

ПРИКЛАДНАЯ РАДИОБИОЛОГИЯ

Лекция 1. РАДИАЦИОННО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

1. Области применения радиационно-биологической технологии.
2. Радиационный мутагенез как основа получения новых сортов сельскохозяйственных растений и микроорганизмов.
3. Использование стимуляционного действия ионизирующего излучения в отраслях сельского хозяйства.
4. Производство кормов и кормовых добавок для сельскохозяйственных животных.
5. Радиационная стерилизация ветеринарных принадлежностей, бактериальных препаратов и для получения радиовакцин.
6. Радиационная стерилизация животных и насекомых-вредителей.
7. Использование радиоактивных изотопов в качестве индикаторов.
8. Радиационное обеззараживание навоза и навозных стоков животноводческих ферм. Дезинфекция сырья животного происхождения при инфекционных заболеваниях.

1. Области применения радиационно-биологической технологии

Применение современных достижений ядерной физики в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии, а также в других отраслях сельского хозяйства развивается в следующих направлениях:

во-первых, ионизирующее излучение используют как процесс радиационно-биологической технологии (РБТ), в том числе:

а) мутагенное действие ионизирующего излучения применяется в селекционно-генетических исследованиях в области растениеводства, животноводства, микробиологии и вирусологии;

б) стимулирующее действие радиации используют для радиационной стимуляции растений с целью ускорения их развития и повышения урожайности, повышения хозяйственно полезных качеств птицы, радиационной стимуляции животных, рыбы и других организмов с целью повышения их выживаемости, ускорения роста, увеличения массы тела и улучшения качества продукции;

в) ионизирующее излучение используют при производстве кормов и кормовых добавок для сельскохозяйственных животных;

г) бактерицидное или летальное действие ионизирующих излучений применяют для радиационной стерилизации ветеринарных принадлежностей, бактериальных препаратов, получения радиовакцин, радиационной стерилизации сельскохозяйственных животных и насекомых-вредителей, продления сроков хранения продукции животноводства и растениеводства, ускорения медленно идущих процессов в пищевой промышленности, радиационного обеззараживания навоза и навозных стоков животноводческих, птицеводческих и звероводческих комплексов, а также сырья животного происхождения при инфекционных заболеваниях;

во-вторых, ионизирующие излучения используют в медицинской промышленности, для диагностики и лечения болезней человека и животных;

в-третьих, радионуклиды применяют как индикаторы (меченые атомы) в исследовательских работах в области физиологии и биохимии животных и растений, а также в разработке методов диагностики и лечения болезней животных;

Радиационно-биологические технологии широко используются в растениеводстве. При этом применение ионизирующих излучений для облучения объектов растениеводства основано на эффектах радиостимуляции, которые проявляются при облучении в дозах 3-40 Гр. РБТ в растениеводстве наиболее часто применяют для предпосевного гамма-облучения семян с целью ускорения роста и развития, увеличения урожайности и улучшения его качества, а также для повышения всхожести некондиционных семян и семян, требующих стратификации (семена косточковых растений).

Для методов гамма-облучения характерно, во-первых, простота и постоянство действия облучения, во-вторых, точная доза облучения, в-третьих, равномерное облучение большой массы семян благодаря высокой проникающей способности, в-четвертых, совместимость облучения с обычными агроприемами при посеве, в-пятых, низкая энергоемкость процесса облучения.

В качестве источников излучения используют гамма-установки с радионуклидами кобальта-60 и цезия-137, ускорители электронов с энергией до 10 МэВ, источники излучения, связанные с ядерными реакторами (радиационные контуры, частично или полностью отработанные ТвЭЛЫ, которые являются радиоактивными отходами атомной энергетики. Наиболее широкое применение в РБТ получили гамма-установки радионуклидов кобальта-60 и цезия-137. Эти радионуклиды имеют длительный период полураспада, который у цезия-137 составляет 30 лет, у кобальта-60 5,27 года, а также сравнительно высокую проникающую способность гамма-излучения, которое не создает наведенной радиоактивности в облучаемых объектах. Физико-механические свойства гамма-установки с этими радионуклидов можно длительно эксплуатировать. Использование ускорителей дает возможность получения высокой мощности пучка, экономичность и безопасность, потому что излучения генерируются периодически, а не постоянно, как у гамма-нуклидных установок. Радиационные контуры и ТвЭЛЫ применяют в РБТ только для экспериментальных целей. Для нужд сельского хозяйства и научных исследований в области РБТ создан ряд передвижной и стационарной техники: передвижные гамма-установки типа «Колос», «Стебель», «Гамма-панорама», которые монтируются на автомобилях или автоприцепах. Источником излучения у них является цезий-137, запаянный в двойную ампулу из нержавеющей стали, и находящийся за защитным экраном в нерабочем положении установок. «Колос» и «Стебель» используется для предпосевного облучения семян зерновых, зернобобовых, технических и других культур в условиях хозяйств, а «Гамма-панорама» – для облучения сельскохозяйственных растений и животных с целью мутагенеза и стимуляции их роста и развития. Стационарные установки типа «Гамма-поле» и «Стерилизатор» с источником кобальта-60 предназначены соответственно для длительного и разового облучения растений в селекционной работе и для стерилизации в промышленных масштабах ветеринарных и медицинских материалов и инструментов. Стационарная установка типа «МХР» используется для микробиологических и радиационно-химических исследований, а «Генетик» – для стерилизации насекомых-вредителей.

2. Радиационный мутагенез как основа получения новых сортов сельскохозяйственных растений и микроорганизмов

Действие мутагенов на наследственные структуры клеточного ядра неодинаково, поэтому возникают различные мутации *трех типов*, вызванные изменением количества хромосом, изменением структуры хромосом и изменением структуры гена (прилож. 13).

Мутации также разделяются на *морфологические, физиологические и биохимические*. Они могут изменять проявление любого внешнего признака, влиять на

функции отдельных органов, рост и развитие организма, вызывать различные изменения химического состава клеток и тканей.

По проявлению мутации бывают *доминантные* и *рецессивные*, при этом рецессивные мутации возникают значительно чаще, чем доминантные. Мутационный процесс, как правило, идет от доминантности к рецессивности. Доминантные мутации проявляются сразу же в гетерозиготном состоянии, рецессивные – только тогда, когда мутированный ген окажется в гомозиготном состоянии.

По относительному влиянию на жизнеспособность и плодовитость организма мутации делятся на *полезные*, *нейтральные* и *вредные*. *Полезные* мутации повышают устойчивость организма к неблагоприятным факторам внешней среды (к повышенной или пониженной температуре, возбудителям болезней и т. д.). *Вредные* мутации задерживают рост, развитие, вызывают гибель организма. *Летальные* мутации бывают *доминантные*, которые проявляются в первом поколении и быстро удаляются из популяции естественным отбором, и *рецессивные*, которые накапливаются в генотипе и проявляются в последующих поколениях.

Совокупность всех мутаций, возникающих у организма под действием мутагенного фактора, называют *спектром мутаций*. Большое разнообразие мутаций указывает на широкий спектр мутагенеза, а однотипные мутации – на узкий спектр.

Мутационная изменчивость происходит на разных этапах развития организма и во всех его клетках. Мутации, возникающие в половых клетках в гаметах и клетках, из которых образуются организмы, называются *генеративными*. Мутации, возникающие в соматических клетках организма, называются *соматическими*. По своей природе генеративные и соматические мутации ничем не отличаются, так как их возникновение связано с изменением структуры хромосом, и образуются они примерно с одинаковой частотой. Однако, по характеру проявления и значимости для эволюции и селекции различия между этими видами мутаций очень существенны. Генеративные мутации при половом размножении передаются следующим поколениям организмов. При этом доминантные мутации проявляются уже в первом поколении, а рецессивные – только во втором и последующих поколениях при переходе их в гомозиготное состояние. Соматические мутации возникают в диплоидных клетках, поэтому проявляются только по доминантным генам или по рецессивным генам в гомозиготном состоянии. Они имеют большое значение для эволюции организмов с вегетативным размножением.

Все мутации *по степени их фенотипического проявления* делят на *два класса: крупные* (или видимые) и *малые*. Крупные мутации легко обнаруживаются по появлению различных наследственных морфологических аномалий. Малые мутации проявляются через незначительные изменения физиологических, морфологических и любых количественных признаков. Крупные мутации выделяют путем отбора отдельных измененных растений во втором мутантном поколении (M_2). Малые мутации выявляют в результате математической обработки данных изменчивости изучаемого признака по семьям растений в третьем мутантном поколении (M_3). Благодаря малым мутациям создается огромная наследственная изменчивость различных признаков в популяциях растений, что имеет большое значение в селекции и эволюции вида. Крупные мутации, за редким исключением, не дают начала новым сортам и видам, потому что по причине низкой адаптации к внешним условиям удаляются естественным отбором.

От мутаций следует отличать морфозы или фенотипическое проявление признаков, которые являются одной из форм ненаследственной индивидуальной изменчивости организма, поэтому в последующих поколениях они не проявляются.

