

ЛЕКЦИЯ 8

РАДИОБИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Методы радиобиологии растений

1. Условия облучения растений в эксперименте и в природе. Типы излучений, применяемые при изучении радиобиологических эффектов. Способы и методы облучения растений.

2. Количественные характеристики и мера радиобиологических эффектов. График дозовой зависимости (график «доза-эффект») и его основные параметры.

1. Условия облучения растений в эксперименте и в природе. Типы излучений, применяемые при изучении радиобиологических эффектов. Способы и методы облучения растений.

На радиобиологические эффекты растений оказывают влияние *следующие факторы*: 1) радиочувствительность клеток, тканей и органов растений; 2) вид излучения и способ облучения растений; 3) распределения поглощенной энергии в клетках и тканях.

К условиям облучения растений относят:

1) тип ионизирующего излучения; 2) доза и мощность дозы облучения; 3) продолжительность облучения растения; 4) состояние облучаемого растения в момент облучения и фаза развития растения; 5) сочетание облучения с другими факторами физической или химической природы (свет, температура, кислород и др.); 6) метод облучения, который выбирают для облучения всего растения или отдельных его частей и органов и др.

В природе растения облучаются одновременно всеми видами излучений от естественных радионуклидов (K^{40} , C^{14} , H^3 , Be^7 и др.) и от искусственных радионуклидов ($Cs-137$, $Sr-90$ и др.). Внешнее облучение происходит за счет радионуклидов, находящихся в почве, в воздухе и на поверхности самих растений, а также за счет космического излучения. Внутреннее облучение происходит за счет радионуклидов, находящихся в структуре тканей растений, куда они попадают на протяжении всей его жизни через корни и вегетативные органы.

В эксперименте можно разнообразить условия облучения растений путем выбора источника и программ облучения.

Радиобиологические реакции растений определяются *факторами двух групп*: 1) факторы, связанные с природой растений; 2) факторы, связанные с характеристиками излучения и способом облучения. Для облучения используют различные типы излучений, относящихся к *некорпускулярному, или электромагнитному, излучению и корпускулярному излучению*. В качестве электромагнитного излучения используют рентгеновское излучение и гамма-излучение. *Рентгеновское излучение* образуется при торможении быстрых электронов, получаемых в вакууме (электромагнитное излучение с энергией квантов 0,12-1237 кэВ), а *гамма-излучение* – при радиоактивном распаде и при реакции аннигиляции. В последнее время используется преимущественно гамма-излучение. В качестве источников гамма-излучения используют

радиоактивные изотопы кобальт-60 и цезий-137. Энергия гамма-квантов кобальта-60 составляет 1,33 и 1,17 МэВ, период полураспада – 5,3 года. Энергия гамма-квантов цезия-137 составляет 0,66 МэВ, период полураспада – 30 лет. Гамма-излучение более высокой энергии получают при торможении электронов высокой энергии в ускорителях заряженных частиц. Для облучения растений гамма- и рентгеновским излучением используют точечные источники излучения, специальные установки, оранжереи, фитоклиматические камеры, оборудованные источниками излучения, а также специальные гамма-поля. При использовании точечного источника равные дозы получают растения, находящиеся по концентрическим окружностям вокруг источника. В фитокамерах для получения более однородного поля используют несколько слабых по мощности источников, которые размещают равномерно по всей камере. Гамма-поле представляет собой участок земли, окруженный высоким земляным валом или бетонной стеной, в центре которого в шахте находится источник излучения. Для облучения растений источник дистанционно выводится из шахты, фиксируется на нужной высоте. Растения, расположенные ближе к источнику, получают большую дозу облучения. В последнее время широко используется *синхротронное излучение*, которое представляет собой непрерывный спектр энергии в виде электромагнитных волн, электронов и ультрафиолетового излучения.

