растений спектр мутаций проявляется более полно, что обнаруживается появлением большого количества редких типов мутаций. В связи с этим для радиационного мутагена целесообразно использовать такие радиопротекторы, для которых ФИД имел бы высокие значения, что позволяло бы облучать семена при более высоких дозах.

Под действием ТН выход хлорофильных мутаций увеличивается в зависимости от дозы и от того, каким веществом обрабатывали семена перед облучением.

У растений в M_2 , в варианте с обработкой семян в M_0 ^{10}B и облучением ТН оказался очень высоким выход мутаций, а спектр мутаций был намного шире, чем у контрольных вариантов. Под действием ТН у ^{10}B -обогащенных семян вклад в захватную дозу α -частиц достигал существенного значения.

Размен ТН на γ -кванты в ядерной реакции самария, увеличивая дозу с низким значением ЛПЭ, слабо влияет на выход и спектр хлорофильных мутаций в M_2 .

По-видимому, когда в клеточном пространстве формируются гетерогенные микродозовые поля излучения с высоким значением ЛПЭ, выход хлорофильных мутаций увеличивается, а спектр их расширяется. В случае более гомогенного - в силу своей природы - редкоизионизирующего излучения выход мутаций в M_2 снижается, а спектр сужается. В самом деле, как видно из рис. 10, все редкоземельные элементы и кадмий снижают эффективность действия ТН на семена. Dy, Eu, Cd и Sm обнаруживают тенденцию к снижению эффективности действия ТН в зависимости от МСЗ ТН. Но при обеих концентрациях Gd защитный эффект данного вещества по выходу хлорофильных мутаций не так высок, как ожидался по логике полученных данных. Это, видимо, связано с тем, что ^{157}Gd при захвате ТН, кроме γ -лучей, испускает также Оже электроны, которые нельзя отнести к излучениям с низкой ЛПЭ. Низкоэнергетические Оже электроны ближе к плотноизионизирующим излучениям с высокой ЛПЭ.

Теперь несложно перейти к вопросу о передаче повреждений из поколения в поколение. С этой целью мы попытались отыскать математическую связь повреждений в M_1 с выходом хлорофильных мутаций в M_2 .

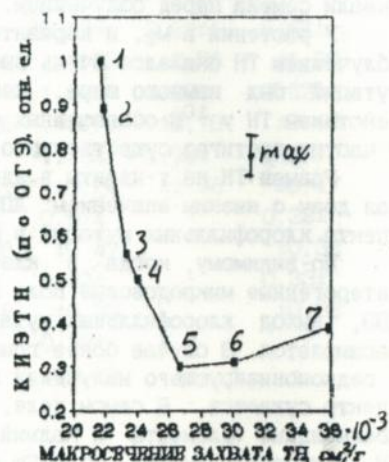
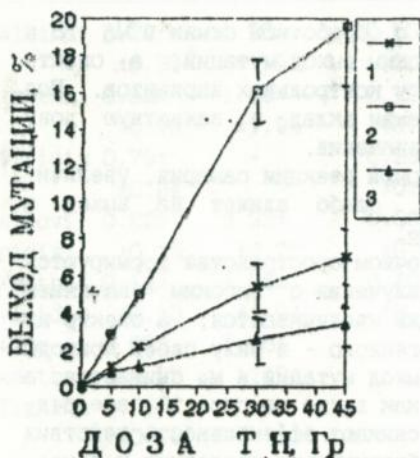
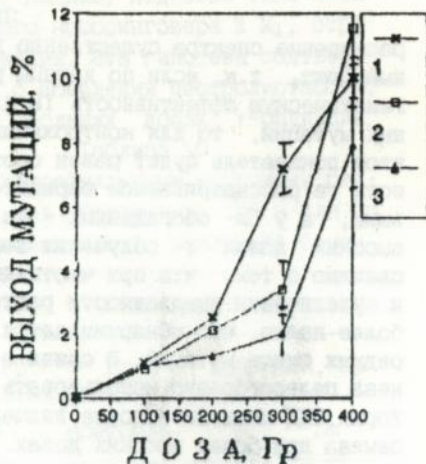
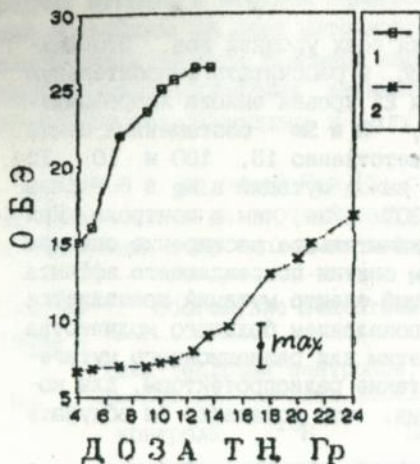


