Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии»
(ФГБНУ ВНИИРАЭ)

Труды ФГБНУ ВНИИРАЭ

Выпуск 2

Актуальные вопросы сельскохозяйственной радиобиологии

Под редакцией профессора С.А. Гераськина

Обнинск
2019

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии»
(ФГБНУ ВНИИРАЭ)

Труды ФГБНУ ВНИИРАЭ

Выпуск 2

Актуальные вопросы сельскохозяйственной радиобиологии

Под редакцией профессора С.А. Гераськина

Обнинск
2019

УДК 539.1.04
ББК 28.07
А 43

Редакционная коллегия:

С.А. Гераськин, *проф., д.б.н.* (науч. ред.); **О.А. Шубина**, *к.б.н.* (отв. ред.);
С.И. Санжарова, *к.б.н.;* **Е.В. Гордиенко**

А 43 **Актуальные вопросы сельскохозяйственной радиобиологии: Труды ФГБНУ ВНИИРАЭ. Выпуск 2** / Под ред. проф. С.А. Гераськина. Обнинск: ФГБНУ ВНИИРАЭ, 2019.– 170 с.: ил.

ISBN 978-5-903386-61-1

В сборнике отражены результаты фундаментальных и прикладных исследований сотрудников ФГБНУ ВНИИРАЭ в области радиобиологии. Издание включает материалы по вопросам радиобиологии сельскохозяйственных растений и животных, радиобиологии микроорганизмов.

Для специалистов в области радиоэкологии, радиобиологии, преподавателей и студентов высших учебных заведений.

Рекомендовано к изданию решением Ученого совета ФГБНУ ВНИИРАЭ от 28.05.2019 г.

УДК 539.1.04
ББК 28.070

ISBN 978-5-903386-61-1

© ФГБНУ ВНИИРАЭ, 2019
© Коллектив авторов, 2019

Содержание

Предисловие 5

ИСТОРИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ РАДИОБИОЛОГИИ 7

Гудков И.Н., Гераськин С.А.
К истории отечественной сельскохозяйственной радиобиологии 7

Бударков В.А.
Очерки истории российской ветеринарной радиобиологии 17

РАДИОБИОЛОГИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ 37

Гераськин С.А.
Основные закономерности радиобиологических реакций растений 37

Волкова П.Ю., Чурюкин Р.С., Казакова Е.А., Битаришвили С.В., Перькова А.В., Макаренко Е.С., Лыченкова М.А., Чиж Т.В.
Анализ митотической активности в корневой меристеме проростков γ-облученных семян ячменя 46

Битаришвили С.В., Бондаренко В.С., Гераськин С.А.
Экспрессия генов метаболизма фитогормонов в проростках γ-облученных семян ячменя 51

Цыгвинцев П.Н., Козьмин Г.В, Гончарова Л.И., Гусева О.А., Тихонов В.Н., Тихонов А.Н.
Действие ультрафиолетового излучения на растения ячменя 57

Лой Н.Н.
Влияние ионизирующих излучений на возбудителей болезней и насекомых-вредителей 75

РАДИОБИОЛОГИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ 81

Шаповалов С.Г., Снегирев А.С., Козьмин Г.В., Расин И.М., Бударков В.А.
Транспорт радиоактивных частиц и распределение поглощенных доз в желудочно-кишечном тракте свиней 81

Кураченко Ю.А., Денисова Э.Н., Бударков В.А., Снегирев А.С., Козьмин Г.В., Шаповалов С.Г.
Последствия облучения щитовидной железы крупного рогатого скота 91

Кобялко В.О., Мирзоев Э.Б.
Состояние системы Ca^{2+}-обмена в эритроцитах периферической крови овец при воздействии ионизирующего излучения 101

Шевченко Т.С.
Активность системы цАМФ в лимфоцитах овец после внешнего γ-облучения 110

РАДИОБИОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ 119

Кобялко В.О., Пименов Е.П.
Действие радиации на микроорганизмы и чувствительность разных таксономических групп к облучению 119

Морозова А.И., Павлов А.Н., Васильева Н.А., Пименов Е.П.
Закономерности действия γ-излучения на микроорганизмы в разных видах растительного сырья 131

Полякова И.В., Кобялко В.О, Саруханов В.Я., Фролова Н.А., Губина О.А, Лаурявичюс К.С.
Влияние ионизирующего излучения на количество и видовой состав микроорганизмов в матрице пищевых продуктов животного происхождения 135

Васильева Н.А., Морозова А.И., Пименов Е.П.
Изменение бактериального обсеменения специй при комбинированном действии высокой температуры и гамма–излучения 145

Бондаренко В.С.
Изменение концентрации таргетной м-РНК *E. coli* в жидких и твердых средах при воздействии гамма-излучения 150

КОНФЕРЕНЦИИ, СОВЕЩАНИЯ, СЕМИНАРЫ 155

Шубина О.А., Санжарова С.И.
Заседание Научного совета секции земледелия, мелиорации, водного и лесного хозяйства Отделения сельскохозяйственных наук РАН по направлению «Радиология и агроэкология» (26 апреля 2019 г., г. Обнинск) 155

Санжарова С.И., Шубина О.А.
Международная молодежная конференция «Современные проблемы радиобиологии, радиоэкологии и агроэкологии» 157

Санжарова С.И., Пронина О.Э.
XLVIII международные радиоэкологические чтения, посвященные действительному члену ВАСХНИЛ В.М. Клечковскому 160

Санжарова С.И., Шубина О.А.
Об открытии мемориальной доски академику РАН Алексахину Рудольфу Михайловичу 164

Информация 167

Предисловие

Исследования в области радиобиологии сельскохозяйственных растений и животных проводились во ФГБНУ ВНИИРАЭ с момента его создания. В дочернобыльский период (1970–1986 гг.) основные усилия радиобиологов института были направлены на оценку возможных потерь урожая сельскохозяйственных растений, здоровья и продуктивности сельскохозяйственных животных в условиях глобальной ядерной войны. Авария на Чернобыльской АЭС в 1986 г. резко изменила тематику исследований радиобиологов. Необходимо было оценить экологические последствия этой крупнейшей в истории атомной энергетики радиационной аварии. От исследования эффектов острого облучения с высокой мощностью радиобиологи ВНИИРАЭ переключились на решение задач, связанных с оценкой последствий многолетнего хронического облучения, сочетанного действия внешнего γ-облучения и инкорпорированных радионуклидов, других техногенных факторов. Особую актуальность приобрели экспериментальные и теоретические исследования механизмов биологического действия малых доз ионизирующего излучения. С начала 2000-х годов акцент в исследованиях радиобиологов постепенно стал смещаться в сторону изучения адаптивных реакций растений и животных на низкодозовое облучение, развития методов биоиндикации техногенных воздействий, решения проблем ядерного наследия, нормирования радиационного воздействия на человека и биоту.

Особо следует отметить участие радиобиологов ВНИИРАЭ в разработке научных основ активно развивающихся в настоящее время радиационных технологий в сельском хозяйстве и пищевой промышленности. Здесь и исследования, направленные на выяснение механизмов радиационного гормезиса, и отработка радиобиологических основ стерилизации продукции сельского хозяйства и пищевой промышленности, дезинсекции зерна, режимов радиационной обработки фруктов, овощей и картофеля в целях увеличения длительности их хранения, развитие методов радиационного мутагенеза с целью создания новых высокопродуктивных и устойчивых сортов.

Настоящий сборник представляет результаты радиобиологических исследований, проводимых в настоящее время во ВНИИРАЭ по Программам фундаментальных исследований государственных академий наук. Начинается он с двух статей, посвященных истории развития сельскохозяйственной радиобиологии в СССР и России. Эти статьи особенно важны для молодых радиобиологов, только начинающих свой путь в науке. Воспоминания и размышления патриархов сельскохозяйственной радиобиологии, бывших свидетелями зарождения и много сделавших для развития этой науки – И.Н. Гудкова и В.А. Бударкова – неоценимы для молодого поколения исследователей.

Раздел «Радиобиология сельскохозяйственных растений» сборника представлен пятью статьями, в которых рассмотрены механизмы формирования эффекта гормезиса при облучении семян, действие ультрафиолетового облучения на растения и методы использования ионизирующих излучений в борьбе с возбудителями болезней растений и насекомыми-вредителями.

Раздел «Радиобиология сельскохозяйственных животных» включает в себя статьи по двум направлениям. Первые две статьи рассматривают вопросы формирования доз для двух непростых ситуаций – транспорт радиоактивных частиц в желудочно-кишечном тракте свиней и последствия облучения щитовидной железы крупного рогатого скота. Две другие статьи посвящены исследованию молекулярно-клеточных механизмов формирования реакции клеток крови овец (эритроцитов и лимфоцитов) после внешнего γ-облучения.

Раздел «Радиобиология микроорганизмов» начинается со статьи, обобщающей информацию о чувствительности разных таксономических групп микроорганизмов к облучению. Еще три статьи посвящены закономерностям действия ионизирующего излучения на микроорганизмы, обсеменяющие

разные виды продуктов растительного и животного происхождения. Замыкает раздел статья об изменении концентраций м-РНК *E. coli* в жидких и твердых средах под воздействием ионизирующего излучения.