В качестве *корпускулярного излучения* используют различные частицы и ядра химических элементов. Широко используются *бета-частицы* непрерывного энергетического спектра в виде электронов и позитронов, которые возникают при распаде ядер нестабильных атомов. Источниками бета-частиц являются фосфор-32, сера-35 и тритий. Радиоактивные изотопы фосфор-32 и сера-35 используются в виде солей, которые хорошо растворяют в воде. Водные растворы этих изотопов вводят в питательную среду или в почву, откуда изотопы через корни поступают в растения. Водными растворами этих изотопов опрыскивают вегетирующие растения или отдельные их органы, а семена замачивают перед посевом в растворах. Для облучения отдельных органов растений используют специальные аппликаторы, т.е. пластинки, с нанесенными на них радиоактивными изотопами.

Кроме бета-излучения используют *нейтроны и заряженные частицы* с величиной энергии от сотых долей до миллионов эВ. Поток нейтронов получают в ядерных реакторах и на специальных нейтронных генераторах, где нейтроны возникают при ядерных реакциях или в цепной реакции деления урана-235. Из активной зоны реактора нейтроны выводятся через специальные каналы. В качестве источника нейтронов используют также трансуранный элемент калифорний-252, который наносят на аппликатор или на иглу. Заряженные частицы используют в виде потоков ускоренных протонов, дейтронов, альфа-частиц (ядра гелия) и ядер других элементов, которые получают в ускорителях (бетатронах, циклотронах, синхротронах, синхрофазотронах и линейных ускорителях). В качестве источников альфа-излучения используют следующие радиоактивные изотопы: радий-226, полоний-210, плутоний-239.

Радиобиологические эффекты растений зависят не только от величины дозы и вида излучений, но и от способа облучения, потому что со способом облучения связано время накопления дозы. При облучении растений используют *различные способы облучения*:

1 способ – острое однократное облучение. Растения получают дозу за сравнительно «короткий» промежуток времени;

2 способ – острое фракционированное облучение. Растения получают дозу за несколько фракций, которые могут быть эквивалентные и неэквивалентные при разном или одинаковом времени между фракциями;

3 способ – пролонгированное облучение, которое может быть фракционированное и не фракционированное. Растения получают дозу за время, существенно превышающее «короткий» промежуток времени;

4 способ – хроническое внешнее облучение, т.е. непрерывное облучение, когда мощность дозы сохраняется постоянной или изменяется на протяжении всей жизни растений;

5 способ – хроническое внутреннее облучение от инкорпорированных радионуклидов, которые находятся в структуре тканей растений.

Кроме способов, связанных со временем накопления дозы, выделяют также следующие виды облучения: *равномерное* (все растение получает одинаковую дозу), *неравномерное* (органы растения получают разные дозы) и *гетерогенное* (дозу получают отдельные органы растения).

2. Количественные характеристики и мера радиобиологических эффектов. График дозовой зависимости (график «доза-эффект») и его основные параметры.

Современная радиобиология изучает количественную зависимость проявления радиобиологического эффекта от величины дозы. Количественной характеристикой радиационно-химических процессов является *величина выхода продукта реакции или радиационно-химический выход (G)*. Он показывает количество образовавшихся молекул или атомов на 100 эВ поглощенной энергии излучения. При символе G указывают продукты реакции. Например, выход свободных радикалов при радиоллизе молекулы воды – $G_{H^{\bullet}} = 0,4$ атома; $G_{OH^{\bullet}} = 2,6$ атома. Для оценки количественной зависимости радиобиологического эффекта от дозы выделяют количественные характеристики отдельных признаков, показателей и реакции растений на облучение, по изменению которых судят о величине поражающего эффекта, степень проявления которого может оцениваться в процентах, в количественном выражении и в других единицах меры. Количественные характеристики называют *мерой радиобиологических эффектов*. Некоторые меры радиобиологических эффектов растений от субклеточного до организменного уровня приведены в таблице 1.