Для получения хозяйственно-ценных мутаций облучают от 2 до 4 тысяч семян. Отбор мутаций чаще всего проводят в M_2 . В связи с тем, что в M_2 выявляются не все мутации, отбор проводят и в M_3 . Иногда отбор мутаций начинают проводить в M_1 , при этом отбирают доминантные мутации по интересующему признаку (например, высокопродуктивные растения) для последующего отбора всех полезных мутаций. Для

ускорения и облегчения выделения полезных мутаций все выделенные в M_1 растения высевают как индивидуальные потомства отдельных растений (семьи) для получения второго мутантного поколения. В M_2 отбирают мутанты с хорошо выраженными хозяйственно-ценными признаками и растения для получения малых мутаций в M_3 . В дальнейшем из ценных мутантов формируются новые улучшенные популяции, их используют в селекции (при скрещивании друг с другом или с другими сортами). Эффективность селекции повышается при обязательном экологическом испытании мутантов.

Радиационная селекция, как метод получения новых ценных сортов сельскохозяйственных растений и высокопродуктивных штаммов микроорганизмов, широко используется в практике. *Радиационная селекция в растениеводстве включает два этапа:*

1) использование ионизирующего излучения для получения селекционно-ценных мутантных форм растений, которые используются в дальнейшем в селекционном процессе в качестве исходного материала;

2) включение мутантных форм растений в селекционную работу по созданию новых сортов, обладающих селекционно-ценными признаками мутантных форм.

Для получения мутантов в растениеводстве используют рентгеновское излучение и гамма-излучение, нейтронное излучение (быстрые нейтроны – 0,2-26 МэВ и медленные нейтроны – 0,025 МэВ) и радиоактивные изотопы (фосфор-32 и серу-35) и др. Вероятность возникновения мутаций при облучении различных биологических объектов возрастает с увеличением поглощенной дозы. Однако, с увеличением дозы возрастает и гибель особей в облученной популяции, при этом многие возникшие мутации не выявляются. При радиационной селекции растений часто используют дозы, при которых погибает 70 % растений. Эти дозы называются *критическими*. У 30 % выживших растений можно наблюдать большое количество мутаций различного характера. Наиболее часто хозяйственно ценные мутанты образуются при меньших дозах облучения, при которых погибает только 20-30 % растений. Величина дозы облучения зависит от радиочувствительности биологических объектов. Например, дозы облучения семян рентгеновским и гамма-излучением для выхода полезных мутаций у пшеницы, ячменя и кукурузы составляют 50- 100 Гр, у овса – 70-100 Гр, у люпина – 140-160 Гр.

Под действием ионизирующего излучения возникают *генные (или точечные) мутации и хромосомные мутации (или геномные мутации)*. *Геномные мутации*, сопровождающиеся уменьшением количества хромосом (анеуплоидия) и увеличением количества хромосом (полиплоидия) в 2 или 4 раза наблюдаются редко. Анеуплоидные формы растений имеют резкие морфологические дефекты и не представляют интереса для радиационной селекции. Полиплоидные формы растений несут летальные мутации, поэтому погибают. Для селекционной работы жизнеспособные полиплоидные формы растений получают с использованием метода химического мутагенеза, при этом в качестве мутагенного препарата часто используют колхицин. Для радиационной селекции наибольший интерес представляют генные мутации. Следует напомнить, что *ген* – это определенный участок молекулы ДНК. Генные мутации индуцируются в пуриновых и пиримидиновых основаниях молекулы ДНК при ее радиолизе, что приводит к изменению генетического кода и, в конечном итоге, к появлению новых признаков, сформированных под действием облучения. В образовании мутаций немаловажную роль играют также процессы репарации одиночных разрывов молекулы и процессы репарации повреждений оснований.

Выход радиационных мутаций зависит от величины дозы облучения, мощности дозы облучения, вида излучения и величины линейной передачи энергии (ЛПЭ) и от стадии онтогенеза растений. Частота возникновения мутаций возрастает пропорционально дозе облучения. Однако, с увеличением дозы увеличивается частота хромосомных aberrаций и гибель клеток, поэтому возникшие мутации не выявляются. Абсолютная величина дозы

зависит от радиочувствительности конкретного облучаемого организма. Часто хозяйственно полезные мутанты растений образуются при облучении семян дозой, вызывающей гибель 20-30 % растений.

Возникновение мутаций, как и любого радиобиологического эффекта, – это многостадийный процесс, в котором участвуют, с одной стороны, вещества, повышающие выход мутаций, а, с другой стороны, ферменты репарации, снижающие выход мутаций. При большой мощности дозы облучения образуется больше мутаций, потому что при малой мощности дозы уже в процессе облучения успевают произойти репарационные процессы. При хроническом облучении развивающихся растений (при малой мощности дозы), растения облучаются в разных по радиочувствительности фазах развития, поэтому спектр мутаций разнообразнее, или при облучении растений в конкретной стадии развития высокой мощностью дозы. С уменьшением мощности дозы снижается количество хромосомных нарушений, поэтому уменьшается гибель клеток и растений.

Установлено, что при облучении излучением с низкой ЛПЭ (рентгеновское и гамма-излучение), большинство хромосомных повреждений восстанавливаются. Среди мутантных растений выявляют формы с признаками устойчивости к болезням, повышенного содержания ценных веществ. Излучения с высокой ЛПЭ (нейтроны) вызывают более глубокие нарушения в хромосомах, которые не восстанавливаются, поэтому у выживших мутантных растений выявляются многообразные нарушения морфологических признаков.

Выход и качество мутаций зависит не только от физических свойств излучений, но и от состояния генома как в момент облучения, так и в пострadiационный период окончательного формирования мутации. В радиационной селекции растений наиболее часто облучают покоящиеся воздушно-сухие семена растений. Облучение семян в различные периоды формирования, начиная с момента образования оплодотворенной семечки и до состояния глубокого покоя, дает неидентичные результаты. Частота и эффективность мутаций значительно возрастает при облучении растений в период слияния половых гамет и образования зиготы, в фазе завершения формирования зародыша и в фазе усиления ростовых процессов зародыша при прорастании семени.

Для получения мутантных растений используют метод облучения пыльцы в период ее созревания с последующим искусственным опылением необлученных растений облучаемой пыльцой.

Хозяйственно полезные мутанты растений, сочетающие высокую продуктивность с другими признаками, появляются, как правило, очень редко. Селекционно-ценные мутантные формы растений выделяются содержанием питательных веществ, скороспелостью, устойчивостью к болезням, устойчивостью к полеганию, повышенной продуктивностью и другими признаками. *Мутантные формы используются в качестве донора полезного признака в селекции растений.* На основе радиационного мутагенеза в растениеводстве решаются вопросы получения новых сортов сельскохозяйственных растений, которые характеризуются высокой урожайностью, устойчивостью к неблагоприятным условиям среды и действию патогенных вредителей. Селекционеры, используя мутагенный эффект, гамма-облучения почти в 5 раз сокращают сроки выведения новых сортов зерновых культур.

К настоящему времени зарегистрировано более 1000 сортов различных растений, созданных с использованием мутантных форм растений, полученных при использовании ионизирующих излучений. Больше всего таких сортов получено у ячменя (72 сорта), риса (65 сортов), пшеницы (38 сортов), фасоли (10 сортов), арахиса (15 сортов), в которых сочетается высокая урожайность и улучшенное качество зерна с высокой экологической пластичностью. У декоративных растений получено более 500 радиационных мутантов, отличающихся прекрасными декоративными формами, устойчивостью к болезням и хорошей адаптационной способностью к неблагоприятным факторам внешней среды.

В *микробиологической* практике обычно используют дозы, при которых остается 1-5 % выживших микроорганизмов. Радиационным методом был получен штамм микроорганизма для производства молочного порошка нислактин, при добавлении которого к плавленным сырам улучшается их качество и продлевается срок хранения. Нислактин используют в кормовых добавках при вскармливании поросят, при этом повышается прирост массы поросят и улучшается их общее состояние. Методом радиационной селекции были получены новые формы микроорганизмов, которые являются возбудителями заболеваний у ряда вредителей сельскохозяйственных культур. Например, был получен *возбудитель мускардиноза* для более 60-ти видов насекомых-вредителей (яблоневой плодовой жорки, хлебного клопа-черепашки, фасолевой зерновки и др). Особый интерес и практическую ценность при радиационных мутациях микроорганизмов представляют генные мутации, которые косвенно влияют на деятельность ферментов. При этом фермент активизируется, и реакции, катализируемые этим ферментом, проходят интенсивнее, чем в норме, поэтому у микроорганизмов усиливается продукция того и иного метаболита – антибиотиков, аминокислот и др.

При облучении культуры дрожжей были получены расы, вырабатывающие в 2 раза больше эргостерина, что имеет большое значение для витаминной промышленности.

Комбинированным воздействием радиации и химических мутагенов получено много штаммов высоко активных плесневых грибов, которые вырабатывают пенициллин, стрептомицин, ауреомицин, эритромицин и альбомицитин. Некоторые штаммы плесневых грибов дают выход стрептомицина в 20, а пенициллина в 50 раз больше исходных рас. Производство антибиотиков промышленным способом значительно расширило их доступность для населения.