Рис. 8. Зависимость относительной биологической эффективности тепловых нейтронов для выхода митотического кроссинговера (кривая 1) и общего выхода всех наблюдаемых мутаций (кривая 2) от поглощенной дозы у гетерозиготной сои ($Y_{11}y_{11}$).

Рис. 9. Выход хлорофильных мутаций в поколении M_2 , полученном из семян ячменя, которые в M_0 были обработаны ^{10}B (2), Sm (3) или не обработаны этими веществами (1) и облучены; γ -излучением (А) или тепловыми нейтронами (В).

Рис. 10. Относительная генетическая эффективность тепловых нейтронов (ОГЭ Тн) по выходу хлорофильных мутаций у ячменя в зависимости от макросечения захвата тепловых нейтронов. 1-контроль (необработанные семена); семена обогащены: Ду-2, Eu-3, Cd-4, Sm-5, Gd-6 (при 0,2 мМ) и Gd-7 (при 0,3 мМ).

Идея заключается в следующем. Имея семейство кривых "доза-эффект" по критерию всхожести или выживаемости (табл. 2), описываемых уравнением: $\ln[1-(1-T)^{1/m}] = -lD$, мы характеризуем их параметрами (m, l) . С другой стороны, мы также имеем кривые хлорофильных мутаций в M_2 в зависимости от дозы, которые описываются формулой: $Y = Y_0 + kD^N$ и характеризуются параметрами (k, N) (табл. 9). Следовательно, наша задача заключалась в том, чтобы найти такое соотношение между (m, l) и (k, N) , чтобы при определении параметров кривых в M_1 , можно было аналитически определить параметры (k, N) для кривых в M_2 , то есть прогнозировать выход хлорофильных мутаций в M_2 . Был проведен компьютерный поиск формы зависимости (k, N) от (l, m) и получено, что она имеет довольно сложный функциональный вид для различных микродозовых полей, образующихся под действием ТН и γ -радиации. Теоретические и экспериментальные данные хорошо согласуются для семян, облученных ТН. А в случае γ -облученных семян для того, чтобы данные совпадали, необходимо умножить частные функции на 10^3 . Это означает, что при γ -облучении семян в M_1 большая часть дозы "пропадает" и не реализуется в выходе хлорофильных мутаций в M_2 . То есть при γ -облучении у растений в отдаленных периодах роста и развития интенсивно идут восстановительные процессы, которые и снижают эффективность действия. В то время, как для облученных семян ТН эти процессы не существенны и поэтому коэффициенты k и l соответствуют друг другу однозначно. Видимо, при воздействии ТН сильно подавлены репарационные процессы. Очевидно, микродозовые поля под действием ТН в 10^3 раза эффективнее, чем обычная γ -радиация. Даже при широком размахе варьирования повреждений в M_1 соответствие выхода мутаций в M_2 не нарушается у вариантов, облученных в M_0 ТН.