В последние годы исследования в области сельскохозяйственной радиобиологии вышли на новый уровень благодаря использованию современных omics-технологий в радиоэкологии, радиобиологии и мутационной селекции. Именно с развитием этих перспективных направлений мы связываем дальнейший прогресс радиобиологических исследований в институте.

С.А. Гераськин
профессор, доктор биологических наук

К истории отечественной сельскохозяйственной радиобиологии

Гудков И.Н.[1], Гераськин С.А.[2]

1 – Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины
2 – ФГБНУ ВНИИ радиологии и агроэкологии

Представлены материалы по истории сельскохозяйственной радиобиологии как составной части общей радиобиологии. Сформулированы основные этапы развития этого научного направления и движущие силы его развития на каждом этапе.

Сельскохозяйственная радиобиология, история науки, радиоэкологические исследования, радиобиологические исследования

Современная радиобиология представляет собой комплексную междисциплинарную область биологической науки, имеющую четко выделенные отдельные направления, одним из которых является сельскохозяйственная радиобиология. Основными задачами сельскохозяйственной радиобиологии являются изучение радиочувствительности сельскохозяйственных растений и животных, а также анализ возможностей ее модификации. Отдельным разделом сельскохозяйственной радиобиологии следует считать ветеринарную радиобиологию, которая изучает особенности патологических процессов, протекающих в организме животных под влиянием ионизирующей радиации. В ее задачи также входит разработка радиозащитных приемов при ведении животноводства на загрязненных радионуклидами территориях, профилактика и лечение животных в этих условиях.

Большинство решаемых в рамках сельскохозяйственной радиобиологии задач направлены на достижение основной цели общей радиобиологии – изучение закономерностей биологического действия ионизирующего излучения на живой организм с целью овладения приемами управления его реакциями на облучение. Именно поэтому, будучи самостоятельным направлением общей радиобиологии, сельскохозяйственная радиобиология развивалась параллельно, используя достижения радиобиологии для решения своих как теоретических, так и прикладных задач, а также дополняя ее результатами собственных исследований. Последние связывают сельскохозяйственную радиобиологию еще с одним большим направлением – прикладной радиобиологией, целью которой является практическое применение полученных в рамках всех направлений радиобиологии фундаментальных знаний. Имеются все основания считать, что именно с попыток применения ионизирующих излучений в сельском хозяйстве и началась история сельскохозяйственной радиобиологии.

В развитии общей радиобиологии обычно выделяют четыре основных этапа: 1-й – 1895 (открытие В.К. Рентгеном рентгеновского излучения) – 1920 гг. (накопление экспериментальных данных о действии ионизирующих излучений на биологические объекты); 2-й – 1920–1944 гг. (первые крупные обобщения, создание теорий биологического действия ионизирующих излучений); 3-й – 1945–1985 гг. (анализ биологических эффектов боевого применения и испытаний ядерного оружия, масштабные эксперименты по изучению радиационных эффектов на экосистемном уровне) и 4-й – 1986 – до настоящего времени (анализ последствий крупных радиационных аварий, решение проблем радиационного наследия,

нормирование радиационного воздействия на человека и биоту).

В целом такая периодизация справедлива и для сельскохозяйственной радиобиологии, так как уже в начале XX века были проведены первые опыты по использованию открытого французскими ботаниками М. Мальдинеем и К. Тувиненом в 1896 г. [1] явления радиационной стимуляции для повышения продуктивности сельскохозяйственных растений. Результаты их были противоречивыми. Но уже в 1910 г. немецкий исследователь Г. Шмидт описал случаи значительной стимуляции процессов роста и развития растений, увеличение урожайности при облучении семян и проростков рентгеновскими лучами в сравнительно невысоких дозах [2].

Первые систематические исследования действия рентгеновского излучения на семена и растения в СССР были проведены в 1930-е годы М.В. Чеховым [3]. Он показал, что облученные семена зерновых и зернобобовых культур, льна, редиса и некоторых других видов растений прорастают быстрее, чем необлученные. Нередко это проявлялось и в последующем росте растений и приводило к повышению их продуктивности.

По предложению великого генетика и растениевода Н.И. Вавилова, начиная с 1935 г. на протяжении многих лет работы с использованием рентгеновских излучений в малых дозах для повышения урожайности растений проводила Л.П. Бреславец. Результаты этих исследований, свидетельствующие об эффективности радиационной обработки, были обобщены ею в монографии «Растение и лучи Рентгена» [4], вошедшей в классику радиобиологии. Открытый в опытах с растениями и подтвержденный в экспериментах с животными, микроорганизмами, грибами, культурами клеток эффект радиационной стимуляции стал одной из основных радиобиологических реакций и описан в учебниках по радиобиологии [5].

В 1960–70-е гг. положительные результаты в области практической стимуляции растений были получены В.С. Серебренниковым [6], Р.Р. Риза-Заде [7], А.Т. Миллером [8], В.И. Костиным [9], Н.Ф. Батыгиным [10], И.Н. Гудковым и Д.М. Гродзинским [11] и многими другими. В этих исследованиях было показано, что в отдельные годы удавалось достичь существенного прироста урожая разных сельскохозяйственных культур до 20–30 %.

По поручению Министерства сельского хозяйства СССР и по просьбе Госкомитета Совета Министров по применению атомной энергии Госкомиссией по сортоиспытанию сельскохозяйственных культур с 1961 по 1969 г. на 53 сортоучастках в разных регионах страны на семи культурах было проведено 194 опыта по предпосевному облучению семян. На основе обобщения результатов этих экспериментов был сделан вывод, что в связи с нерегулярной воспроизводимостью стимулирующего эффекта Госсортосеть не может рекомендовать этот прием для внедрения [12]. Тем не менее, испытания приема продолжались. Была создана мобильная гамма-установка «Колос» для предпосевного облучения семян [13]. В ряде регионов страны, в частности, в Павлодарской области Казахстана и в Молдавии, предпосевное облучение семян было доведено до внедрения в сельскохозяйственную практику [14, 15].

Обобщение результатов проведенных на Украине опытов с кукурузой и сахарной свеклой показало, что примерно в 35 % случаев наблюдался положительный эффект – увеличение урожая от 7–8 до 35 %. В таком же количестве опытов не наблюдали влияния облучения. В трети опытов отмечали угнетение роста растений и снижение продуктивности, которое, однако, никогда не превышало 10 %. Ввиду того, что в итоге положительный эффект был выше отрицательного, в целом было получено увеличение продуктивности растений. Было сделано заключение, что при 100 % облучении всего посевного материала этих культур, т.е. включении предпосевного облучения в технологическую цепочку, можно обеспечить стабильную прибавку урожая на 10–15 % [16]. Несомненно, это потребовало бы значительных инвестиций, связанных в основном с созданием новых типов техники для облучения.

Проявление эффекта стимуляции в значительной степени зависело от погодных условий весны [17]. В засушливых условиях,

как правило, положительный эффект был максимальным. Корни стимулированных облучением проростков быстрее заглублялись в почву, оказываясь в более благоприятных условиях обеспечения влагой. Это положительно сказывалось на дальнейшем росте и развитии растений. Наоборот, весенние заморозки сильнее повреждали активно растущие стимулированные растения, что отрицательно сказывалось на их последующем росте и развитии [18].

Ученица и последовательница Л.П. Бреславец Н.М. Березина совместно с Д.А. Каушанским обобщила литературные данные, результаты собственных исследований и производственных опытов по предпосевному облучению семян в монографии [19], доказав возможность повышения урожайности сельскохозяйственных культур, ускорения созревания и улучшения качества продукции, полученной в результате облучения семян разных видов растений, и даже повышения сопротивляемости растений к неблагоприятным условиям внешней среды.

За прошедшие годы интерес к практическому использованию эффекта радиационной стимуляции периодически проявляется в разных странах. В 1970-х годах при Мюнхенском университете был организован Институт радиобиологии растений, выпускавший журнал «Stimulation Newsletter», одной из целей которого было обобщение результатов в этой области и обсуждение вариантов практического применения приема.

Успешно используется в сельском хозяйстве прием облучения семян, растений и другого посадочного материала с целью выведения новых сортов. Сразу после открытия явления радиационного мутагенеза в 1930-е годы селекционеры многих стран взяли его на вооружение. К настоящему времени с помощью ионизирующей радиации в мире создано более трех с половиной тысяч сортов культурных растений, среди которых более половины – сорта сельскохозяйственных растений, остальные – в основном растения для декоративного садоводства. Среди них немало сортов отечественной селекции. Это широко известный в 1960–70-е годы высокоурожайный сорт озимой пшеницы Новосибирская 67; устойчивый к полеганию сорт ячменя Обский; скороспелые, высокоурожайные, стойкие к низким температурам и болезням сорта гречихи Аэлита, Лада, Галлея; высокоурожайные, скороспелые, вилтоустойчивые сорта хлопчатника Мутант 1, АН-402, Фардах, Агдаш, Ок-Олтын; высокоурожайные и скороспелые сорта фасоли Радиола 1175, Урожайная, Грузинская 6, Мутант 7; высокоурожайные и неполегающие сорта сои Мутант 2, Картули 7; устойчивый к фитофторе сорт картофеля Рентгеновский; сорт мяты Зимостойкая; высокоурожайный скороспелый сорт бобов Радиомутант 8; низкоалкалоидные сорта люпина – одной из основных кормовых культур загрязненного радионуклидами Полесья – Киевский мутант, Мутант 486, Трансколант и другие [16, 20].