3. Использование стимуляционного действия ионизирующего излучения в отраслях сельского хозяйства

В *растениеводстве* среди РБТ, основанных на стимулирующем действии ионизирующего излучения, выделяют 6 следующих процессов:

1. *Предпосевное облучение семян зерновых, овощных и других культур, с целью повышения урожая и улучшения качества продукции.*

Явление эффекта стимуляции развития можно объяснить образованием в клетках семени биологически активных веществ *хиноидной природы*, которые в малых концентрациях активизируют рост и развитие путем неспецифической *дерепрессии генома*, т. е. путем перевода генов в активное состояние. Эти вещества были названы *триггер-эффекторами*. При этом активизируются определенные зоны ДНК, что способствует в дальнейшем более интенсивному синтезу и активности ферментов, в том числе триптофансинтетазы, которая регулирует синтез триптофана, а также синтез ростового гормона гетероауксина, что ускоряет интенсивность деления клеток, поэтому усиливаются ростовые процессы в проростках. Эффект стимуляции может сохраняться в процессе всего онтогенеза, поэтому ускоряется рост и развитие растений, что в конечном итоге приводит к повышению урожайности (рис. 22), или проявляться только в начальных стадиях онтогенеза, что не сопровождается ростом урожайности.

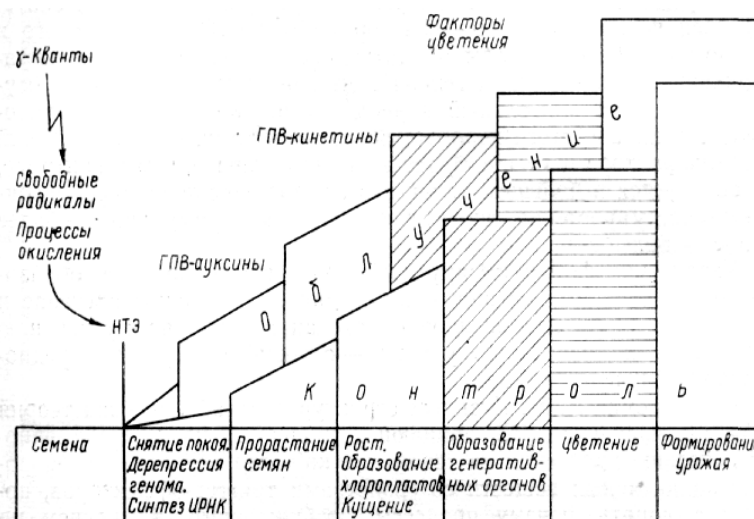


Рис. 22. Роль триггер-эффекторов в радиационной стимуляции развития (поэтапная передача первичного импульса на последующие стадии онтогенеза): НТЭ – неспецифический триггер-эффектор; ГПВ — гиббереллин-подобные вещества.

Основной эффект предпосевного облучения семян гамма-излучением – увеличение урожайности. При облучении семян увеличивается не только урожайность, но и улучшается его качество, т. е. повышается содержание белка, витаминов, масла, каротина, крахмала, сахарозы, клетчатки и жиров на 15-30 %.

В настоящее время определены стимулирующие дозы облучения семян для многих культур (табл. 17). Стимуляционный эффект, оцененный по величине урожайности в сравнении с контролем, по приведенным в таблице 14 культурам, составляет от 7 до 40 %, при максимальном эффекте у картофеля – 8-40 %, гороха – 15-40 % и огурцов – 10-40 %.

2. Предпосевное гамма-облучение семян овощных культур, выращиваемых в условиях закрытого грунта для более раннего созревания и повышения урожайности. При выращивании овощных культур в тепличных хозяйствах облучаются небольшие партии семян овощных и зеленных культур. Облучение семян способствует более быстрому росту растений и формированию более высокой массы товарной части. Повышение урожайности капусты белокочанной и томатов составляет до 20 %, редиса и салата – до 26 %, сельдерея – до 11 %. Сроки созревания овощных культур сокращаются на 5-10 суток.

Т а б л и ц а 17. Стимуляционные дозы и эффект радиостимуляции при облучении семян сельскохозяйственных культур

Культура	Стимулирующая доза, Гр	Стимуляционный эффект, %
Кукуруза на силос	5	10-30
Кукуруза на зерно	5-10	10-15
Пшеница	5-8	9-11
Ячмень	10-30	7-15
Рожь	5-10	25-30
Гречиха	5-7	15-20
Горох	3	15-40
Люпин	10	18-27
Клевер	5-10	25-30
Картофель	1-5	8-40
Капуста	20	13-20

Томаты	5-10	10-15
Морковь	25-40	25-35
Огурцы	3	10-40
Сахарная свекла	10-20	15-20

3. *Предпосевное облучение семян кормовых трав и силосных культур с целью увеличения урожайности зеленой массы и улучшения ее качества.* Предпосевное облучение семян многолетних злаковых кормовых трав способствует повышению урожайности зеленой массы на 25 %, а облучение семян клевера приводит к росту урожайности зеленой массы на 25-45 %. В зависимости от почвенно-географических зон и степени окультуренности почвы урожайность зеленой массы кукурузы повышается на 10-18 %. При этом в зеленой массе кукурузы содержание белка, жира и сахаров увеличивается, поэтому количество кормовых единиц возрастает на 25 %. При выращивании подсолнечника на силос урожайность зеленой массы и содержание кормовых единиц увеличивается на 17 %.

4. *Предпосевная обработка гамма- или электронным излучением клубней семенного картофеля для повышения качества и урожайности картофеля.* Облучение клубней картофеля гамма-излучением в дозе 3 Гр, или потоком ускоренных электронов в дозе 1 Гр за 2-6 суток до посадки, приводит к выведению из состояния покоя большего количества глазков, потому что быстрее пробуждаются точки роста, в которых начинается интенсивное деление клеток, что в конечном итоге способствует более интенсивному корнеобразованию и более высокой кустистости наземной массы с повышенной фотосинтетической активностью. Повышение фотосинтетической активности наземной массы способствует лучшему образованию клубней и повышению их урожайности на 18-25 %. В клубнях картофеля также повышается содержание крахмала, белков и витамина С на 15-30 %.

5. *Предпосевная обработка семян корнеплодов (сахарной свеклы, брюквы, турнепса, кормовой свеклы), семян технических культур (льна, хлопка, джута, кенафа), корневищ лекарственных растений (мяты, солодки и др.) и луковиц луковичных растений (лука, чеснока, цветочных луковичных растений) с целью повышения содержания хозяйственно-ценных веществ, ускорения процессов развития, повышения урожайности и сокращения времени выгонки луковичных культур.* Урожайность корнеплодов сахарной свеклы увеличивается на 25 %, а содержание сахара в корнеплодах повышается от 0,2 до 1 %. Выход волокна у технических культур возрастает на 10-15 %. Выгонка луковичных культур ускоряется на 5-10 дней.

6. *Предпосевная обработка рассады и черенков для ускорения приживаемости, устранения несовместимости привоя и подвоя в плодородстве и увеличения выхода полноценных прививок.* Предпосадочное облучение черенков плодовых культур приводит к усиленному образованию и росту корневой системы, что способствует их лучшему укоренению, поэтому повышается выход полноценных саженцев. Облучение черенков винограда, сливы, яблони, крыжовника, черной и красной смородины способствует повышению их укореняемости на 15-20 %, улучшению ростовых процессов корней, увеличению длины и количества побегов, площади листьев и увеличению интенсивности фотосинтеза. В последующем стимуляционный эффект от облучения черенков наблюдается у плодоносящих кустов черной и красной смородины, крыжовника, где урожай ягод повышается на 40-60 %. В практике виноградарства часто наблюдаются процессы несовместимости подвоя и привоя, поэтому в производственных условиях может выбраковываться до 75 % привитых саженцев винограда. Одним из эффективных средств преодоления тканевой несовместимости при прививках является применение ионизирующего излучения. При гамма-облучении в определенном интервале доз отмечается ослабление тканевой несовместимости, поэтому увеличивается выход качественных прививок. В основе преодоления барьера несовместимости лежит подавления иммунных свойств образовательных тканей под действием определенных доз

и сроков облучения. Вторым важным и трудоемким процессам в технологии производства привитых саженцев винограда является процесс «ослепления» глазков на черенках перед прививкой, которая обычно проводится ручным способом. Проведение «ослепления» основывается, *во-первых*, на том, что между развитием глазков и каллусообразованием на апикальной части черенка-подвоя существует прямая зависимость, которая выражается в том, что развивающиеся глазки на подвое резко тормозят процессы каллусообразования в верхней части черенка. Отсутствие кругового каллуса на подвое приводит к недостаточному образованию сосудов и плохому их срастанию между привоем и подвоем, что в конечном итоге обуславливает значительную часть гибели прививок. *Во-вторых*, проведение «ослепления» основывается на том, что наибольшей радиочувствительностью обладают делящиеся клетки меристем, в частности и меристемы глазков. Поэтому, можно подобрать невысокие дозы облучения для «ослепления» глазков подвоя, которые не будут повреждать основные ткани черенка. Высокая проникающая способность гамма-излучения позволяет проводить эту операцию одновременно на большом количестве черенков, упакованных в пакеты или связанных в пучки. Для снижения дозы облучения и повышения качества «ослепления» глазков, а также регенерирующей и корнеобразующей способности черенков применяют комбинированное воздействие гамма-излучения и регуляторов роста (гибберелиновая и индолилуксусная кислоты), которые усиливают деление клеток, т. е. способствуют активации меристем конусов нарастания глазков, поэтому повышается радиочувствительность клеток глазков. В то же время регуляторы роста усиливают корнеобразовательную способность черенков. Таким образом, комбинированный метод обработки черенков подвоя винограда вызывает эффективное подавление способности почек к прорастанию при отсутствии раневой реакции в местах повреждения тканей глазков. При этом способе обработки сохраняется каллусообразующая способность прививок, нормально протекают регенерирующие процессы и образование корней. Радиационный способ предпрививочной обработки существенно увеличивает сроки отрастания подвойной поросли на виноградных кустах в 5-10 раз. Облучение черенка или подвоя виноградной лозы в дозах 10-30 Гр увеличивает выход полноценных прививок на 11-34 %.