В связи с этим надо заметить, что в последние годы в области мутагенеза растений часто применяют высокие дозы γ -радиации. Экспериментаторы (практики-селекционеры) пользуются различными радиопротекторами, чтобы увеличить дозу облучения и, соответственно, выход мутаций. Наши данные показывают, что этот подход не очень перспективен для вызывания широкого спектра мутаций в M_2 . Видимо, лучше использовать радиацию с высокой ЛД₅₀, чем высокую дозу γ -облучения в сочетании с различными радиопротекторами. Все это свидетельствует о целесообразности применения метода формирования поглощенной дозы ТН в экспериментальном мутагенезе и селекции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Идея формирования поглощенной дозы ТН была предложена в 1936 году Лочером [Locher G., 1936] применительно к БНЭТ. Но до последнего времени ее реализация была затруднена из-за двух существенных проблем: способа внедрения достаточного числа

атомов с высоким ДСЗ ТН избирательно, только в определенные клетки, и возможности обеспечения необходимого числа нейтронов. Успеха в решении этих проблем удалось достичь лишь в последние годы. Сейчас этими задачами интенсивно занимаются в ряде лабораторий США, Европы, Японии и Австралии. Для подобных исследований ряд преимуществ имеют растительные объекты, и поэтому в вышеперечисленных научных центрах данные, полученные на растениях, используются в качестве теоретической основы для клинических исследований животных и человека. Особенно важны растительные объекты для исследований генетических последствий нейтронного облучения.

В связи с этим нами предпринята попытка объединить в единую схему действие ТН на растения (рис. 11).

Из рис. 11 видно, что формирования поглощенной дозы ТН предшествует этап введения элементов с высоким ДСЗ ТН. Обогащение элементами можно направленно менять, что повлечет за собой варьирование топографии микродозовых полей. А это, в свою очередь, обуславливает модификацию повреждения.

Далее по метаболическому или генетическому компартменту клетки можно наблюдать эффекты повреждения в M_1 и M_2 . Эксперименты показывают, что если выбранная тест-реакция чувствительна к действию облучения, то характер полученных в первичных актах повреждений в зависимости от иалучения не нивелируется, а, наоборот, передается из M_1 поколения в M_2 с особой отчетливостью при формировании микродозовых полей с высокой ЛПЭ иалучения.

Опыты, проведенные с использованием ядер захвата ТН, становятся намного информативнее при интерпретации их с помощью микродозиметрических понятий в сочетании с математическим моделированием.

Микродозиметрический анализ показал, что в растительных клетках ядра атомов с высоким значением ДСЗ ТН модифицируют радиобиологические эффекты: ^{10}B и ^6Li усиливают поражение клеток, а Cd, Gd, Sm, Dy, Eu, наоборот, ослабляют его.

Значение ОГЭ ТН для выхода хлорофильных мутаций в M_2 характеризуется обратной зависимостью от дозы, что вполне согласуется с литературными данными. Но анализ кривых "доза-эффект" с применением математического моделирования при помощи компьютерной обработки данных и сравнение с теоретически ожидаемыми результатами показывает, что при переходе повреждений из M_1 в M_2 большая часть их элиминируется для растений, которые были облучены в M_0 редкоионизирующим иалучением. А для семян, в M_0 облученных ТН, вероятность передачи повреждений из поколения в поколение увеличивается в 10^3 раз. Этот факт доказывает преимущества использования ТН в экспериментальном мутагенезе.