На основе достижений общей радиобиологии в сфере сельскохозяйственной радиобиологии разработаны и внедряются многие другие радиационные приемы и технологии. Среди них особое место занимают радиационно-биологические технологии продления сроков хранения продукции растениеводства и животноводства, в частности, предупреждения прорастания клубней, корнеплодов, луковиц; радиационной консервации продукции растениеводства и животноводства, радиационные способы дезинсекции сельскохозяйственной продукции и другие [21].

Важным событием в истории отечественной сельскохозяйственной радиобиологии было создание в 1970 г. ВНИИ сельскохозяйственной радиологии. В 1972 г. по инициативе Р.М. Алексахина при институте был организован Научный совет по сельскохозяйственной радиологии, который вместе с секцией радиобиологии растений Научного совета по радиобиологии АН СССР объединил ученых, работающих в области сельскохозяйственной радиобиологии. До 1991 г. совет периодически собирал единомышленников, в основном ученых, работающих в области радиобиологии растений, в разных городах страны, предоставляя возможность плодотворного общения, обмена опытом. Трудно переоценить важность подобных встреч для развития этого направления науки, горько осознавать их отсутствие в настоящее время. И тут хотелось бы

перечислить наиболее активных членов совета, большинства из которых уже нет в живых: Л.М. Крюкова, М.Э. Вагабова, Л.Ф. Назарова (Москва-Пущино), Н.Ф. Батыгин, В.Н. Савин, М.В. Архипов, М.И. Питиримова, М.Т. Серегина, Е.И. Преображенская (Ленинград), Д.М. Гродзинский, И.Н. Гудков (Киев), Л.С. Царапкин, Н.А. Порядкова, Л.Н. Ульяненко, А.С. Филипас, Е.Я. Зяблицкая, Б.И. Сарапульцев, С.А. Гераськин (Обнинск), В.И. Костин (Ульяновск), В.К. Щербаков (Шебанцево Московской обл.), П.И. Юшков (Свердловск), О.Н. Попова (Сыктывкар), Н.А. Горланов, Л.Н. Курганова (Горький), В.С. Хлебный (Рязань), В.С. Серебренников (Красково Московской обл.), А.Т. Сейсебаев, К.К. Мухамбетжанов (Алма-Ата), С.П. Семерджян (Ереван), Ф.А. Дедуль (Тбилиси), А.Т. Миллер (Рига), О.М. Бляндур, В.Н. Лысиков (Кишинев). Непременными участниками этих встреч-семинаров были руководители советов Р.М. Алексахин и А.М. Кузин.

Важную роль в формировании сельскохозяйственной радиобиологии сыграло проведение научных встреч специалистов этого направления в форме симпозиумов, конференций. Одной из таких встреч был Всесоюзный симпозиум по радиобиологии растительного организма (Киев, 1970). Рассчитанный на небольшую группу специалистов, симпозиум вылился в конференцию, собравшую более ста человек практических из всех республик СССР. И хотя в названии не было выделено слова «сельскохозяйственный», на нем в основном обсуждались проблемы, связанные с растением как основным объектом сельского хозяйства [22].

Участники I Всесоюзного симпозиума по радиобиологии растительного организма. Киев, май 1970 г.

Знаковым событием в объединении работающих в этой области радиобиологии специалистов стало проведение в 1976 г. при Кишинёвском сельскохозяйственном институте симпозиума по сельскохозяйственной радиобиологии. Это было, пожалуй, самое представительное за всю историю сельскохозяйственной радиобиологии собрание специалистов, в работе которого приняло участие около 150 человек. Организаторы

встречи В.Н. Лысиков и О.В. Бляндур выделили три основных направления, по которым работали секции: предпосевное облучение семян, радиационный мутагенез и действие малых доз на сельскохозяйственные объекты [23].

Хотя основное внимание радиобиологов в 1950–1960 годы было связано с исследованием эффектов высоких доз ионизирующего излучения и оценкой возможных последствий глобальной ядерной войны для разных экосистем, в том числе и для агроценозов [24], именно в эти годы Н.В. Тимофеевом-Ресовским [25, 26] и Н.В. Лучником [27] были установлены аномальные реакции сельскохозяйственных растений на облучение в малых дозах и дана их биофизическая интерпретация. В эти же годы Д.М. Гродзинский обосновал четыре аспекта биологического действия, которые могут проявляться при облучении живых объектов в малых дозах ионизирующей радиации: радиационная стимуляция, генетические эффекты, канцерогенные эффекты и иммунодепрессивное действие [28]. Для объяснения качественно различной реакции организмов на облучение в больших и малых дозах А.М. Кузин предложил структурно-метаболическую гипотезу [29]. Важную роль в выяснении механизмов биологического действия ионизирующих излучений на растения сыграли выполненные И.Н. Гудковым [30] исследования поведения клеточных популяций меристематических тканей и выполненный Н.Ф. Батыгиным [31] анализ нарушений формообразования и протекания онтогенеза у облученных растений. В 1990-е годы было опубликовано несколько крупных обобщений, внесших важный вклад в понимание феномена малых доз [32–34].

Важную роль в развитии сельскохозяйственной радиобиологии и радиоэкологии сыграли всесоюзные конференции по сельскохозяйственной радиологии, организованные ВНИИ сельскохозяйственной радиологии (Обнинск). Особо памятной стала состоявшаяся в 1990 г. 3-я конференция [35]. На ней были рассмотрены вопросы радиобиологии сельскохозяйственных растений и животных, радиоэкологии почв, растений и животных, радиационно-биологические технологии в сельском хозяйстве, метод изотопных индикаторов в агробиологических исследованиях, а главное, впервые широко и открыто обсуждены последствия аварии на Чернобыльской АЭС в сельскохозяйственной сфере и различные аспекты их минимизации.

Отдельный, очень важный раздел сельскохозяйственной радиобиологии, связан с изучением радиоактивности почв, поступления радионуклидов в сельскохозяйственные растения и организм животных. Цель этих исследований – предотвратить накопление радионуклидов в продукции сельского хозяйства и таким путем ограничить их поступление в организм человека. Начало радиоэкологическим исследованиям было положено В.И. Вернадским, который в конце 20-х-начале 30-х годов прошлого столетия установил закономерности накопления радия живыми организмами, в том числе растениями [36, 37]. В Биогеохимической лаборатории АН СССР, которой он руководил, были выполнены исследования по накоплению естественных радионуклидов сельскохозяйственными растениями и животными, заложены основы изучения их миграции в объектах окружающей среды. В этой лаборатории впервые были проведены исследования по действию инкорпорированных естественных радионуклидов, в частности урана и радия, на растения и животных. Уже тогда особое внимание уделялось их возможному генетическому действию [38]. Работы В.И. Вернадского до сих пор оказывают значительное влияние на методологию современной радиоэкологии [39]. Учение В.И. Вернадского, не до конца воспринятое его современниками, ныне переживает ренессанс, обусловленный осознанием глобальных проблем, с которыми сталкивается современная цивилизация.

В это же время зародилась сельскохозяйственная радиоэкология, развитие которой происходило параллельно развитию общей радиоэкологии. Первые исследования в области радиоэкологии были посвящены поступлению естественных радионуклидов из почвы именно в сельскохозяйственные растения. В начале этого этапа развития радиоэкологии основное внимание было обращено

на изучение особенностей накопления естественных радионуклидов в продуктивных органах сельскохозяйственных культур, которые могут стать источником их поступления в организм человека с продуктами питания.

Основополагающая роль в становлении и развитии сельскохозяйственной радиоэкологии принадлежит В.М. Клечковскому. Именно ему вслед за термином «радиоэкология», предложенным в 1956 г. одновременно А.А. Передельским, А.М. Кузиным и великим американским экологом Ю.П. Одумом, принадлежит введение в научный обиход и литературу понятия «сельскохозяйственная радиоэкология». В.М. Клечковский был одним из основателей и руководителем первого в мире научно-исследовательского учреждения в области сельскохозяйственной радиобиологии и радиоэкологии – Биофизической лаборатории в Московской сельскохозяйственной академии им. К.А. Тимирязева. В этой лаборатории по инициативе выдающегося ученого в области ядерной физики И.В. Курчатова выполнялась широкая программа исследований по изучению накопления радионуклидов (в первую очередь искусственных из числа продуктов деления урана) сельскохозяйственными растениями и влиянию на них инкорпорированных радионуклидов.