Стимулирующее действие ионизирующего излучения применяется в животноводстве, птицеводстве и рыбоводстве. Гамма-излучение в низких дозах – 0,03-0,05 Гр – используются для прединкубационного облучения яиц. В результате этого приема повышается выход цыплят на 13 %, повышается выживаемость цыплят на 5-10 %, масса цыплят увеличивается на 10-15 %. Куры, выросшие из облученных в прединкубационного период яиц, начинают яйцекладку на 11-12 суток раньше, при этом среднемесячная яйценоскость кур в первые 10 месяцев повышается на 14-20 %, а масса яиц – на 1-3 г. Для повышения яйценоскости кур и увеличения массы облучают не только цыплят кур-несушек, но и цыплят-бройлеров в однодневном или трехдневном возрасте дозой 0,2 Гр. Облучается только голова цыпленка с целью повышения физиологической активности гипоталамуса, благодаря чему стимулируется интенсивность развития, а также деятельность осцитарных фолликулов, поэтому повышается прирост мышечной массы и яйценоскость. При облучении цыплят-бройлеров их масса увеличивается в течение 30 суток на 20-23 %, а яйценоскость кур-несушек – на 10-15 % в первые 10 месяцев.

С помощью радиостимуляции было выведена новая разновидность тутового шелкопряда с более высокой продукцией шелкового волокна, а также выведена новая порода норки с оригинальным серебристым цветом, меха.

Радиационная стимуляция животных используется в скотоводстве, свиноводстве, звероводстве. Облучение суточных поросят крупной белой породы гамма-излучением в дозе 0,1–0,25 Гр приводит к увеличению массы тела животных на 10–15 % в первые 3 месяца жизни. В шестимесячном возрасте масса тела животных превышала на 6-8% массу контрольных животных, при этом не было выявлено отрицательного воздействия на организм радиостимуляционных доз. Облучение гамма-излучением ягнят тонкорунных

овец в трехмесячном возрасте в дозе 0,1–0,3 Гр приводят к повышению массы животных, выживаемости, а также к увеличению настрига, густоты и длины шерсти на 8–17%. Облучение норок дозой 0,1–0,3 Гр повышает выживаемость потомства, сопротивляемость болезням, улучшает качество пушнины и увеличивает выход пушнины. Облучение черно-бурых лисиц этой же дозой увеличивает плодовитость самок, повышает выживаемость потомства, увеличивает выход пушнины.

В *рыбном хозяйстве* РБТ используют: 1) для улучшения оплодотворения и выживаемости рыбы; 2) для увеличения выхода мальков в рыбном хозяйстве; 3) при искусственном разведении различных видов морских моллюсков (устриц, гребешков). Например, при облучении зрелой спермы радужной форели дозой 0,25–0,5 Гр значительно увеличивается количество нормально развивающихся эмбрионов, при этом оплодотворяемость икры и выживаемость эмбрионов повышается на 35–40 %. Такая радиационная обработка имеет большое народно-хозяйственное значение, потому что технология искусственного разведения и выращивание рыбы получает широкое внедрение в Белоруссии, где разводят новые ценные породы рыбы (лосось, форель и др.).

Изучение радиационной стимуляции эффекта радиации у животных и растений различных таксономических групп – ракообразных *A. salina*, моллюсков *Mizuhopecten yessoensi*, красных водорослей *Gracilaria verrucosa* показало возможность применения эффекта радиостимуляции для повышения продуктивности данных объектов, которые являются естественным кормом для различных видов рыб. При культивировании приморского гребешка, в зависимости от стадии развития рекомендуются дозы γ -облучения от 7,5–15 Гр. При облучении повышается выживаемость взрослых особей, возрастает прирост биомассы, поэтому выход конечного продукта возрастает в 1,6–1,8 раз. При культивировании грацилярии стимуляционная доза гамма-облучения 50 Гр, при этом выход конечного продукта увеличивается в 1,7–2,2 раза. Стимулирующий эффект γ -облучения наблюдался в диапазоне 20 – 40 Гр и был более выраженным на фоне низких значений выклева науплиев *A. salina* в контроле. Так, при солености 56% с максимальным выклевом в контроле, стимулирующий эффект был недостоверен, а при солености 96% с минимальным выклевом в контроле действие радиации повышало процент появившихся из яиц науплиев в 5 раз. Стимуляционная доза гамма-излучения, усиливающая ростовые процессы у *A. Salina*, зависела от стадии развития и составляла для цист 0,1–1 кГр, для взрослых особей 10–20 Гр. Выход конечного продукта возрастал в 1,5–2 раза.

Полученные результаты указывают на возможность использования гамма-излучения для увеличения выхода биомассы изучаемых объектов, что в дальнейшем может способствовать увеличению выхода продукции рыбоводства.

4. Производство кормов и кормовых добавок для сельскохозяйственных животных

Для получения ценных кормов и кормовых добавок используют промышленные, сельскохозяйственные и бытовые отходы: активный ил, древесина, солома и др. При очистке сточных вод образуется сырой остаток сточных вод. Биологическая очистка сточных вод приводит к образованию *активного ила*, содержащего около 70 % органических веществ, в том числе 30-40 % белков, а также углеводы, витамины, минеральные вещества, практически все заменимые и незаменимые аминокислоты. Для дезинфекции и дегельминтизации ила его облучают ускоренными электронами в дозе 10-20 кГр, что приводит к гибели большинства возбудителей болезней. При повышении температуры биомассы до 47-57 °С дозу полного обеззараживания снижают в 10 раз.

Другими объектами радиационной обработки являются *древесина, солома и другие растительные отходы*, которые в сухом виде на 60 % состоят из целлюлозы. Целлюлоза – это сложный полисахарид, включающий глюкозу – основное и необходимое энергетическое вещество для жизнедеятельности организма. Однако, в желудочно-

кишечном тракте животных целлюлоза трудно переваривается, поэтому она усваивается примерно на 10-15 %. При облучении древесного сырья дозой 100-200 кГр происходит радиолит молекулы целлюлозы, при этом разрываются полимерные цепи, и образуются легко растворимые продукты, которые хорошо усваиваются животными.

При облучении соломы ускоренными электронами дозой 10-30 кГр переваримость сухого вещества соломы возрастает на 17-27 %. Радиационная обработка грубых кормов способствует их ферментации и дрожжеванию, что позволяет получать корма, обогащенные легкопереваримыми углеводами и протеином. Корм из растительного сырья после радиационной обработки можно долго хранить в упакованном виде, потому что он не подвергается гниению и не изменяет своего качества, так как при облучении убиваются гнилостные микроорганизмы.

5. Радиационная стерилизация ветеринарных принадлежностей, бактериальных препаратов и для получения радиовакцин

В основе использования ионизирующих излучений для радиационной стерилизации в радиационно-биологических технологиях лежит радиочувствительность микроорганизмов и ее модификация.

При использовании ионизирующих излучений в РБТ обычно учитывают *три радиобиологических явления*:

- 1) радиочувствительность микроорганизмов;
- 2) причины и закономерности репродуктивной гибели микроорганизмов при облучении;
- 3) способы модификации (усиления) репродуктивной гибели микроорганизмов.

Под радиочувствительностью микроорганизмов понимается величина поглощенной дозы, вызывающая формирование определенного, количественно учитываемого радиобиологического эффекта. В качестве такого эффекта используют *репродуктивную гибель организмов*, т. е. потерю способности микроорганизма к размножению. При облучении популяции микроорганизмов определяют зависимость репродуктивной гибели от дозы облучения, строят кривую «доза-эффект», по ней находят дозу, *при которой 37 % популяции остается неповрежденной* (т. е. 63 % популяции погибает). Эту дозу называют средней летальной дозой. Чем больше величина средней летальной дозы, тем устойчивее микроорганизм к действию радиации. Радиочувствительность зависит от многих факторов. Однако РБТ базируется только на тех факторах, которые позволяют реально повысить радиочувствительность популяции микро-организмов. К этим факторам относят:

- 1) снижение активности ферментных систем репарации;
- 2) увеличение интенсивности деления клеток;
- 3) снижение уровня антиокислителей и накопление перекисных и хиноидных радиотоксинов;
- 4) снижение уровня эндогенных сульфгидрильных групп и биологических аминов;
- 5) перевод генома из состояния покоя в активное состояние.

При использовании ионизирующих излучений для стерилизации и обеззараживания не ставится задача полностью убить существующие в облучаемом объекте микроорганизмы, а только подавить их способность к неограниченному (бесконечному) размножению. Прекращение деления клетки (репродуктивная гибель) является результатом взаимодействия двух групп противоположно направленных процессов. В *первую группу процессов*, повышающих вероятность гибели клеток, входят следующие процессы:

- 1) нарушение структуры молекулы ДНК, процессов синтеза и восстановления ДНК;
- 2) изменение структуры и проницаемости биомембран;

- 3) образование внутри бактерий и в окружающей их среде токсически действующих на них веществ;
- 4) нарушение основных процессов метаболизма;
- 5) снижение деятельности макроэргов, устраняющих поврежденные белки и другие молекулы.