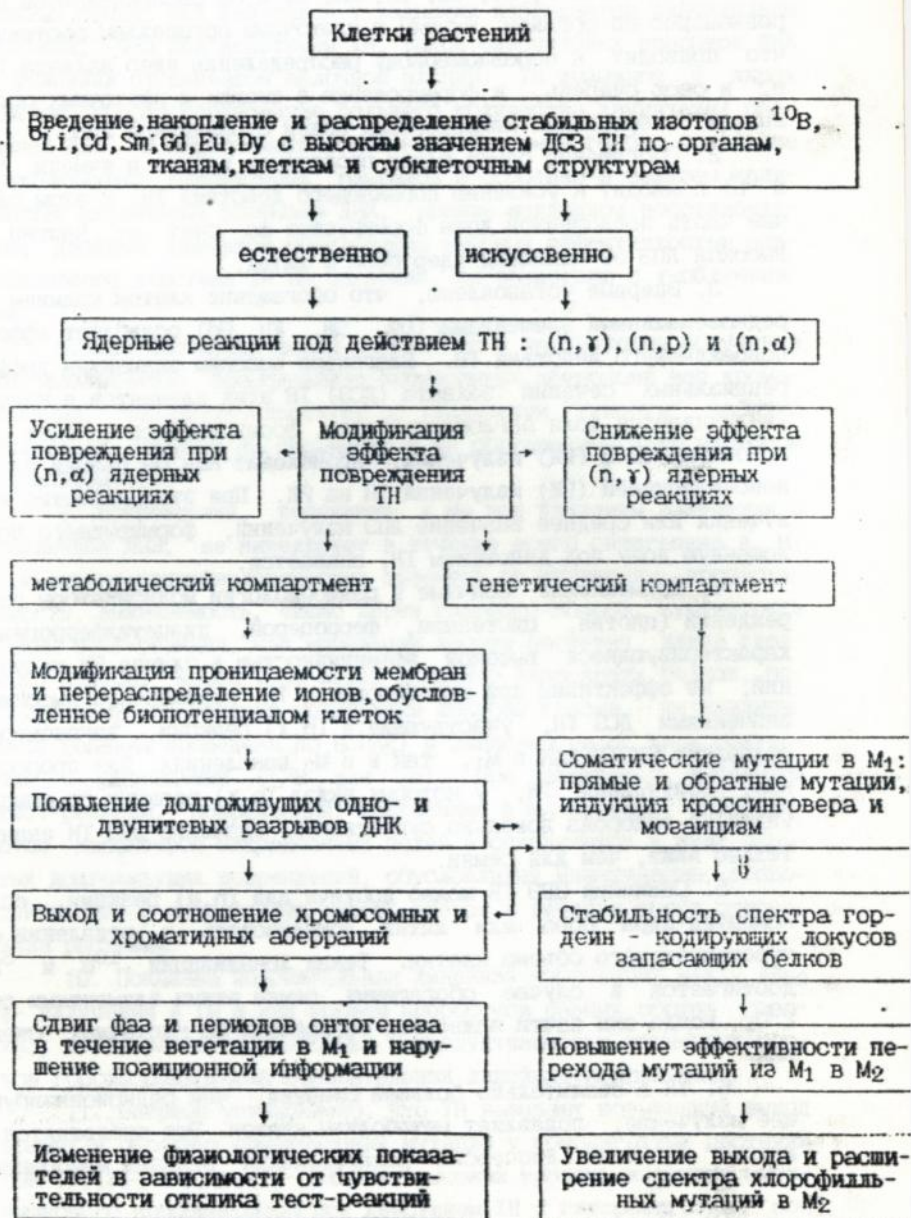


Рис. 11. Схема проявления лучевого повреждения у высших растений при захватном накоплении дозы ТН.

Исходя из вышеперечисленных результатов опытов, нами были сделаны следующие выводы.

ВЫВОДЫ

1. Элементы В, Li, Cd, Eu, Sm, Dy и Gd распределяются неравномерно по органам, тканям и клеточным органеллам растений, что приводит к неравномерному распределению ядер захвата ТН, и, в свою очередь, к формированию в тканях и клеточных органеллах гетерогенных микродозовых полей с различной ЛПЭ.

2. Обогащение семян и/или проростков гороха и ячменя ^{10}B и ^6Li приводит к усилению поражающего действия ТН. В этом случае часть поглощенной дозы формируется за счет α -частиц с высокой ЛПЭ от компаунд-ядер бора и лития.

3. Впервые установлено, что обогащение клеток кадмием и редкоземельными элементами (Dy, Sm, Eu, Gd) ослабляет эффект повреждающего действия ТН. Благодаря высоким значениям дифференциальных сечений захвата (ДСЗ) ТН этих элементов в клетке увеличивается доля поглощенной дозы, формирующаяся за счет редкоизионизирующей (РИ) иалучения, происходит как бы обмен плотноизионизирующей (ПИ) иалучения ТН на РИ. При этом качество излучения или среднее значение ЛПЭ излучения, формирующего поглощенную дозу под действием ТН, снижается.