В 1956 г., за год до радиационной аварии на Южном Урале, под редакцией В.М. Клечковского была опубликована основополагающая работа «О поведении радиоактивных продуктов деления в почвах, их поступлении в растения и накоплении в урожае» [40], которая стала первым обобщением экспериментальных исследований в области сельскохозяйственной радиобиологии и радиоэкологии. В результате аварии на хранилище радиоактивных отходов радиохимического завода по наработке плутония возник Восточно-Уральский радиоактивный след (ВУРС) площадью 23 000 км^2, где основным дозообразующим радионуклидом был ^{90}Sr. ВУРС до настоящего времени остается важнейшим полигоном по изучению миграции этого радионуклида в природных средах и эффектов его действия на растения и животных [41].

Именно В.М. Клечковский возглавил радиоэкологические работы на ВУРСе. Он и работавшие с ним специалисты (Н.П. Архипов, А.И. Ильенко, Д.А. Криволуцкий, Г.Н. Романов, А.Н. Сироткин, Ф.А. Тихомиров, Е.А. Федоров, В.А. Шевченко, Б.С. Пристер, Р.М. Алексахин, Н.А. Корнеев) впервые описали физико-химические закономерности взаимодействия ^{90}Sr и других радионуклидов с почвой, оценили количественные характеристики их накопления разными видами сельскохозяйственных культур, поведение в организме сельскохозяйственных животных [42]. Значительное внимание в этих исследованиях было уделено кинетике формирования поглощенных доз и биологических эффектов у сельскохозяйственных растений и животных в условиях радионуклидного загрязнения [43].

Беспрецедентная по масштабам радиационная авария на Чернобыльской АЭС знаменовала новый этап развития как общей радиобиологии, так и ее сельскохозяйственного направления. Авария и была названа сельскохозяйственной. Для этого было достаточно оснований: основная хозяйственная направленность региона – аграрное производство; до 70 % населения региона составляют сельские жители; сельскохозяйственная продукция, полученная в условиях загрязненного радионуклидами региона, является одним из основных источников облучения населения ионизирующей радиацией; дозы облучения сельского населения значительно выше доз, получаемых жителями городов, что определяется специфическим «сельским типом питания»; минимизация последствий аварии в сельскохозяйственной сфере, к которой относится применение радиозащитных мероприятий, является одним из основных элементов системы радиационной безопасности населения всей страны [44]. Впрочем, к сельскохозяйственным авариям можно отнести практически все крупномасштабные радиационные аварии, при которых радиоактивному загрязнению подвергаются большие территории – и Кыштымскую, и на АЭС Фукусима.

Уже через месяц после аварии в Киеве и в Гомеле были созданы украинский и белорусский филиалы ВНИИ сельско-

хозяйственной радиологии (в настоящее время – самостоятельные институты). Были сформулированы главные задачи, вставшие перед отечественной сельскохозяйственной радиобиологией и радиоэкологией в связи с минимизацией последствий аварии, которые стали отдельными ее направлениями на долгие годы. Вот основные из них:

– систематический радиоэкологический мониторинг агроценозов, включая радиационный контроль сельскохозяйственной продукции загрязненных территорий;

– особенности миграции радионуклидов в почвах разных типов, а также в цепи почва – сельскохозяйственные растения – корма – сельскохозяйственные животные – продукция растениеводства и животноводства с последующей количественной оценкой накопления радионуклидов в каждом звене и прогнозирование этих процессов;

– разработка приемов минимизации накопления радионуклидов в продукции растениеводства и животноводства, а также рекомендаций по ведению сельскохозяйственного производства на загрязненных территориях;

– исследование особенностей формирования поглощенных доз ионизирующей радиации в сельскохозяйственных растениях и животных от внешнего и внутреннего облучения за счет инкорпорированных радионуклидов;

– изучение влияния радиоактивного загрязнения среды на формирование радиобиологических эффектов у сельскохозяйственных растений и животных на разных уровнях организации, в том числе в агроценозах, включая пастбищные и луговые.

Сформировавшееся в результате аварии широкомасштабное и крайне неравномерное радиоактивное загрязнение, разнообразие ответных реакций живой природы сделали исследования биологических последствий Чернобыльской катастрофы источником поистине уникальной информации. Авария произошла в конце апреля – период ускоренного роста и формирования репродуктивных органов, когда растительные сообщества и многие представители мезофауны наиболее радиочувствительны. Максимальное радиационное воздействие на объекты живой природы пришлось на первые 10–20 дней с момента аварии, когда значительный вклад в поглощенную дозу вносили короткоживущие изотопы. Сразу после аварии в подвергшихся радиоактивному загрязнению районах были начаты исследования, выявившие многочисленные факты радиационного поражения растений и животных [45].

Последствия аварии на Чернобыльской АЭС для биоты носили разнообразный характер – от поражения на экосистемном уровне до повышенной частоты мутагенеза. Тяжесть радиационных эффектов зависела от полученной в первый период аварии дозы. В подвергшихся значительному радиационному воздействию экосистемах наблюдалось зависящее от дозы изменение видовой структуры и снижение биологического разнообразия. Во всех исследованных популяциях растений и животных из чернобыльской зоны в первые годы после аварии выявлен повышенный уровень мутагенеза. В большинстве исследованных случаев зависимость доза-эффект имела нелинейный характер, а выход мутаций на единицу дозы был выше при облучении в низких дозах и с низкой мощностью. В последующие годы снижение мощности радиационного фона происходило быстрее, чем уменьшение частоты мутаций в населяющих радиоактивно загрязненные территории популяциях.

В целом, радиоэкологические исследования в условиях широкомасштабного и крайне неравномерного радиоактивного загрязнения территории, возникшего в результате крупнейшей в истории ядерной энергетики аварии, позволили получить уникальную информацию об ответных реакциях живой природы на разных уровнях биологической организации – от молекулярно-клеточного до экосистемного. На загрязненной радионуклидами территории в отсутствии человека складываются уникальные экосистемы, развивающиеся в условиях хронического радиационного воздействия. 30-км зона ЧАЭС стала уникальным полигоном, на территории которого в естественных условиях изучают долговременные экологические и биологические последствия резкого изменения комплекса экологических факторов, направленности и интенсивности

отбора.

В последние годы исследования в области сельскохозяйственной радиобиологии вышли на новый уровень главным образом благодаря использованию современных omics-технологий в радиоэкологии [45], радиобиологии [46] и мутационной селекции [47, 48].

Литература

1. *Maldiney M., Thouvenin K.* De l'influence des rayons X sur la germinations // Rev. Gen. Bot. 1898. V. 10. N 1. P. 81–86.

2. *Schmidt H.E.* Experimentelle Unterssuchungen uber die Wirkung kleinerer und grosserer Rontgenstrahlenmengen auf junge Zellen // Berliner Klin. Wochenschr. 1910. V. 47. N 21. P. 972–974.

3. *Чехов Н.В.* Влияние Х-лучей на растения // Труды Томского ун-та. 1934. Т. 85. С. 62–135.

4. *Бреславец Л.П.* Растение и лучи рентгена. М.: Изд-во АН СССР, 1946. 194 с.

5. *Гудков И.Н., Кудяшева А.Г., Москалёв А.В.* Радиобиология с основами радиоэкологии. Сыктывкар: СыктГУ, 2015. 512 с.

6. *Серебренников В.С.* Исследование действия малых доз ионизирующих излучений на клубни картофеля // Научные основы и практические результаты предпосевного облучения семян сельскохозяйственных растений: Сборник трудов по агрономической физике. Вып. 35. Ленинград: Гидрометеоиздат, 1974. С. 106–115.

7. *Риза-Заде Р.Р.* Некоторые итоги работ по предпосевному облучению семян 1965–1969 // Научные основы и практические результаты предпосевного облучения семян сельскохозяйственных растений: Сборник трудов по агрономической физике. Вып. 35. Ленинград: Гидрометеоиздат, 1974. С. 116–125.

8. *Миллер А.Т.* Результаты применения в производственных условиях Латвийской ССР метода предпосевного облучения семян сахарной свеклы // Научные основы и практические результаты предпосевного облучения семян сельскохозяйственных растений: Сборник трудов по агрономической физике. Вып. 35. Ленинград: Гидрометеоиздат, 1974. С. 126–134.

9. *Костин В.И.* Результаты исследования предпосевного облучения семян сахарной свеклы в условиях Ульяновской области // Научные основы и практические результаты предпосевного облучения семян сельскохозяйственных растений: Сборник трудов по агрономической физике. Вып. 35. Ленинград: Гидрометеоиздат, 1974. С. 135–141.

10. *Батыгин Н.Ф.* Научные основы и результаты производственного испытания предпосевного облучения семян сельскохозяйственных культур // Научные основы и практические результаты предпосевного облучения семян сельскохозяйственных растений: Сборник трудов по агрономической физике. Вып. 35. Ленинград: Гидрометеоиздат, 1974. С. 153–165.

11. *Гудков И.Н., Гродзинский Д.М.* Действие предрадиационной обработки семян радиозащитными веществами на эффект стимулирующего действия излучений // Научные основы и практические результаты предпосевного облучения семян сельскохозяйственных растений: Сборник трудов по агрономической физике. Вып. 35. Ленинград: Гидрометеоиздат, 1974. С. 18–22.

12. *Годунова К.Н.* О проверке эффективности предпосевного облучения семян сельскохозяйственных культур гамма-лучами на сортоучастках // Научные основы и практические результаты предпосевного облучения семян сельскохозяйственных растений: Сборник трудов по агрономической физике. Вып. 35. Ленинград: Гидрометеоиздат, 1974. С. 146–152.