Во *вторую группу процессов*, снижающих вероятность гибели клеток, входят: 1) процессы репарации ДНК;

- 2) удаление поврежденных участков ДНК;
- 3) ликвидация брешей и воссоединение разрывов молекул ДНК;
- 4) восстановление поврежденных мембран;
- 5) удаление и нейтрализация токсических веществ;
- 6) усиление деятельности макроэргов.

Таким образом, репродуктивная гибель микроорганизмов, зависит не только от дозы облучения, но и от характера последующих процессов, которые развиваются во времени и, в свою очередь, зависят от состояния многочисленных структур и обменных процессов микробных клеток как в момент облучения, так и в пострадиационный период.

Величину стерилизующих доз можно значительно снизить путем одновременного или пострадиационного воздействия других физических и химических факторов. Для усиления репродуктивной гибели микроорганизмов используют *температурный эффект, изменение рН среды во время облучения, кислородный эффект, сенсibiliзирующий эффект.*

Поглощение бактериями энергии излучения и первичные радиационно-химические процессы в них не зависят от температуры. Однако, ферментативные процессы, происходящие в клетках в дальнейшем, чувствительны к действию температуры. Большинство ферментов работают в интервале температур 30-40 °С. Незначительное повышение температуры (на 10-15 °С) снижает активность белковых ферментов, участвующих в процессах репарации, поэтому резко снижается общая устойчивость бактерий, на фоне которой ионизирующее излучение оказывает более сильное поражающее действие. При повышении температуры угнетается процесс окислительного фосфорилирования, что приводит к нарушению энергетических процессов и снижению активности макроэргов. В организме бактерий имеется много термоустойчивых ферментов, к которым относятся протеолитические и окислительные ферменты. Под действием облучения увеличивается выход протеолитических ферментов из лизосом клетки, а повышенная температура вызывает их активацию, поэтому усиливается распад внутриклеточных структур и возрастает гибель микроорганизмов. При облучении активируются и окислительные ферменты: пероксидазы, полифенолоксидазы и др., а небольшое повышение температуры приводит к усилению образования перекисей, хинонов и других радиотоксинов, усиливающих гибель клетки.

Установлено, что имеются *две области температур*, в которых изменение температуры значительно влияет на действие излучений и гибель бактерий. *Первая область* – это переход от температуры ниже нуля (замороженное состояние облучаемого объекта) к температурам выше нуля. Резкое повышение радиочувствительности бактерий в этом случае связано с добавлением к прямому действию излучения косвенного, т. е. действия продуктов радиолиза воды. Изменение температуры *во второй области* в интервале от 0 до 37 °С не вызывает значительного поражающего эффекта. Повышение температуры выше 37 °С на 10-15 °С усиливает эффект действия более чем на порядок по причине усиления активации ферментов. За счет незначительного повышения температуры значительно снижается доза облучения (рис. 23) поэтому этот метод экономически выгодный для уничтожения патогенной флоры.

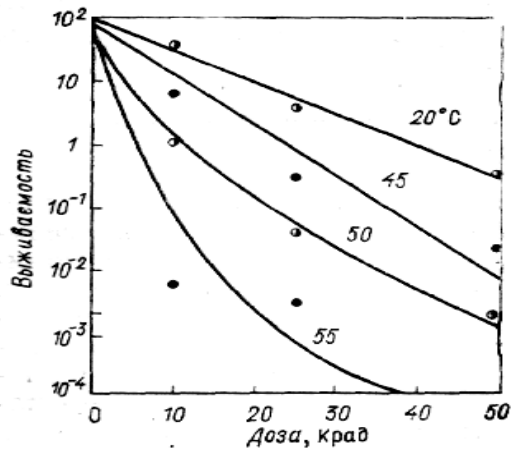


Рис. 23. Влияние температуры (20-минутный прогрев) на радиочувствительность стафилококка

Изменение *pH* среды во время облучения также влияет на радиочувствительность микроорганизмов по нескольким причинам. При смещении *pH* в кислый интервал, повышается повреждение ДНК. При изменении *pH* изменяется активность ферментов, изменяется степень влияния на ферменты активаторов и ингибиторов, что выводит клетку из нормального уравновешенного состояния и делает ее более чувствительной к действию экстремальных факторов, в том числе и к действию ионизирующих излучений. При облучении микроорганизмов сдвиг *pH* среды как в кислую сторону ($pH = 4,6-2,2$), так и в щелочную ($pH = 10$) повышает радиоустойчивость по сравнению с нейтральной средой ($pH = 7$).

Радиочувствительность бактерий значительно повышается при облучении в средах, содержащих кислород, при этом эффект достигается при сравнительно небольших концентрациях растворенного кислорода. Повышение содержания кислорода оказывает меньший эффект (рис. 24).

Основной вклад в реализацию кислородного эффекта вносят три процесса:

Первый процесс – значительное усиление косвенного действия продуктов радиолиза воды и многих низкомолекулярных органических соединений, образующих при облучении в присутствии кислорода биологически активные, токсически действующие вещества (перекись водорода, гидроперекисные соединения, фенолы, полифенолы), которые оказывают вторичное (косвенное) действие на геном клетки.

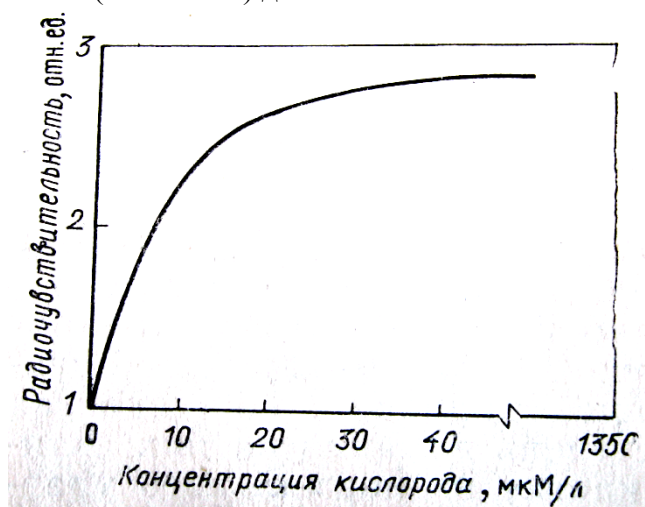


Рис. 24. Радиочувствительность *U. coli* В/г в зависимости от концентрации кислорода.

Второй процесс – участие кислорода в модификации молекул при прямом действии излучения. При прямом действии ионизирующего излучения на ДНК происходит повреждение и появление свободного радикала тимина или С₃-дезоксирибозы, что в дальнейшем приводит к распаду тимина и разрыву углеводно-фосфатной связи ДНК. В отсутствие кислорода свободные радикалы тимина могут легко восстанавливаться до молекулы тимина. При наличии кислорода радикалы тимина реагируют с кислородом с образованием неустойчивой оксигидроперекиси тимина, что приводит к полному разрушению тимидинового кольца. Под влиянием радикалов водорода (H⁰) или гидроксила (ОН⁰) возможно образование радикалов пиримидиновых оснований, взаимодействие которых с кислородом также приводит к образованию перекисей и разрушению молекул этих оснований. Поэтому образование одиночных разрывов в нити ДНК в присутствии кислорода происходит более интенсивно, что отражено на графике рисунка 25.

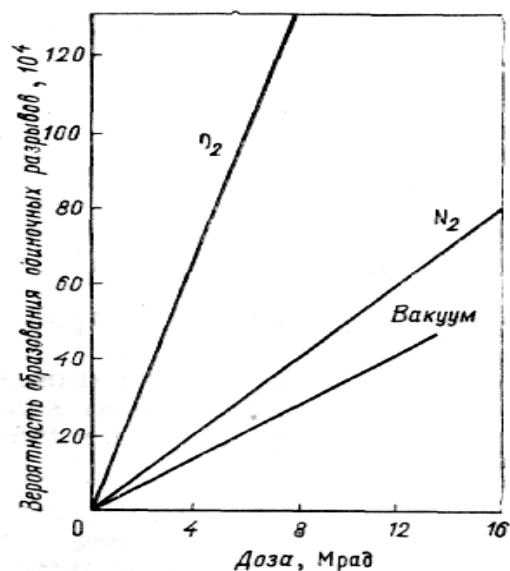


Рис. 25. Зависимость радиационного образования одиночных разрывов в ДНК от присутствия кислорода

Третий процесс – участие кислорода в повреждении молекул биомембран облученных бактерий. Известно, что ДНК любой клетки (в том числе и бактерий) связана с внутренней мембраной с образованием ДНК-мембранного комплекса. Начало синтеза молекулы ДНК происходит в точках ее прикрепления к мембране, на поверхности которой есть белковые рецепторы, различные липиды, имеющие ненасыщенные углеродные связи, различные ферменты и другие вещества. Поэтому при делении клеток большое значение имеет состояние мембраны, особенно целостность структуры молекул липидов и ферментов. Большинство липидов имеют повышенную радиочувствительность. При облучении бактерий в присутствии кислорода изменяется липидный состав биомембран, образуется значительно больше перекисей и продуктов их распада, поэтому нарушается синтез ДНК, прекращается деление клеток. Зависимость образования перекисей в биомембранах от присутствия кислорода показана на рисунке 26.