4. Применяемые обычные в радиобиологии модификаторы повреждений (цистин, цистеамин, ферроцерон, диацетилферроцен), характеризующиеся высокой эффективностью в случае РИ иалучений, не эффективны при использовании ТН. Элементы с высокими значениями ДСЗ ТН, участвующие в (n, γ) реакции, закономерно ослабляют КИЭТН как в M_1 , так и в M_2 поколениях. Для проростков, облученных ТН, у которых вклад (n, γ) реакции от компаунд-ядер водорода довольно существенен, значение ОБЭ ТН значительно ниже, чем для семян.

5. Снижения ОБЭ ТН можно достичь для (n, α) реакции, если компаунд-ядра бора или лития локализовать в отдалении от чувствительного объема клетки. Такая локализация ^{10}B и ^6Li достигается в случае обогащения семян этими элементами при 2°C , когда они почти полностью собираются на клеточных стенках.

6. ТН в значительно большей степени, чем редкоизионизирующее иалучение, подавляет метаболизм клеток. Это проявляется в низком значении дисперсии распределения величин мембранных

биопотенциалов клеток для вариантов, облученных ТН.

7. При одинаковых уровнях всхожести проростков из облученных семян, под действием γ -радиации наблюдается значительно больший, чем под действием ТН, выход одностранных разрывов ДНК в условиях ступенчатой щелочной элюции. ТН вызывают в ядрах клеток гороха образование большого количества двустранных разрывов ДНК. В меристематических клетках семян гороха появление долгоживущих одностранных разрывов и особенно в большом количестве двустранных разрывов ДНК, крайне медленное восстановление двойных разрывов обусловлены высокой эффективностью повреждающего действия ТН на растения, по сравнению с γ -облучением.

8. При насыщении семян ячменя ^{10}B и последующем облучении ТН наблюдается преобладание хромосомных aberrаций над хроматидными, что свидетельствует об увеличении "тяжести" событий выделения энергии по сравнению с не обогащенным этим изотопом вариантом.

9. Повреждения, возникшие в M_0 под влиянием ионизации с различной ЛД₅₀, не нивелируются в течение всего онтогенеза в M_1 при оценке радиобиологических эффектов по критериям: прорастаемость, выживаемость, число зерен главного колоса, кустистость. Такие тест-реакции, как изменение высоты растения, длина главного колоса, масса 1000 зерен и спектр запасящих белков, определенный по гордеин-кодирующим локусам генома, не различаются (оценка проведена по НСР₀₅) в зависимости от типа облучения и обогащения (^{10}B или Sm). При адекватно выбранной тест-реакции, повреждения, нанесенные в M_0 клеткам, определяются характером микродозовых полей и сохраняются в виде скрытых долгоживущих повреждений, обуславливая инактивацию, репродуктивную и интерфазную гибель клеток в течение всего онтогенеза растений.

10. Показана положительная линейная корреляция между ЛД₅₀ γ -излучений и ТН и для корней проростков разных сортов гороха; между радиоустойчивостью и продуктивностью изученных сортов гороха обнаружена отрицательная линейная корреляция.

11. Впервые установлено, что ТН вызывают повышенный выход прямых и обратных соматических мутаций у гомозиготных растений сои ($Y_{11}Y_{11}$ и $y_{11}y_{11}$). Отмечен высокий уровень индукции митотического кроссинговера под действием ТН у гетерозиготной сои

($U_{11}Y_{11}$) и его увеличение в зависимости от поглощенной дозы.

12. Установлен высокий уровень выхода хлорофильных мутаций, при облучении семян, обработанных в M_0 ^{10}B и 6Li ТН; их спектр намного шире, чем для аналогично облученных ТН, не обработанных этими веществами. Семена, за счет α -частиц, освобожденных из компаунд-ядер бора и лития. При обогащении семян в M_0 Cd , Eu , Dy , Gd , Sm перед облучением ТН увеличивается вклад редкоионизирующего компонента в общую поглощенную дозу, что слабо влияет на выход и спектр хлорофильных мутаций в M_2 .