13. *Каушанский Д.А.,* Жуков *Б.Г.* Передвижная производственная гамма-установка «Колос» // Атомная энергия. 1970. Т. 28. № 4. С. 366–367.

14. Предпосевное γ-облучение семян сельскохозяйственных культур / Под ред. *А.М. Кузина и Д.А Каушанского*. М.: Атомиздат, 1974. 124 с.

15. Предпосевное облучение семян сельскохозяйственных культур в Молдавии / Под ред. *Г.Я. Рудя и К.И. Сукача*. Кишинев: МСХ Молдавской ССР, 1976. 144 с.

16. *Гудков И.Н.* Основы общей и сельскохозяйственной радиобиологии. Киев: УСХА, 1991. 327 с.

17. *Чурюкин Р.С., Гераськин С.А.* Проявление эффекта гормезиса у растений ячменя (*Hordeum vulgare* L.) в контрастных условиях произрастания при γ-облучении семян // Сельскохозяйственная биология. 2017. Т. 52. № 4. С. 820–829.

18. *Gudkov I.N., Grodzinsky D.M.* On possible reasons for inadequate reproducibility of the stimulating effect developed by presowing gamma irradiation of crop seeds // Stimulation Newsletter. 1980. № 11. P. 51–57.

19. *Березина Н.М., Каушанский Д.А.* Предпосевное облучение семян сельскохозяйственных растений. М.: Атомиздат, 1975. 264 с.

20. *Гудков И.Н., Винничук М.М.* Сельскохозяйственная радиобиология. Житомир: Изд-во ГАЭУ, 2003. 472 с. (укр.).

21. Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности / Под ред. *Г.В. Козьмина, С.А. Гераськина, Н.И. Санжаровой*.

Обнинск: ВНИИРАЭ, 2015. 400 с.

22. Материалы Первого Всесоюзного симпозиума по радиобиологии растительного организма. Киев: Наукова думка, 1970. 206 с.

23. Теоретические и практические аспекты использования ионизирующих излучений в сельском хозяйстве // Тезисы докладов Симпозиума по сельскохозяйственной радиобиологии. Кишиневский с.х. ин-т, 1976. 221 с.

24. *Sparrow A.H.* Research uses of the γ-field and related radiation facilities at Brookhaven National Laboratory // Radiation Botany. 1966. V. 6. P. 377–405.

25. *Тимофеев-Ресовский Н.В.* Биофизическая интерпретация явлений радиостимуляции растений // Биофизика. 1956. Т. 1. № 7. С. 616–627.

26. *Тимофеев-Ресовский Н.В., Порядкова Н.А., Макаров Н.М., Преображенская Е.И.* К проблеме радиостимуляции растений. I. О действии слабых доз ионизирующих излучений на рост и развитие растений / Сборник работ лаборатории биофизики. Труды института биологии УФАН СССР. Свердловск, 1957. С. 129–201.

27. *Лучник Н.В.* Об аномальной реакции при малых дозах облучения // Биофизика. 1957. Т. 2. № 1. С. 86–93.

28. *Гродзинский Д.М.* Действие малых доз ионизирующих излучений на растения. Автореферат дисс. на соискание ученой степени канд. биол. наук. Киев: Институт физиологии растений, 1955. 12 с.

29. *Кузин А.М.* Стимулирующее действие ионизирующего излучения на биологические процессы. М.: Атомиздат, 1977. 136 с.

30. *Гудков И.Н.* Клеточные механизмы пострадиационного восстановления растений. Киев: Наукова думка, 1985. 223 с.

31. *Батыгин Н.Ф.* Онтогенез высших растений. М.: Агропромиздат, 1986. 100 с.

32. *Спитковский Д.М.* Концепция действия малых доз ионизирующих излучений на клетки и ее возможные приложения к трактовке медико-биологических последствий // Радиобиология. 1992. Т. 32. Вып. 3. С. 382–400.

33. *Эйдус Л.Х.* О механизме инициации эффектов малых доз // Радиационная биология. Радиоэкология. 1994. Т. 34. Вып. 6. С. 748–758.

34. *Гераськин С.А.* Концепция биологического действия малых доз ионизирующего излучения на клетки // Радиационная биология. Радиоэкология. 1995. Т. 35. Вып. 5. С. 571–580.

35. Третья Всесоюзная конференция по сельскохозяйственной радиологии. Тезисы докладов. Т. 1–3. Обнинск: Госком СМ СССР по продовольствию и закупкам. 1990.

36. *Вернадский В.И.* О концентрации радия живыми организмами // Докл. АН СССР (Серия А). 1929. № 2. С. 33–34.

37. *Вернадский В.И.* О концентрации радия растительными организмами // Докл. АН СССР (Серия А). 1930. № 20. С. 539–532.

38. *Вернадский В.И.* Геохимия, биогеохимия и радиология на новом этапе // Вестник АН СССР. 1933. № 11. С. 17–24.

39. *Алексахин Р.М., Удалова А.А., Гераськин С.А.* Учение о биосфере В.И. Вернадского и современные проблемы радиоэкологии // Радиационная биология. Радиоэкология. 2014. Т. 54. Вып. 4. С. 432–439.

40. О поведении радиоактивных продуктов деления в почвах, их поступлении в растения и накоплении в урожае / Под ред. *В.М. Клечковского*. М.: Изд-во АН СССР (препринт), 1956. 177 с.

41. *Позолотина В.Н., Молчанова И.В., Караваева Е.Н., Михайловская Л.Н., Антонова Е.В.* Современное состояние наземных экосистем Восточно-Уральского радиоактивного следа: уровни загрязнения, биологические эффекты. Екатеринбург: Изд-во Гощицкий, 2008. 204 с.

42. *Alexakhin R.M.* Radioecology: History and state-of-the art at the beginning on the 21st century / Radiation Risk Estimates in Normal and Emergency Situations. A.A. Signa & M. Durante (eds.). Berlin–London–N.Y.–Dordrecht: Springer, 2006. P. 159–168.

43. *Пристер Б.С.* Проблемы сельскохозяйственной радиоэкологии и радиобиологии при загрязнении окружающей среды молодой смесью продуктов ядерного деления. Чернобыль: Ин-т проблем безопасности АЭС, 2008. 320 с.

44. *Алексахин Р.М.* Радиоэкология и Чернобыль // Ежемесячный журнал атомной энергетики России. 2006. № 4. С. 43–49.

45. *Гераськин С.А., Фесенко С.В., Алексахин Р.М.* Воздействие аварийного выброса Чернобыльской АЭС на биоту // Радиационная биология. Радиоэкология. 2006. Т. 46. Вып. 2. С. 213–224.

46. *Volkova P.Yu., Geras'kin S.A.* 'Omic' tech-nologies as a helpful tool in radioecological research // J. Environmental Radioactivity. 2018. V. 189. P. 156–167.

47. *Gudkov S.V., Grinberg M.A., Sukhov V., Vodeneev V.* Effect of ionizing radiation on physiological and molecular processes in plants // J. Environmental Radioactivity. 2019. V. 202. P. 8–24.

48. *Kumar A., Jain S.* Forward genetics using radiation hybrids (deletion mutants) in plants // Ind. J. Plant Physiology. 2018. V. 23. P. 622–629.

49. *Amri-Tiliouine W., Laouar M., Abdelguerfi A., Jankowicz-Cieslak J., Jankuloski L., Till B.J.* Genetic variability induced by gamma rays and preliminary results of low-cost TILLING on M2 generation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) // Frontiers in Plant Science. 2018. V. 9-1568.

Очерки истории российской ветеринарной радиобиологии

Бударков В.А.

ФГБНУ Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии, пос. Вольгинский

Ветеринарная радиобиология представляет собой симбиоз самостоятельных научных направлений, формирование которых происходило вместе с научным и техническим прогрессом. Изложение процесса развития ветеринарной радиобиологии построено в хронологическом порядке. Интенсивное развитие радиобиологических исследований в ветеринарии началось после атомной бомбардировки Японии. Возникла необходимость разработки способов защиты сельскохозяйственных животных от радиационных поражений, а животноводческой продукции от радионуклидных загрязнений. Для детального изучения механизмов биологического действия внешних и внутренних источников ионизирующих излучений на сельскохозяйственных животных и разработки средств и способов снижения ущерба в животноводстве сформировались научные коллективы на кафедрах ветеринарных вузов и в специально созданных крупных научно-исследовательских центрах. Приведены результаты научно-исследовательских работ ветеринарных радиобиологов в лабораториях и на радиоактивно загрязненных территориях.

Ветеринарная радиобиология, история науки, история научных центров, радиобиологические исследования, ионизирующее излучение

Сразу же после открытия рентгеновских лучей и природной радиоактивности они стали активно использоваться в медицине для диагностики и лечения опухолей. Эта область медицины активно развивались и оформилась в самостоятельную науку – рентгенологию.

Появилась ветеринарная рентгенология – наука, изучающая структуру и функции органов и тканей животных с помощью рентгеновского излучения. Посредством рентгенологических методов стали распознавать ряд болезней, в том числе переломы костей, воспаление легких, наличие инородных тел и другие.