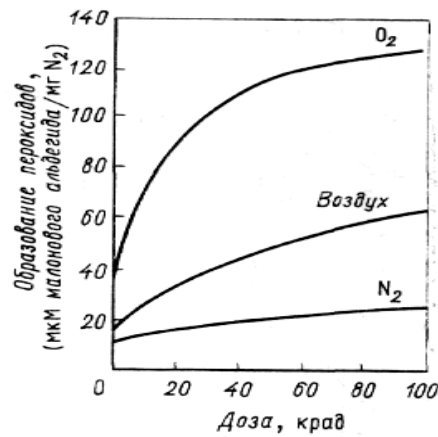


Рис. 26. Зависимость радиационного образования пероксидов в биомембранах от отсутствия кислорода

Ионизирующее излучение используют для радиационной стерилизации ветеринарных принадлежностей, бактериальных препаратов, питательных сред и получение радиовакцин.

Наиболее перспективно применение радиационной технологии при стерилизации наборов инструментов для искусственного осеменения животных, а также для стерилизации шовных и перевязочных материалов, хирургических инструментов, которые облучают дозой 25 кГр.

Для обеспечения стерильности сульфаниламидных препаратов и антибиотиков их облучают дозой 25 кГр, при этом не изменяются свойства и терапевтическая эффективность препаратов. При радиационной стерилизации гормоны и ферменты облучают дозой 60-70 кГр, витамины – 5-25 кГр, растворы различных препаратов для внутривенных вливаний – 25 кГр.

Радиационную технологию используют для готовых вакцин бактериальных препаратов и питательных сред при культивировании микробов и вирусов, а также для получения новых препаратов – радиовакцин и радиоантигенов. Для приготовления радиовакцин против гриппа и паратифа достаточна доза 10 кГр, при этом сохраняются антивирусные свойства препарата, и не нарушается иммунитет животных.

Перспективным направлением является использование «живых» радиовакцин при гельминтозах, направленных на повышение иммунизации телят и ягнят путем заражения животных личинками гельминтов, облученных гамма-излучением в дозе 400-600 Гр. С помощью радиационных технологий готовят «убитые» вирусные и бактериальные вакцины против кишечных инфекций, когда они готовятся из убитых ионизирующим излучением компонентов.

Первой вирусной вакциной радиационной технологии была вакцина против бешенства. Для приготовления радиовакцины облучают стандартную взвесь бактерий вирусов в физиологическом растворе дозой 10-15кГр. Радиовакцины менее токсичны, обладают высокой иммуногенностью, по сравнению с эталонными вакцинами. Ионизирующие излучения используют для стерилизации вакцин в готовом и фасованном виде, где исключается возможность повторного обсеменения микроорганизмов при ампулировании и фасовании.

6. Радиационная стерилизация животных и насекомых-вредителей

Радиационная технология, применяемая для *стерилизации животных*, пока не находит широкие применения на практике. Имеются сведения о возможности

использования ионизирующего излучения для полной стерилизации самок сельскохозяйственных животных при откорме с целью повышения их продуктивности.

Наиболее эффективно радиационная стерилизация используется в борьбе с насекомыми-вредителями. В основе метода лежит различие в радиочувствительности соматические и половых клеток. Известно, что половые клетки высоко радиочувствительны, поэтому необратимые нарушения в клетках регистрируются при значительно более низких дозах облучения. При правильно подобранной дозе соматически клетки не повреждаются, визуально насекомые имеют нормальный вид, физиологические ритмы развития и сохраняют возможность к спариванию. При стерилизации самцов нарушается жизненный цикл насекомых. Неоднократное (повторное) облучение в течение нескольких лет способствует полному уничтожению вида в определенном регионе за несколько лет. Впервые этот метод был применен в США для истребления мясной мухи, которая откладывала яйца в раны животных, где развивались многочисленные личинки, вызывающие гибель животных. Для уничтожения природной популяции мясной мухи в лабораторных условиях облучали куколок мух, из которых развивались стерильные насекомые. Через 18 месяцев работы был полностью уничтожен этот вредитель в юго-восточной части США. Радиационный метод стерилизации был использован в борьбе со средиземноморской мухой – вредителем цитрусовых культур, которая также была уничтожена. Ведутся работы на борьбе с гороховой и фасоловой зерновкой, яблоневой плодоножкой и другими вредителями сельскохозяйственных растений. Насекомые, облученные дозой 100-120 Гр, теряют способность к размножению.

Главное преимущество радиационного метода стерилизации перед другими методами в том, что он направлен только на насекомых одного конкретного вида, способствует сохранению других видов насекомых, безвреден для животных, человека и других объектов биосферы.

В связи с увеличением производства зерна большое значение приобретает проблема сохранения собранного урожая без порчи и потерь. Важное место в деле сохранности зерна занимает борьба с насекомыми-вредителями хлебных запасов. Большое значение в борьбе с насекомыми-вредителями приобретает *радиационная дезинфекция зерна при хранении*. Метод основан на разной радиочувствительности видов насекомых, а также на разной радиочувствительности насекомых в стадиях развития. Устойчивость разных видов насекомых к летальному действию гамма-излучения не одинакова, при этом установлен убывающий ряд: зерновой точильщик, булавоусый малый хрущак, малый мучной хрущак, амбарный долгоносик, рисовый долгоносик, рыжий мукоед и короткоусый мукоед. Личинки амбарного долгоносика погибают при дозе 55 Гр, малого мучного хрущака – 58 Гр, а куколки и имаго соответственно при дозе 200 и 350 Гр. Для уничтожения всех видов и всех стадий развития насекомых дезинсекционная доза гамма-излучения составляет 200 Гр, а энергия ускоренных электронов до 10 мэВ. При дезинсекции зерна не изменяется его качество, не увеличивается содержание вредных веществ как при химической дезинсекции.

Облучение успешно используется для дезинсекции бобов, орехов, сухофруктов, специй, пряностей, при этом уничтожаются все вредители этих продуктов на разных стадиях развития.

Одно из направлений радиационной половой стерилизации – технология генетического определения пола, которая используется в шелководстве для промышленного получения гусениц тутового шелкопряда мужского пола. Для этой цели самок облучают дозой 700-800 Гр и скрещивают с необлученными самцами, что приводит к андрогенетическому развитию гусениц, т. е. получению только популяции самцов. Это явление называют радиационным андро-генезом. Применение этого метода повышает выживаемость гусениц на 10-15 %, шелконосность – на 8-10 %, выработку шелковичной нити – на 20 %.

7. Использование радиоактивных изотопов в качестве индикаторов

При проведении исследований на молекулярном уровне в качестве индикаторов широко используют радиоактивные изотопы, с помощью которых изучают перемещение тел субмикроскопически малых размеров, атомов, ионов в организме без нарушения его нормальной жизнедеятельности, для этого используют несколько методов исследования.

1. *Радиоиндикаторный метод (метод меченых атомов)*. Метод основан на использовании химических соединений, в структуру которых включены в качестве метки радиоактивные элементы. Обычно применяют радиоактивные изотопы элементов, входящих в состав организма и участвующих в обмене веществ: ^3H , ^{14}C , ^{24}Na , ^{32}P , ^{35}S , ^{40}K , ^{45}Ca , ^{51}Cr , ^{59}Fe , ^{125}I , ^{131}I , поведение которых в организме аналогично поведению их стабильных изотопов. Это обстоятельство дает возможность наблюдать поведение и участие в обмене веществ меченых органических и неорганических соединений в организме.

Контроль за распределением и накоплением меченых атомами веществ осуществляется с использованием *метода радиоавтографии*, т. е. получение фотографических изображений в результате действия на фотоэмульсии излучений радиоактивных элементов, находящихся в исследуемом объекте. Выделяют *макроавтографию*, с помощью которой изучают распределение радиоактивных изотопов в макроструктурах организма, и *микроавтографию*, с помощью которой изучают внутриклеточное распределение радиоизотопов и их участие в биохимических процессах клетки. Сущность метода автордиографических исследований заключается в следующем: подопытному животному вводят радиоизотоп; берут на анализ органы, кровь и из них готовят препараты (гистосрезы, мазки) для автордиографии; в течение определенного времени создают контакт между изготовленным препаратом, содержащим радиоизотоп, и фотоэмульсией; проявление и фиксация фотоматериала. Для макроавтографии используют высоко чувствительные рентгеновские и фотографические пленки, а также специальные жидкие и съёмные ядерные эмульсии, которыми покрывают гистологические препараты.

С помощью метода радиоавтографии у животных были изучены основные процессы метаболизма:

- белково-минеральный обмен и его динамика в костной ткани;
- функционирование щитовидной и поджелудочной желез, гипофиза, органов и систем организма;
- динамическое равновесие обменных процессов в живом организме, взаимозамещаемость многих веществ, непрерывный распад и синтез веществ в клетках; наличие процесса обновления и скорость обновления белковых молекул в тканях различных органов;
- всасывание питательных веществ и влияние состава рациона кормления на продуктивность животных;
- накопление и выведение минеральных веществ из организма животных.

2. *Нейтронно-активационный метод*. Высокочувствительный метод определения ультрамикрочастиц стабильных изотопов в биологических материалах – крови, лимфы, тканях органов и т. д., которые облучают потоком нейтронов, где в результате облучения образуются радиоактивные изотопы или продукты активации, которые затем подвергают радиохимическому и радиометрическому анализу. Этот метод широко используют для определения содержания пестицидов в продукции растениеводства и животноводства.