13. Эффективность перехода повреждений из поколения в поколение у семян, облученных в M_0 ТН при всех вариациях формирования локальных микродозовых полей, на 3 - 4 порядка выше, чем γ -облученных семян. Использование метода формирования поглощенной дозы ТН в экспериментальном мутагенезе и селекции растений более перспективно, чем обычно применяемое в практике γ -облучение в высоких дозах.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Рашидов Н.М., Гродзинский Д.М. Формирование гетерогенного дозного поля в тканях растений методом захватной дозы под действием тепловых нейтронов. Физиол. и биохим. культ. растений. Киев, Т. 12, No 2 1980, с. 609-614.

2. Рашидов Н.М. Микродозиметрические основы действия тепловых нейтронов на обогащенные бором, литием и кадмием зародыши семян. В кн. "Уроbnи организации процессов у растений", Наукова думка, Киев, 1981, с. 119-122.

3. Рашидов Н.М. Вариации формирования микродозового поля и их влияние на радиобиологические эффекты поражения. Там же с. 122-125

4. Рашидов Н.М., Гродзинский Д.М., Кутлахмедов Ю.А., Афанасьева Е.Л. Биофизическая защита и сенсбилизация растений методом Захватной дозы при облучений тепловыми нейтронами. В кн. "Тезисы докладов стенд.сообщений. 1 Всесоюзный биофизический съезд. М., 1982 г. Т. 2, с. 259.

5. Рашидов Н.М., Гродзинский Д.М. ОБЭ тепловых нейтронов семян и проростков гороха. Тез. докл. Всесоюзной научн. конф. молодых ученых по с.-х. радиологии. 1983, с. 22-23.

6. Рашидов Н.М. Метод захватного накопления дозы в исследованиях надежности биологических систем при действии тепловых нейтронов. Сб. научн. трудов "Надежность биол. систем" Киев, Наукова думка, 1985, с. 207-208.

7. Рашидов Н.М., Кутлахмедов Ю.А., Афанасьева Е.Л., Туленинов К.Л., Гродзинский Д.М. Защита и сенсбилизация растений методом захватной дозы при действии тепловых. Инф.бюллетень "Научный Совет по проблемам радиобиологии: М. 30, 1984 с. 57-58.

8. Рашидов М.Н., Кутлахмедов Ю.А., Туленинов К.Л. Метод захватной дозы в формировании спектра хлорофильных мутаций у