Зависимость радиобиологического эффекта от дозы характеризуется графиком кривой дозовой зависимости или графиком «доза-эффект». На графике на оси абсцисс откладывают величину дозы, а на оси ординат – меру радиобиологического эффекта: выживаемость клеток, выход хромосомных aberrаций, интенсивность дыхания и т.п. Если кривая графика доза-эффект описана каким-либо аналитическим выражением, его используют в качестве эмпирической модели радиобиологического эффекта. Кривые дозовых зависимостей радиобиологических эффектов у растений могут быть разнообразной формы. Например, выход генных мутаций чаще всего характеризует прямо пропорциональная зависимость от дозы. Выход хромосомных aberrаций иногда описывается квадратичной кривой, но может интерполироваться и линейной зависимостью.

Таблица 1 – Мера радиобиологических эффектов растений

Реакция растений на облучение	Наименование меры эффекта	Единица меры
1	2	3
Субклеточный уровень		
Радиационно-химическая	Выход реакции	Число превращенных молекул на единицу дозы
Повреждение ДНК	то же	Число повреждений на геном, мкг ДНК на 1 Гр
модификация оснований	то же	то же
образование однонитевых разрывов	то же	то же
образование двунитевых разрывов	то же	то же
Повреждение белковых молекул	Нарушение ферментативной активности Выход продуктов распада или модификации	Уменьшение ферментативной активности, % Число поврежденных молекул на 1 мкг белка на 1 Гр
Нарушение структуры мембран	Проницаемость плазматической мембраны	Выход катионов калия из клеток, % к норме
Нарушение клеточного метаболизма	Изменение интенсивности дыхания и т.п.	% к норме
Клеточный уровень		
Задержка деления клеток	Увеличение продолжительности клеточного цикла	% к норме
Репродуктивная и интерфазная гибель клеток	Степень выживаемость или гибель клеток	% выживших (или погибших) клеток
Образование хромосомных aberrаций	Выход клеток с хромосомными нарушениями на определенный момент времени после облучения	% клеток с хромосомными нарушениями
Организменный уровень		
Гибель многоклеточного организма	число погибших особей на определенную дату после облучения	% к общему числу особей в эксперименте
Ингибирование ростовых процессов	Высота или масса растений на определенную	% к контролю
1	2	3
Нарушение формообразования	Число листьев, побегов и других органов на растениях спустя определенное время после облучения. Число образовавшихся соцветий, цветков, плодов Дата наступления	% к норме % к контролю Соотношение

	определенной фазы развития.	продолжительности фаз в норме и при облучении
Стерильность растений (цветков)	Число стерильных растений или цветков на растении	%
Морфозы	Число растений с морфологическими аномалиями Число уродливых листьев по ярусам Число уродливых репродуктивных органов	% Соотношение числа уродливых и нормальных органов то же
Активация или ингибирование регенерационной способности	Интенсивность регенерации	% к контролю
Генетический эффект	Выход мутаций в M ₁ , M ₂ и т.д.	%

Зависимость выживаемости клеток от дозы при облучении малыми дозами носит линейную зависимость. В большинстве случаев выживаемость клеток соответствует экспоненциальной или сигмоидальной зависимости. При экспоненциальной зависимости пользуются полулогорифмическим масштабом, когда на оси ординат откладывают значения логарифма выживаемости. При строгой экспоненциальной зависимости график имеет вид прямой линии. При сигмоидальной зависимости, при облучении большими дозами, радиобиологический эффект линейно зависит от дозы, и на графике выделяется прямая, характеризующая прямолинейную зависимость. При облучении малыми дозами на графике выделяется более пологий участок кривой, который называется плечом графика. На рисунке 1 изображена кривая выживаемости проростков растений на стадии четырех листьев при облучении гамма-излучением и нейтронами.

Этот тип зависимости радиобиологического эффекта от дозы встречается наиболее часто, поэтому выделим его основные параметры или характеристики. Так как кривая имеет экспоненциальную прямую линию, тогда будет иметь место следующая экспоненциальная функция:

$$N/N_0 = 1^{-kD},$$

где N – число выживших клеток, N₀ – число облученных клеток; 1 – основание натурального логарифма, равное 2,706; k – коэффициент качества гамма-излучения, равный 1; D – доза облучения, равная 1 Гр.