3. *Радиоиммунологический метод*. При этом методе радиоизотопы не вводятся в организм. Он позволяет быстро и надежно определять содержание гормонов, ферментов, рецепторных белков в биологических жидкостях и тканевых экстрактах, в лекарственных препаратах, в различных органических соединениях, а также содержание любого ничтожно малого количества вещества в других объектах. Для проведения этого анализа

используют соответствующие антисыворотки и меченные радиоактивной меткой антигены. Для метки антигенов используют радиоактивный изотоп йода (^{131}I) или тритий (^3H). Периодическое исследование содержания гормонов в крови позволяет контролировать течение полового цикла, своевременно выявлять нарушения воспроизводительной способности, обоснованно применять гормональные препараты для восстановления половой функции и определять время искусственного осеменения животных. Радиоиммунологический метод используется с целью прогнозирования молочной и мясной продуктивности, диагностики лейкозов и бешенства, вирусных болезней, тяжести лучевого поражения, а также в селекционной работе для характеристики генофонда селекционных групп и выявлению изменений в процессе селекционного улучшения животных.

К числу наиболее прогрессивных методов исследования относится *метод радиоактивных индикаторов*, или *меченых атомов*. Этот метод, обладая исключительно высокой точностью, получил широкое распространение в мировой исследовательской практике. При проведении различных биологических исследований.

Метод радиоактивных индикаторов предусматривает введение в исследуемые биологические объекты препаратов, содержащих в очень малых – индикаторных количествах – радиоактивные изотопы. Радиоактивные изотопы трудно получить в абсолютно чистом виде, обычно они находятся в смеси с нерадиоактивными изотопами, а их поведение в биологических объектах аналогично.

Возникающие в исследуемых объектах процессы приводят к перераспределению в них радиоактивных веществ, позволяющих изучить характер происходящих изменений. Обнаружение микроколичеств радиоактивных изотопов и количественная оценка содержания их в изучаемых объектах производится с помощью прецизионных радиометрических приборов. Устройство, принцип работы и правил эксплуатации радиометрических приборов составляют предмет специальной дисциплины – радиометрии.

В связи с развитием высокоэффективного химического метода борьбы с вредными организмами, увеличением общего количества применяемых пестицидов и расширением их ассортимента возникает необходимость *интенсификации исследований токсических свойств этих препаратов*. Эти исследования предусматривают всестороннее изучение внедряемых в производство препаратов нового синтеза с целью определения их эффективности и области применения, а также оценки возможности селективности их действия, выражающейся в отсутствии вредного влияния на полезную флору и фауну и в первую очередь на человека и сельскохозяйственных животных.

Проведение всесторонних токсикологических исследований стало возможным благодаря методу радиоактивных индикаторов, или меченых атомов. Одно из существенных преимуществ метода – возможность проведения прижизненных наблюдений за биообъектами – приобретает исключительное значение при изучении механизмов действия пестицидов. Открывается возможность наблюдения за динамикой проникновения пестицидов в растения, насекомых и грызунов, за преимущественной локализацией их в отдельных органах и тканях, а также за изменением токсических свойств под влиянием метаболических процессов. Изучение этих вопросов приобретает особое значение при оценке пестицидов направленного действия и избирательного действия гербицидов на растения. Наряду с этим открываются большие возможности использования метода радиоактивных индикаторов при изучении физиологических и биохимических процессов и патологических изменений в защищаемых растениях. Метод позволяет также решать и *ряд практических задач*:

- определение длительности сохранения токсических свойств пестицидов после обработки ими растений;
- определение остаточных количеств токсических веществ в сельскохозяйственной продукции;

– установление предуборочных сроков обработки растений пестицидами.

Метод радиоактивных индикаторов основан на применении специально синтезируемых пестицидов, в которых один или несколько стабильных изотопов замещены радиоактивными. Простейшим примером использования таких пестицидов может служить фосфид цинка, применяемый в борьбе с грызунами. При исследовании механизма действия этого зооцида может быть использован синтезированный фосфид цинка, содержащий один из этих радиоактивных изотопов фосфор (^{32}P), цинк (^{65}Zn), или одновременно два этих изотопа. Присутствие в препарате радиоактивных изотопов может быть обнаружено с помощью высокочувствительных радиометрических методов и приборов.

Метод радиоактивных индикаторов приобретает особое значение при изучении *токсических свойств наиболее сложных пестицидов органического синтеза*. При исследовании этих пестицидов применяются специально синтезированные препараты, в которых радиоактивные изотопы размещены в молекулах таким образом, что после распада последних на части, каждая из этих частей будет содержать вполне определенный изотоп. Количество радиоактивных изотопов в применяемом препарате обусловлено задачей исследований. В том случае, если необходимо проследить проникновение пестицида в организм, можно использовать препарат, содержащий один радиоактивный изотоп, например, радиоактивный изотоп фосфора (^{32}P) или серы (^{35}S).

С помощью метода радиоактивных индикаторов можно проследить динамику поступления и разложения препарата в растении. В этом случае после введения меченого препарата в почву, или нанесения на листья растения, производят через определенные интервалы времени, исчисляемые днями, систематический отбор проб с растения, обработанного меченым препаратом. Пробы отбирают в виде частей (кусочков) стеблей или листьев. Определение радиоактивности этих проб радиометрическими методами позволяет проследить за изменением содержания препарата в растении.

В лабораторных исследованиях и в полевых условиях на опытных участках меченые радиоактивными изотопами препараты применяют *для характеристики пестицидов*, например, при оценке стойкости их к воздействию различными физическими факторами (светом, температурой, влажностью), а также химическими факторами.

При изучении действия метафоса на организм насекомых и растений, а также при определении его характеристики применяются различные радиоактивные изотопы углерода (^{14}C), фосфора (^{32}P), серы (^{35}S), занимающие определенные места в структуре молекул метафоса. Процесс разложения метафоса, как известно, довольно сложный. В результате его гидролиза образуется метиловый спирт, который может быть обнаружен по изотопу ^{14}C , а также тиофосфорная кислота, характеризующаяся наличием радиоактивных изотопов ^{32}P и ^{35}S . Однако дальнейшее разложение тиофосфорной кислоты с выделением сероводорода позволяет отдельно определить продукты распада, так как радиоактивные изотопы ^{32}P и ^{35}S , дающее различное по жесткости излучение, могут быть обнаружены с помощью соответствующих счетчиков. Кроме того, применяя различные растворители, можно определить степень разложения пестицида и выделить продукты его распада. Например, метафос, хорошо растворимый в маслах и органических растворителях, почти не растворяется в воде.

При изучении особенностей развития и миграции популяций насекомых используют метод маркировки радиоактивными изотопами. Рациональная организация мероприятий по борьбе с вредителями сельскохозяйственных растений может быть достигнута на основе использования точных данных о закономерностях развития популяций. Определение этих закономерностей является весьма сложной задачей, поскольку развитие популяций зависит от многих факторов, не всегда поддающихся учету.

При динамическом описании популяций необходимо знание точных данных о влиянии на скорость размножения и гибели особей популяции таких факторов, как наличие пищевых ресурсов, конкуренции за общие источники пищи и миграции в поисках

новых источников пищи, а также взаимодействия различных видов при наличии хищничества и паразитизма. При этом динамика изменения погодных условий может вносить существенные поправки в развитие популяций. Несмотря на обилие этих данных, их нельзя считать исчерпывающими, вследствие чего возникает необходимость в проведении дополнительных наблюдений с привлечением других методов исследований. При получении данных, необходимых для описания моделей развития популяций, большое значение приобретает метод маркировки организмов радиоактивными изотопами. Этот метод используется при изучении путей миграции видов и их пищевых связей, а также для определения численности популяций насекомых.

Основным преимуществом метода является возможность проводить наблюдения за большим количеством маркированных организмов. Кроме того метод обладает высокой чувствительностью, которая обеспечивается применением специальных радиометрических приборов, позволяющих определять микроколичества радиоактивных веществ. В результате открывается возможность обнаружения мелких организмов, например, насекомых, клещей и т. д., маркированных радиоактивными изотопами.

Метод маркировки нашел широкое применение при исследовании миграции насекомых. В этом случае насекомым сообщается радиоактивность одним из ниже приведенных методов. За расселением выпущенных в природу насекомых можно наблюдать с помощью радиометрических приборов.

Первый метод – метод маркировки насекомых путем погружения в радиоактивный раствор. Применяется для насекомых, имеющих жесткий хитиновый покров, например, опасного вредителя зерновых – клопа-черепашки. Проблема борьбы с этим опасным вредителем имеет исключительное значение, что вызывает необходимость изучения ряда деталей его биологии. Применение метода маркировки клопов радиоактивными изотопами позволило выполнить ряд исследований, связанных с изучением миграций взрослых клопов в зоне их массового размножения, сезонных перелетов клопов из поля в лес осенью и из леса в поле весной, а также перемещений клопов в лесах в период перехода на зимовку. Для маркировки клопов используется радиоактивный изотоп кобальта (^{60}Co), который, обладая большим периодом полураспада (5,3 года), позволил проводить исследования с маркированными клопами в течение нескольких сезонов. Радиоактивный изотоп кобальта-60 является источником жесткого гамма-излучения, что позволяет с помощью радиометрических приборов легко обнаруживать маркированных насекомых, скрывающихся под комьями земли, листвой, стерней и т. д.