После атомной бомбардировки Японии начали создавать мощные арсеналы ядерного оружия и в разных регионах планеты производить их испытания. Вскоре стало понятно, что поступившие в окружающую среду радионуклиды активно включаются в биологический круговорот с участием растений, животных и человека.

В 1946 г. на Семипалатинском полигоне был организован медико-биологический отдел [1]. Для изучения поражающего действия радиоактивных выпадений на следах наземных ядерных взрывов использовали экспериментальных животных, в том числе сельско-хозяйственных [2]. Среди участников испытаний на ядерных полигонах были ветеринарные врачи, опубликовавшие результаты своих исследований [3, 4].

В 1947 г. в рамках Атомного проекта СССР в Московской сельскохозяйственной академии им. К.А. Тимирязева (ТСХА) при кафедре агрохимии была организована Биофизическая лаборатория (БФЛ), в которой проводили широкомасштабные исследования влияния агротехнических приемов, в первую очередь удобрений, на поступление продуктов деления тяжелых ядер в сельскохозяйственные растения. Так родилась сельскохозяйственная радиология, изучающая особенности миграции радионуклидов по пищевым цепочкам [5].

С развитием атомной науки и техники вопросы радиобиологии приобретали все большее значение в сельскохозяйственной и ветеринарной науке. В 1945 г. метод изотопных индикаторов начали применять в химических, сельскохозяйственных и биологических исследованиях в ТСХА [6]. В 1955 г. в академии были открыты курсы подготовки специалистов сельского хозяйства по атомной технике. В 1957 г. в академии была открыта радиоизотопная лаборатория, а в 1960 г. на ее базе была организована учебная кафедра прикладной атомной физики и радиохимии (ныне — кафедра радиологии). С

1957 г. ведется подготовка специалистов и проведение научных исследований с использованием методов атомной техники. В академии прошли стажировку по вопросам атомной техники в агропромышленном комплексе более 2000 специалистов из многих научно-исследовательских и учебных, в том числе ветеринарных, учреждений страны.

После первых взрывов ядерных бомб стал очевиден огромный урон, грозящий сельскому хозяйству и животноводству в случае ядерной войны. Для обеспечения защиты сельскохозяйственных животных в условиях радиоактивного загрязнения сельскохозяйственных угодий и получения безопасной животноводческой продукции были организованы областные ветеринарные радиологические лаборатории, радиологические отделы ветеринарных лабораторий субъектов Российской Федерации, районные и межрайонные ветеринарные радиологические лаборатории. В ветеринарных вузах создаются кафедры радиобиологии, в научно-исследовательских ветеринарных институтах - радиобиологические лаборатории.

В 1971 году БФЛ ТСХА была реорганизована во Всесоюзный (далее Всероссийский) научно-исследовательский институт сельскохозяйственной радиологии (ВНИИСХР, затем ВНИИРАЭ) в г. Обнинске Калужской области, руководимый академиками РАСХН (РАН) Н.А. Корнеевым, Р.М. Алексахиным, чл.-корр. РАН Н.И. Санжаровой.

Настоящие очерки в основном посвящены тем учреждениям, в которых работал автор (Казанский ветеринарный институт им. Н.Э. Баумана – КВИ, Всероссийский научно-исследовательский институт – ВНИВИ-Казань, Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии Россельхозакадемии – ВНИИВВиМ) и тем, с которыми на протяжении десятилетий поддерживались рабочие контакты (Всероссийский научно-исследовательски институт радиологии и агроэкологии – ВНИИРАЭ, Всероссийский институт экспериментальной ветеринарии – ВИЭВ, Всероссийский научно-исследовательски институт ветеринарной санитарии – ВНИИВС, Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина – МГАВМиБ, Центральная научно-производственная ветеринарная радиологическая лаборатория МСХ СССР – ЦНПВЛ.

В число научно-практических задач, которые встали перед ветеринарными радиобиологами, входило:

– на основании радиологического мониторинга объектов ветеринарного надзора оценить радиационную обстановку в сфере агропромышленного производства, сформировать банки данных информационно-аналитического фонда государственной ветеринарной службы Российской Федерации по радиационной безопасности;

– разработать положение о системе государственного ветеринарного контроля радиоактивного загрязнения объектов ветеринарного надзора в Российской Федерации и требования к проведению ветеринарных противорадиационных мероприятий;

– регламентировать действия ветеринарных экспертов на рынках, определить порядок отбора проб ветеринарного надзора и оценки радиационной безопасности животного и растительного происхождения лабораториями ветеринарно-санитарной экспертизы;

– изучить закономерности метаболизма радиоактивных веществ в организме продуктивных животных и определить поглощенные органами и тканями дозы излучения. Величину поглощенной дозы рассматривать как меру радиобиологических эффектов, которые могут возникнуть вследствие облучения. Расчеты уровней облучения сельскохозяйственных животных, находящихся на территории, загрязненной продуктами ядерного деления, необходимы для разработки и осуществления различных защитных мероприятий и оценки вероятных потерь в животноводстве;

– разработать правила диспансеризации сельскохозяйственных животных на территории, загрязненной радионуклидами, предназначенные для выполнения плановых лечебно-профилактических мероприятий, направленных на предупреждение заболеваний, активное и своевременное выявление и лечение больных животных с учетом мощности экспозиционной дозы на местности.

Исследовать особенности биологического действия ионизирующих излучений на организм животных и разработать способы диагностики радиационных поражений. Определить оптимальные варианты хозяйственного использования животных;

– оценить иммунный статус сельскохозяйственных животных, эффективность способов диагностики и специфической профилактики особо опасных инфекционных болезней сельскохозяйственных животных в условиях радиоактивного загрязнения территории; разработать программу эпизоотологического обследования сельскохозяйственных и диких животных, способы оценки эпизоотической обстановки в животноводческих хозяйствах, расположенных в зонах радиоактивного загрязнения, и обосновать предложения по усовершенствованию противоэпизоотических мероприятий;

– разработать средства и способы снижения перехода радионуклидов из рациона в продукцию животноводства – мясо и молоко – с помощью основных сорбентов, разрешенных к применению в ветеринарии на территории Российской Федерации – ферроцина, ферроцина-2, бифежа, ферроцианидно-бентонитовго сорбента ХЖ-90. Основанием для принятия решения о применении сорбентов будет являться превышение радиационно-гигиенических норм содержания радионуклидов в производимой в данном регионе продукции животноводства;

– разработать способы дезактивации продуктов, сырья животного происхождения и молока, загрязненных радиоактивными веществами выше допустимых уровней, с целью их рационального использования;

– разработать способы ветеринарно-санитарной экспертизы продукции животноводства, полученной на загрязненной радионуклидами территории, для того, чтобы обеспечить население радиационно безопасной (нормативно чистой) продукцией животного происхождения с учетом этапов: радиационного контроля, сортировки животных, порядка их убоя и использования животноводческой продукции.

Кафедра радиобиологии Ленинградского ветеринарного института (ныне кафедра радиобиологии и БЖЧС Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины)

Кафедра физики с основами рентгенологии и физиотерапии Ленинградского ветеринарного института (ЛВИ) была создана в 1931 г. Руководил ею доцент В.И. Вишняков – один из пионеров и основоположников отечественной ветеринарной рентгенологии. В 1940 г. А.И. Вишняков издал первый отечественный учебник «Ветеринарная рентгенология», в котором изложил девятилетний опыт собственных исследований и результаты работ своих учеников, сотрудников и соавторов Н.М. Быстровой, В.С. Захаровой, В.А. Никанорова, Л.А. Крутовского, И.М. Голосова, В.А. Лапина, П.С. Терентьева, Э.Г. Чайковского. Книга, несмотря на большой тираж, быстро разошлась и четверть века оставалась единственным отечественным учебником по этому предмету. Кроме того, А.И. Вишняковым были разработаны новые методы рентгенологического исследования костно-суставного аппарата и легких у животных.

В послевоенный период работа на кафедре возобновилась под руководством В.С. Захарова. При слиянии ЛГИУВВ с ЛВИ в 1958 г. была организована кафедра рентгенологии и радиологии. Ее заведующим был назначен Г.Г. Воккен. Он получил рентгенологическую подготовку в Центральном рентгенологическом и радиологическом институте. На кафедре работали доценты А.Л. Хохлов, К.С. Фомина, Н.И. Воробьев. Из коллекции рентгенограмм по возрастной и сравнительной анатомии (Г.Г. Воккен) и клинической рентгенологии (А.Л. Хохлов и А.А. Веллер) был создан уникальный в СССР учебный рентгеновский музей.

Начиная с 1960 г., занятия велись по программе, разработанной коллективом кафедры и утвержденной МСХ СССР. Курс радиологии для студентов в полном объеме стали вести с 1963/64 учебного года, программа его в значительной мере была построена по проекту, составленному на

кафедре, и использовалась в преподавании курса гражданской обороны.