- ячменя при действии тепловых нейтронов. Тезисы докл. II Всесоюзной конф. по прикладной радиобиологии. Часть 1. Киев, 1985, с. 24-25
9. Grodzinsky D.M., Rashidov N.M. Relationship between properties of neutron capture doses and their effect on plants. In book of abstracts 16-th annual meeting of European society for radiation biology. Poland, 1981, (7-10 sept) p.51-52.
10. Grodzinsky D.M., Aliev J.A., Kutlahmedov Yu.A., Rashidov N.M., Afanaseva E.L. Radiobiological effects depending on local microdose fields of thermal neutrons in plants. In book of 7-th International Congress of Radiation Research, Amsterdam, 1983, E 6-8.
11. Rashidov N.M., Grodzinsky D.M., Kutlahmedov Yu.A. Common and specific phenomenon capture doses of thermal neutrons in plants. Ibid E6-10.
12. Рашидов Н.М., Ахмедов Дж.Х., Алиев Л.А. Влияние производных ферроцена на некоторые физиологические показатели нута. В трудах V Всесоюзной междуниверст. конференции "Биология клетки" г. Тбилиси, Часть I, с. 295
13. Рашидов Н.М. Модификация действия тепловых нейтронов у растений. Тезисы докл. III Всесоюзн. конф. по сельскохозяйств. радиологии, Т. 2. Обнинск, 1990, с. 4-5
14. Рашидов Н.М., Гродзинский Д.М. Радиоустойчивость различных сортов гороха при действии гамма-радиации и тепловых нейтронов. Там же, с. 17- 18.
15. Рашидов Н.М., Гродзинский Д.М., Туленинов К.Л. Действие тепловых нейтронов на семена, обогащенные гадолинием и цистином. Там же, с. 29-30.
16. Рашидов Н.М., Адыгаалов В.Ф., Гусейнааде Ф.Р., Алиев Л.А. Влияние производных ферроцена на проростки нута, выращенных из гамма-облученных семян. Физиол. и биохим. культ. растений. -1990, Т. 22, No 6, 553- 558 с.
17. Рашидов Н.М., Гродзинский Д.М. Перспективы использования тепловых нейтронов в радиационном мутагенезе. Проблемы прикладной радиобиологии растений В мат. Всесоюзной конференции по прикладной радиобиологии растений (17-23 сент.1990), г. Чернигов, 1990, с. 94- 95.
18. Рашидов Н.М., Гродзинский Д.М. Радиоустойчивость различных по урожайности сортов гороха. Физиол. и биохим. культ. растений. -1991, Т.23, No 6, 575- 581 с.
19. Rashidov N.M. Relationship between radiosensitivity and productivity of different varieties of *Pisum sativum*. I. European society of new methods in agricultural research. XXIInd annual meeting (sept. 16-20, 1991, Antalya) Turkiye. 1991 p. 16.
20. Rashidov N.M., Grodzinsky D.M., Alekperov U.K. Study of first and second generation of barley after treatment seeds with B-10 Sm and thermal neutrons and/or gamma-rays. European society of new methods in agricultural research. Ibid, p. 56.
21. Rashidov N.M. Relationship between radiosensitivity and productivity of different varieties of *Pisum sativum*. II. Ibid, p. 91.
22. Рашидов Н.М., Гродзинский Д.М., Алекперов У.К. Частота и спектр хлорофильных мутаций у ячменя при формировании захватных доз под влиянием тепловых нейтронов. Цитология и генетика 1992, т. 26, N 3, с. 25- 32.

23. Рашидов Н.М., Павленко Ю.А. Компьютерная программа для статистической обработки экспериментальных данных по величине наименьшей существенной разности в многофакторном опыте. Цитология и генетика. - Киев, Деп. в ВИНТИ 03.04.92. No 1153-В92, 10 с.

24. Рашидов Н.М., Гродзинский Д.М., Малиновский Ю.Ю. Нерешаровані пошкодження ДНК меристемних кліток гороху після опромінення насіння тепловими нейтронами. Тези доповідей II З'їзд Українського товариства фізіологів рослин, Київ, 1993 р., Том II, с. 57- 58.

25. Рашидов Н.М., Підрадський В.Г., Гродзинський Д.М. Особливості розподілу мембранних потенціалів для клітин гороху збагачених ^{10}B , Sm та опромінених тепловими нейтронами і γ -радіацією. - Також там. Том II, с. 58- 59.

26. Малиновський Ю.Ю., Рашидов Н.М., Гродзинський Д.М. Довгоживучі пошкодження ДНК кліток меристеми гороху після γ -опромінення насіння - Також там., Том. I, с. 140.

27. Rashidov N.M. Relationship between radiosensitivity and productivity of different varieties of *Pisum sativum*. Journal of Food Physics, Hungary, Budapest, 1992, V. LVI (Supplement), p. 143.

28. Рашидов Н.М., Гродзинский Д.М., Гальченко С.А. Биологические эффекты у ячменя, при облучении семян, обработанных бором-10 и самарием, тепловыми нейтронами и гамма-радиацией. Радиационная биология. Радиэкология. -1994, (в печати)

29. Рашидов Н.М., Гродзинский Д.М. Относительная биологическая эффективность тепловых нейтронов по индукции соматических мутаций у *Glycine max*. Препринт 92- 34, Инст. Кибернетики АН Укр. 1992, 15 с.

30. Рашидов Н.М., Гродзинский Д.М. Действие ТН на семена ячменя, обогащенные изотопами с высоким эффективным сечением захвата тепловых нейтронов. Препринт 92- 35, Инст. Кибернетики АН Укр., 1992, 11 с.

31. Подрядский В.Н., Рашидов Н.М. Гродзинский Д.М. Действие ТН и γ -радиации на мембранные потенциалы эпидермальных клеток корня гороха. В материалах радиобиологического съезда, Киев, 1993, т. III, с. 809.