Метод маркировки клопа-черепашки заключается в следующем. Собранных насекомых погружают на несколько секунд в водный раствор хлористого кобальта, содержащего радиоактивный изотоп ^{60}Co . Для уменьшения поверхностного натяжения раствора и лучшего смачивания насекомого в раствор добавляют небольшое количество прилипателя. Концентрация раствора выбирается с таким расчетом, чтобы сообщенная маркированным насекомым радиоактивность превышала естественный фон радиации в 3–5 раз. Такая радиоактивность не влияет на поведение насекомых, но регистрируется счетчиком радиометрического прибора. Маркированных насекомых выпускают в природные условия и в дальнейшем по истечении некоторого времени определяют их местонахождение с помощью полевой радиометрической аппаратуры.

Метод маркировки путем погружения в радиоактивный раствор применяется и для других насекомых, имеющих жесткий хитиновый покров – колорадского жука и проволочника, при определении очагов и плотности заселения их этими насекомыми.

Второй метод – маркировка насекомых путем скармливания им радиоактивной пищи. Личинок и гусениц вредителей зерновых культур маркируют, вскармливая их на растениях пшеницы, выращенной на почве, в состав которой вводят радиоактивные изотопы фосфора, кальция и др. Например, при маркировке личинок клопа-черепашки применяют раствор фосфорной кислоты (H_3PO_4), меченной радиоактивным изотопом фосфора-32. Изотоп фосфора-32 входит в личинки клопа-черепашки при питании.

Методом маркировки насекомых определяются суточные миграции личинок (как в вертикальном, так и в горизонтальном направлениях) в зависимости от времени суток, погодных условий и дальности перемещения по рядкам посевов пшеницы.

Преимущества метода маркировки при скормливании радиоактивной пищи заключается в том, что маркированные личинки и гусеницы после линьки сохраняют радиоактивность.

Методом маркировки радиоактивными изотопами используется при определении численности популяций насекомых. При определении численности популяций саранчовых им скормливают растения, содержащие радиоактивный изотоп, например кукурузу, выращенную на почве, обработанной радиоактивным изотопом фосфора-32. Маркированных таким образом саранчовых выпускают в зону обитания этого вида насекомых. По истечении некоторого времени производят отлов насекомых сачками. Взятые пробы насекомых анализировали на радиометрической аппаратуре. На основании такого анализа устанавливают соотношение между маркированными и немаркированными насекомыми. По величине этого соотношения к общему количеству выпущенных маркированных насекомых, размеру площади, на которой производился опыт, устанавливают численность популяций саранчовых в конкретном месте.

Третий метод – метод самомаркировки насекомых. При маркировке насекомых, имеющих легко повреждаемые наружные покровы (например, чешуекрылых), применяется метод самомаркировки, исключающий необходимость предварительного отлова насекомых.

В основу метода самомаркировки положено использование привлекающего действия света и аттрактантов. В местах обитания исследуемого вида насекомых расставляют электрические лампы, окруженные проволочным каркасом, обернутым несколькими слоями марли. Нижний край марли опускают в кювету, содержащую раствор сахара с добавлением фосфорной кислоты, меченной радиоактивным изотопом фосфора-32. При самомаркировке, основанной на использовании аттрактантов в растворы, добавляют аттрактанты (различные сиропы и эссенции).

Насекомые, привлеченные светом и запахом, садятся на марлю и, питаясь раствором, при соприкосновении с марлей, приобретают радиоактивность. Маркированные таким способом насекомые расселяются в природе. Для изучения миграций этих насекомых их отлавливают с помощью электроуловителей, расставленных в зоне обитания насекомых на различных расстояниях от места маркировки.

Метод самомаркировки был применен при изучении миграции зерновой совки и установлении зависимости интенсивности лета бабочек от времени суток, физиологического состояния и погодных условий. Самомаркировка может применяться и для изучения биологии паразитов ряда вредителей. Маркировка паразитов зерновой совки, ведущих дневной образ жизни, основана на использовании аттрактантов. В качестве привлекающего вещества используют сахарный сироп с добавлением дрожжей.

При изучении у насекомых таких сложных биологических процессов, как установление кратности спаривания, наличие моно- и полигамии, применяют маркировку самцов различными изотопами. Для привлечения самцов используются живые самки, помещенные в сетчатые коробочки, экстракты из половых желез самок или синтетические вещества, имитирующие эти аттрактанты. Синтетические вещества наносят на субстрат (марлю, вату, фильтровальную бумагу и т.п.), который помещают над кюветой, содержащей несколько слоев марли, обильно смоченной радиоактивным составом. Насекомые, привлеченные аттрактантами, при соприкосновении с марлей приобретают радиоактивность.

Четвертый метод – метод маркировки при установлении пищевых связей. С помощью маркировки различных вредителей легко выявить хищника. Определенный вид насекомого – предполагаемую жертву – метят радиоактивными изотопами, дающими различное излучение (бета-, гамма-излучения). Анализ предполагаемых хищников с

помощью радиометрических приборов, снабженных соответствующими счетчиками, позволяет установить вид насекомого, поедаемого хищником. Так, например, маркировкой тлей и дальнейшим определением радиоактивности у различных видов божьих коровок был установлен факт хищничества последних.

В целях изучения хищников вредной черепашки маркировку имаго, личинок и яйцекладок клопов производили радиоактивным изотопом углерода (^{14}C) в виде соли углекислого бария $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$. При маркировке клопов и яйцекладки помещали в марлевые мешочки, которые погружали в сосуды, наполненные радиоактивным раствором. Личинок метили, подсаживая на растения пшеницы, предварительно срезанные и поставленные в раствор, содержащий радиоактивный углерод. После выпуска в поле маркированных жертв по прошествии некоторого времени проводились сборы предполагаемых хищников, которых проверяли в лаборатории на радиоактивность.

Наибольшее количество хищников было установлено для яиц и личинок 3 младших возрастов: 10 видов жуужелиц, 2 вида муравьев, 4 семейства пауков.

Метод маркировки радиоактивными изотопами позволяет также отличить хищничество и паразитизм от индифферентного сожительства и симбиоза.

Пятый метод – маркировка грызунов. При изучении поведения и условий обитания вредных грызунов (преимущественно в поле) применяется метод самомаркировки, основанный на использовании отравленных приманок из овса, ячменя и других злаковых с добавлением соли фосфорной кислоты $\text{Na}_2 \text{HPO}_4$, меченной радиоактивным изотопом фосфора-32. Путем последующего сбора трупов грызунов и проверки их на радиоактивность с помощью радиометрической аппаратуры устанавливают места посещения грызунов в поисках пищи, а также дальность их миграций.

Предпочитаемость в выборе приманок (овсяная, ячменная, кукурузная и т. д.) определялась маркировкой изотопами с различными видами излучения и последующим анализом трупов грызунов радиометрическими приборами.

Шестой метод – метод маркировки патогенных организмов. Метод маркировки радиоактивными изотопами нашел широкое применение при изучении патогенных микроорганизмов и вирусов, вызывающих заболевания растений. Так, например, был установлен факт передачи тлей вирусных заболеваний растений путем воспитания тли на растениях сахарной свеклы, опрыснутой раствором, содержащим радиоактивный изотоп фосфора-32.

С помощью маркировки грибов, бактерий и вирусов можно определить скорость их распространения в поражаемых растениях, а также проследить обмен веществ и роль внеклеточных энзимов и токсинов, вырабатываемых патогенами.

8. Радиационное обеззараживание навоза и навозных стоков животноводческих ферм. Дезинфекция сырья животного происхождения при инфекционных заболеваниях

Образование огромных масс навоза и навозных стоков на животноводческих и птицеводческих комплексах приводит к загрязнению окружающей среды и является источником инфекционных и инвазионных болезней.

Радиационная обработка навоза и навозных стоков базируется на данных о радиочувствительности яиц и личинок гельминтов, ооцист кокцидий, патогенных микроорганизмов и других возбудителей болезней животных и птицы. Для полной дезактивации отходов их облучают гамма-излучением дозой облучения не менее 2,5 кГр (установки «Комплекс-1 и Комплекс-2»), и ускоренными электронами с энергией 0,5 МэВ и выше. Эффективно комбинированное воздействие ионизирующего излучения и физических (теплота, давление) или химических (хлорид калия, хлорная известь) факторов, что позволяет снизить дозу облучения с 2,5 до 0,5 кГр.

Известно, что большинство патогенных возбудителей длительное время сохраняют жизнеспособность во внешней среде, в том числе в сырье животного происхождения. Например, споры сибирской язвы сохраняются десятилетиями, вирус ящура – 20-352 суток, оспа птиц – от 13 суток до 1,5 года. Поэтому полученная от животных и птицы продукция (шерсть, мех, шкуры, кожевенное сырье, щетина, перо, пух и др.) часто оказываются источником возбудителей болезней, а также источником заражения здоровых животных и человека.

Для эффективного обеззараживания сырья дозы облучения дифференцированы в зависимости от вида возбудителя: 23-25 кГр (сибирская язва), 21 кГр (ящур), 22,4-22,5 кГр (чумма свиней), 10-15 кГр (трихофития). При этих дозах не изменяются физико-химические свойства и товарные качества сырья, удлиняются сроки хранения сырья без дополнительного консервирования химическими веществами на 7-12 суток. Дезинфекцию сырья можно осуществлять в упакованном виде, что исключает вероятность инфицирование помещений, оборудования, животных и людей.