Заслугу кафедры составляют труды Г.Г. Воккена «Ветеринарная радиология» (1964, 1967) и учебное пособие «Радиология» (1968). Коллективом кафедры в составе проф. А.Л. Хохлова, В.А. Линина и М.Т. Терехиной, под общей редакцией Г.Г. Воккена был написан учебник «Ветеринарная рентгенология» (1966).

В 1979 г. произошло слияние кафедры с курсом гражданской обороны, в результате чего кафедра стала отдельным структурным подразделением, но при этом курс ГО вел самостоятельную учебно-методическую и научную деятельность. С 1979 по 1998 г. и с 2005 по 2006 г. кафедру радиологии и безопасности жизнедеятельности ЛВИ возглавлял д.б.н., проф. В.С. Злобин. Им были написаны 400 научных работ, в том числе 15 монографий и получены свидетельства на более чем 35 изобретений и патентов. В 1993 г. его книга «Экосистема водорослей в изменяющихся условиях среды обитания» получила диплом III степени Комитета по народному образованию СССР. В 2001 г. за книгу «Волновая вселенная и квантовые переходы» В.С. Злобин награжден высшей наградой МАИСУ – почетным знаком академии «За особые заслуги в науке», а книга и ее автор представлены на соискание Нобелевской премии.

После аварии на Чернобыльской АЭС проф. В.С. Злобин был включен в Комиссию радиационного контроля (КРК) г. Ленинграда и Ленинградской области. На базе кафедры радиологии ЛВИ прошли курсы по ускоренному обучению основам радиометрии и дозиметрии 396 ветеринарных врачей. В.С. Злобин, А.И. Курило и А.П. Смирнова были направлены Комиссией радиационного контроля в Гомельскую, Брестскую и Могилевскую области для проведения радиационных исследований и оказания практической помощи хозяйствам, оказавшимся в зонах интенсивного радионуклидного загрязнения.

В период с 1998 г. по апрель 2005 г. кафедрой руководил д.в.н., проф. А.И. Курило. Сферой его научных интересов являлся поиск лекарственных препаратов и методов физического воздействия (барокамера) против лучевой патологии и для лечения лучевой болезни. В разные годы кафедру возглавляли проф. Г.И. Кожурина (2006–2007 гг.), З.Н. Черкай (2007–2017 гг.), Р.М. Васильев.

В настоящее время кафедрой заведует ученик проф. В.А. Киршина, участник ликвидации последствий аварии на ЧАЭС, д.б.н., проф. Е.И. Трошин. Под его руководством на кафедре работают доценты Р.М. Васильев, Н.П. Пономаренко, А.В. Цыганов, Р.О. Васильев, Н.Ю. Югатова.

Кафедра радиобиологии Московской ветеринарной академии им. К.И. Скрябина (ныне кафедра радиобиологии и вирусологии им. А.Д. Белова и В.Н. Сюрина)

Кафедра радиобиологии Московской ветеринарной академии им. К.И. Скрябина была организована в 1958 г. Заведующими кафедрой были: проф. Г.Д. Волков (1958–1968); доцент Д.П. Черкасов (1968–1972); академик РАСХН, проф. А.Д. Белов (1972–1998), почетный доктор Берлинского университета им. Гумбольдта, Харбинского аграрного университета Китая, Кошицкого университета ветеринарных наук Чехословакии, первый президент международной академии аграрного образования (МААО), ректор академии с 1980 по 1998 г.; проф. Н.П. Лысенко (1998 – по настоящее время), лауреат премии Правительства РФ в области науки и техники, лауреат премии Правительства РФ в области образования, эксперт ВАК РФ.

С 1960 г. кафедра начала подготовку ветврачей-радиологов на трехмесячных курсах повышения квалификации. Были разработаны программа, курс лекций, подготовлен практикум по методам радиохимического анализа объектов ветнадзора. В 1962 г. Г.Д. Волков и Д.П. Черкасов разработали учебную программу по радиобиологии для студентов ветеринарных вузов и факультетов. Написаны и дважды переизданы «Методические указания» для студентов заочного ветеринарного факультета (Г.Д. Волков, Д.П. Черкасов). В 1963 г. курс радиобиологии впервые начали преподавать на

ветеринарном факультете института.

Через аспирантуру по специальности «радиобиология» готовили научные кадры. С 1968 по 1972 гг. коллектив кафедры был организатором проведения трех Всесоюзных научных конференций по проблеме «Использование радиоизотопов и ионизирующих излучений в ветеринарии и животноводстве». Кафедра постоянно оказывала помощь другим вузам и производству. Прошли обучение на факультете повышения квалификации 286 ветврачей-радиологов, стажировку 28 преподавателей радиобиологии сельскохозяйственных вузов и научных работников НИИ, в том числе 4 человека из-за рубежа, проведен семинар преподавателей радиобиологии ветеринарных вузов и факультетов.

В 1975 г. кафедре передан курс рентгенологии (руководитель - доцент В.А. Липин), в 1977 г. – курс гражданской обороны (руководитель – проф. В.Г. Ильин). В последующем в штат кафедры вошел проф. В.А. Киршин. В 2012 г. к кафедре радиобиологии, рентгенологии и ГО имени академика РАСХН, проф. А.Д. Белова было присоединено отделение биофизики. В 2014 г. к кафедре радиобиологии, рентгенологии и биофизики присоединили кафедру вирусологии имени академика В.Н. Сюрина.

В 1990 г. кафедра переведена в новый учебно-лабораторный комплекс с гамма-установкой и современными спектрометрическими и дозиметрическими приборами. По инициативе А.Д. Белова при кафедре была организована научно-исследовательская группа радиоиммунологии. В последующем (1993 г.) она была преобразована в лабораторию радиобиологии и экологии. Заведующим лабораторией был назначен Н.П. Лысенко.

Научные исследования были направлены главным образом на изучение и применение радионуклидов и радиоиммунных методов исследований в ветеринарии и разработку радиационно-биологической технологии повышения хозяйственно-полезных качеств птиц в промышленном птицеводстве. Большой экспериментальный материал в этом направлении собрал и защитил докторскую диссертацию В.А. Пак.

Сотрудники кафедры принимали участие в ликвидации последствий аварии на ЧАЭС в хозяйствах Белоруссии в рамках тем: «Исследование гормонального статуса, воспроизводительной функции, вирусоносительства и частоты заболеваемостью лейкозом крупного рогатого скота в загрязненных районах Гомельской области», «Разработка и внедрение нового поколения сорбционных фильтров специального назначения для очистки молока и других жидкостей от радионуклидов цезия-137 и стронция-90», «Использование йодорганических соединений для профилактики нарушений функции щитовидной железы у людей и животных».

В 2008 г. кафедра заключила договор о сотрудничестве с «Военной академией радиационной, химической и биологической защиты им. Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко». Под руководством Н.П. Лысенко был создан и исследован радиозащитный эффект препарата на основе хлорофилла, снижающий радиационный эффект при внешнем и внутреннем облучении. По результатам работы А.В. Поздеевым была защищена докторская диссертация.

В 2014 г. в рамках сотрудничества с научно-исследовательскими организациями и университетами стран-членов ЕС был выполнен грант Минобрнауки РФ по теме: «Мониторинг инфекционных болезней животных в регионах мира, пути предотвращения их распространения и ликвидации в условиях экологического неблагополучия».

В 1964 г. издан первый учебник «Радиобиология» для студентов ветеринарных вузов и факультетов (Г.Д. Волков, В.А. Липин, Д.П. Черкасов). Издан учебник «Гражданская оборона на объектах сельскохозяйственного производства», М., 1973 (Н.И. Акимов, В.Г. Ильин), выдержавший несколько переизданий в нашей стране (1978, 1984) и за рубежом (ПНР, НРБ, ГДР). В соавторстве с В.Г. Ильиным опубликованы монографии «Защита животных от поражений ядерным оружием» (В.М. Караваев, В.Л. Коляков, Г.Н. Коржевенко, В.Г. Ильин), «Лучевая болезнь сельскохозяйственных животных», М., 1978 (П.Г. Карташов, В.А. Киршин, В.Г. Ильин).

Изданы учебники «Радиобиология»,

1981, 1987 (Белов А. Д., Киршин В.), научно-производственное издание «Ветеринарная радиобиология», 1986 (Киршин В.А., Белов А.Д., Бударков В.А.), «Veterinarni radiobiologie», Praha, 1989 (V.A. Kirsin, A.D. Belov, V.A. Budarkov, Z. Prochazka). Впервые издан «Практикум по ветеринарной радиобиологии» для студентов ветеринарных вузов и факультетов, слушателей ФПК (А.Д. Белов, А.С. Косенко, В.В. Пак, Н.П. Лысенко, Л.В. Рогожина, 1988), Радиационная экспертиза объектов ветеринарного надзора», 1995 (Белов А.Д., Косенко А.С., Пак В.В.). В последующие годы подобные ученики и практикумы неоднократно переиздавались.

В 2018 г. было издано учебное пособие «Радиоиммунологические, иммунорадиометрические, радиорецепторные и радиоизотопные методы определения гормонов у сельскохозяйственных животных» (Н.П. Лысенко, Л.В. Рогожина, И.И. Ковалев), которое на Российской агропромышленной выставке «Золотая осень» было удостоено серебряной медали.