Подставив значения k и D, равные 1 в формулу и получим, что выживаемость клеток, т.е. N/N₀ = 1⁻¹. Преобразовав данное выражение, получаем, что N/N₀ = 1/1 = 1/2,706 = 0,376. С учетом того, что выживаемость клеток измеряется в процентах, этот показатель умножается на 100% и получаем 37,6%. Доза, при которой выживаемость уменьшается в 1 раз, т.е. в 2,706 раза, обозначается как D₀. Величина D₀ служит мерой радиочувствительности клеток и определяется по кривой графика, как доза, при которой выживает 37% клеток от исходного количества облученных клеток. Если дозовая кривая не имеет плеча, тогда D₀ численно равна дозе, при которой выживает 36,7% или 37% клеток. Эта доза обозначается как D₃₇. Если дозовая кривая с плечом, тогда D₀=D₃₇ только в интервале доз, при

которых дозовая зависимость прямолинейна.

Величину D_{37} можно определить на графике (рис.3), опустив перпендикуляр из значения 37% выживаемости на кривую графика. Перпендикуляр, опущенный из этой точки пересечения, на ось абсцисс укажет дозу, при которой выживаемость клеток составит 37%. Согласно графика, доза, при которой погибает 37% клеток, составляет 5 Гр.

Кривые, имеющие плечо, кроме D_0 , характеризуются еще экстраполяционным числом (n), которое определяется в точке пересечения оси ординат, при экстраполяции прямолинейного участка кривой выживаемости. Значение n зависит от ширины плеча и наклона прямолинейного участка дозовой кривой. Мерой способности клеток к репарации является величина плеча, которая оценивается квазипороговой дозой D_q . Эта доза соответствует дозе, при которой выживает 100% клеток.

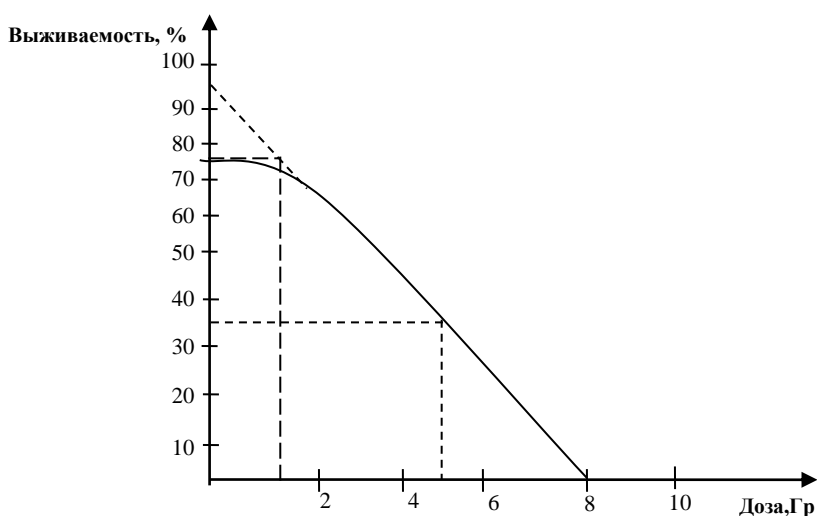


Рис. 1. Кривая зависимости графика «доза-эффект»

Для определения величины квазипороговой дозы нужно опустить перпендикуляр из оси абсцисс на экстраполяционную прямую. Перпендикуляр, опущенный из точки пересечения экстраполяционной прямой, покажет при какой дозе выживаемость составит 100%. Согласно рисунка 1 эта доза составляет 1,8 Гр. Наличие плеча на графике кривой указывает на способность клеток к репарации. Чем шире плечо, тем интенсивнее репарационные процессы в клетках.