32. Рашидов Н.М., Гродзинский Д.М. Особенности изменения значений относительной биологической эффективности тепловых нейтронов в зависимости от макросечения захвата ткани семян ячменя. В материалах радиобиологического съезда, Киев, 1993, т. III, с. 858.

33. Малиновский Ю.Ю., Рашидов Н.М., Гродзинский Д.М. Долгоживущие повреждения ДНК клеток меристемы гороха после облучения семян. В материалах радиобиологического съезда, Киев, 1993, т. II, с. 636- 637.

34. Rashidov N.M. Physiological aspects of radiation damage in higher plants. SozEp Hefte (Institut fur Sozialmedizin und Epidemiologie des Bundesgesundheitsamtes) N. 4, 1993, p. 146.

35. Rashidov N.M., Grodzinsky D.M. Induction of mitotic crossing-over and somatic mutations in soybean under action thermal neutrons and/or gamma-rays. Ibid p. 147.

1880

1880

23. Радванс И.М., Давыдов В.А., Шварцман А.С. Исследования по теории статистического оценивания параметров функции распределения случайных величин с непрерывными функциями плотности. Докл. АН СССР, 1962, № 173-182, 10 с.

24. Радванс И.М., Гродзинский Л.А., Морозовский И.С. Исследования по теории статистического оценивания параметров функции распределения случайных величин с непрерывными функциями плотности. Докл. АН СССР, 1962, № 173-182, 10 с.

25. Радванс И.М., Шварцман А.С., Гродзинский Л.А. Исследования по теории статистического оценивания параметров функции распределения случайных величин с непрерывными функциями плотности. Докл. АН СССР, 1962, № 173-182, 10 с.

26. Радванс И.М., Шварцман А.С., Гродзинский Л.А. Исследования по теории статистического оценивания параметров функции распределения случайных величин с непрерывными функциями плотности. Докл. АН СССР, 1962, № 173-182, 10 с.

27. Radwan I.M., Grodzinskiy L.A., Morozovskiy I.S. Estimation of parameters of different varieties of Poisson process. Journal of Pure Physics, Hungary, Budapest, 1962, v. 11, No. 1, pp. 1-10.

28. Радванс И.М., Гродзинский Л.А., Морозовский И.С. Исследования по теории статистического оценивания параметров функции распределения случайных величин с непрерывными функциями плотности. Докл. АН СССР, 1962, № 173-182, 10 с.

29. Радванс И.М., Гродзинский Л.А., Морозовский И.С. Исследования по теории статистического оценивания параметров функции распределения случайных величин с непрерывными функциями плотности. Докл. АН СССР, 1962, № 173-182, 10 с.

30. Радванс И.М., Гродзинский Л.А., Морозовский И.С. Исследования по теории статистического оценивания параметров функции распределения случайных величин с непрерывными функциями плотности. Докл. АН СССР, 1962, № 173-182, 10 с.

31. Радванс И.М., Гродзинский Л.А., Морозовский И.С. Исследования по теории статистического оценивания параметров функции распределения случайных величин с непрерывными функциями плотности. Докл. АН СССР, 1962, № 173-182, 10 с.

32. Радванс И.М., Гродзинский Л.А., Морозовский И.С. Исследования по теории статистического оценивания параметров функции распределения случайных величин с непрерывными функциями плотности. Докл. АН СССР, 1962, № 173-182, 10 с.

33. Радванс И.М., Гродзинский Л.А., Морозовский И.С. Исследования по теории статистического оценивания параметров функции распределения случайных величин с непрерывными функциями плотности. Докл. АН СССР, 1962, № 173-182, 10 с.

34. Радванс И.М., Гродзинский Л.А., Морозовский И.С. Исследования по теории статистического оценивания параметров функции распределения случайных величин с непрерывными функциями плотности. Докл. АН СССР, 1962, № 173-182, 10 с.

ТИРАЖ 100 экз.

БЕСПЛАТНО

457954



AB 30.285

AB 30.285