В 2000 г. Н.П. Лысенко были присуждены звание Лауреата и Премия Правительства Российской Федерации в области науки и техники «За разработку и освоение производства ветеринарных противовирусных иммуностимулирующих препаратов на основе рекомбинантных белков».

В 2017 г. учебник «Радиобиология», авторы: Н.П. Лысенко, В.В. Пак, Л.В. Рогожина, З.Г. Кусурова, под редакцией Н.П. Лысенко и В.В. Пака был дополнен и переиздан, а Н.П. Лысенко и В.В. Пак удостоены звания Лауреатов Премии Правительства в области образования РФ.

На кафедре велась образовательная деятельность по специальности радиобиология. С 1966 по 1972 г. под руководством проф. Г.Д. Волкова, доцента Д.П. Черкасова и профессора А.Д. Белова в аспирантуре при кафедре обучались и защитили кандидатские диссертации 31 аспирант и соискатель. Под руководством Лысенко Н.П. выполнено и защищено 10 кандидатских и 1 докторская диссертация.

В 2018 г. на базе кафедры радиобиологии и вирусологии имени академиков А.Д. Белова и В.Н. Сюрина была проведена Международная научно-практическая конференция, посвященная 90-летию со дня рождения академика РАСХН А.Д. Белова.

В настоящее время основные направления научных исследований сотрудников кафедры:

– Разработка средств и методов защиты животных от радиационных поражений на основе радиопротекторов и антиоксидантов различной природы.

– Радиоэкологические исследования трофической цепи животных и человека в местах естественного залегания природных радионуклидов и техногенного радиоактивного загрязнения окружающей среды.

– Разработка контрмер по снижению дозовой нагрузки на щитовидную железу и организм животных при радиоактивном загрязнении среды изотопами йода.

– Использование сорбентов широкого спектра действия для снижения загрязнения организма животных и получаемой от них продукции в условиях радиоактивного загрязнения среды.

Кафедра радиобиологии Казанского ветеринарного института им. Н.Э. Баумана (ныне кафедра фармакологии, токсикологии и радиобиологии Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана)

С 1925 по 1932 гг. в Казанском ветеринарном институте действовало военное отделение, готовившее ветеринарных врачей для Красной Армии. Затем военное отделение было переведено в Московский ветеринарно-зоотехнический институт, и в 1935 г., с использованием кадров этих вузов, была создана Военно-ветеринарная академия РККА. Из Казани уехали видные руководители военно-ветеринарной службы, дивизионные бригадные ветеринарные врачи Н.М. Власов, В.М. Пекарев, Н.М. Шпайер, М.С. Ганнушкин, И.К. Яблонский и другие. В период Великой Отечественной войны к ним присоединились полковники ветеринарной службы проф. Б.М. Оливков, Г.В. Домрачев, И.Д. Медведев и др.

В 1967 г. в Казанском ветеринарном институте была организована кафедра ГО и радиобиологии. Было введено преподавание радиобиологии на ветеринарном факультете (старший преподаватель В.П. Фролов). Начальником кафедры в 1967–1978 гг. был К.Х. Морозовский. В 1978–1988 гг. кафедрой заведовал доцент Н.С. Николаев, а с 1988 по 2007 г. – проф. Е.Г. Жуков. В настоящее время кафедрой заведует д.б.н. Ф.А. Медетханов.

На кафедре преподавали член-корр. АН Татарстана, лауреат Государственной премии СССР, проф. В.А. Киршин, создавший Казанскую школу радиобиологов, лауреат Государственной премии СССР, проф. В.П. Фролов, кандидат наук доцент Н.М. Позднякова. В дальнейшем в укреплении и развитии кафедры большую роль сыграл лауреат Государственной премии СССР, доцент В.И. Черемухин. Были предложены и утверждены Главным управлением ветеринарии МСХ СССР методики расчета возможных потерь сельскохозяйственных животных от оружия массового поражения, которые были проверены в ходе учений по ГО, проводимых штабом ГО СССР в Союзных республиках (Московская область, 1968; Украина, 1970; Армения, 1972; Литва, 1973), правила ветеринарного осмотра убойных животных и ветеринарно-санитарной экспертизы мяса, молока и яиц, полученных от животных в зоне радиоактивного заражения (М., 1980).

В 1982 г. на Казанской бройлерной фабрике была выполнена тема по использованию малых доз ионизирующих излучений для повышения продуктивности кур. В совхозе «Ромашкинский» Чистопольского района ионизирующие излучения были использованы для повышения продуктивности свиней в условиях комплекса (Б.С. Покровский, 1999).

В 1960 г. была создана лаборатория радиобиологии для изучения биологического действия ионизирующих излучений при внешнем и внутреннем облучении и разработке средств защиты животных от радиационных поражений. Вплоть до 1974 г. лаборатория являлась составной частью Казанского государственного ветеринарного института им. Н.Э. Баумана, затем перебазировалась в специально спроектированные и построенные корпуса экспериментальной научно-исследовательской базы (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»).

За разработку комплекса мер и способов противорадиационной защиты животных в 1979 г. группа сотрудников КВИ была удостоена звания лауреатов Государственной премии СССР (В.А. Киршин, Н.З. Хазипов, В.В. Мосин, В.П. Фролов, В.И. Черемухин, А.И. Фролова, К.Г. Гарипова).

Лаборатория радиобиологии научно-исследовательского ветеринарного института (ныне – отдел радиобиологии ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»)

В 1984 г. был создан Научно-исследовательский ветеринарный институт (г. Казань), который в 1985 г. был реорганизован во Всесоюзный научно-исследовательский ветеринарный институт, с 4 марта 1992 г. - во Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт. В 2004 г. ВНИВИ был переименован в ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных» и затем ФГБУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности».

Первым заведующим лабораторией радиобиологии с 1960 по 1993 гг. был В.А. Киршин. Были созданы условия для работы с открытыми радиоактивными веществами, что позволило проводить исследования биологического действия стронция-90 и йода-131.

В 1985 г. лабораторию преобразовали в отдел радиобиологии (с 2003 г – заведующий отделом проф. Г.В. Конюхов), структура которого включала 6 лабораторий. В том же году были введены в эксплуатацию мощные гамма-установки «Панорама-2», «Пума» для облучения различных биологических объектов, включая крупных животных, «Исследователь» - для биологических и микробиологических исследований. Наличие этой техники явилось базой для создания модели радиационного поражения организма на следе ядерного взрыва и крупных радиационных аварий и послужило основой для

широкомасштабных исследований по разработке методов диагностики, лечения, профилактики радиационных поражений животных [8].

Комплексные эксперименты были проведены на лошадях, крупном рогатом скоте, овцах, свиньях, козах, курах, гусях, утках, норках, соболях и лисах. Целенаправленно исследовались различные органы и системы облученного организма: костный мозг и кровь, половые железы и плод, иммунная, пищеварительная, эндокринная системы, легкие, кожа и ее производные [9].

Наиболее значимые результаты исследований Казанской школы радиобиологов:

– установлено явление противорадиационного иммунитета. В результате многочисленных экспериментов было показано, что лучевая болезнь является неинфекционной патологией иммунной системы. Разработаны и предложены способы ранней диагностики и профилактики острой лучевой болезни животных в форме иммунодиагностикумов и противорадиационной вакцины;

– выявлен и описан синдром взаимного отягощения при комбинированных поражениях сельскохозяйственных животных факторами радиационной, термической и химической природы;

– обоснована биологическая безвредность и полноценность продуктов животноводства от облученных сельскохозяйственных животных. Разработаны правила предубойного осмотра животных и ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и мясопродуктов при убое скота на радиоактивно загрязненной территории. Разработаны методы убоя животных с применением химических веществ, первичной переработки и консервирования мяса при плюсовых температурах, в т.ч. в полевых условиях;

– изучен радиационный гормезис у основных видов сельскохозяйственных животных, птиц, пушных зверей, разработаны методы и способы практического применения явления радиационного гормезиса в птицеводстве;

– разработаны и осуществлены меры защиты животных от радиационного воздействия и получения продукции, приемлемой для использования населением на территории, загрязненной радиоактивными продуктами аварийного выброса Чернобыльской АЭС.

Впервые в истории ветеринарных вузов в Казанском ветеринарном институте им. Н.Э. Баумана, а затем в ВНИВИ (г. Казань) действовал диссертационный совет по присуждению ученой степени доктора наук за работы в области радиобиологии и токсикологии. В первые годы функционирования этого совета в Казанском ветеринарном институте были защищены докторские диссертации, выполненные на ядерных полигонах (О.Н. Горбунов, В.Г. Ильин) и в экспериментальных лабораториях других городов (Н.Н. Исамов, Узбекский сельскохозяйственный институт, г. Самарканд; Л.Н. Ульяненко ВНИИСХР, г. Обнинск).

Сводка данных о вкладе отдела радиобиологии ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» в разработку методов и средств защиты животных от радиационных поражений недавно опубликована Г.В. Конюховым [10].

Результаты выполненных сотрудниками отдела научных исследований прошли многостороннюю проверку на производстве, государственные испытания и в должной степени получили признание при ликвидации последствий аварии на ЧАЭС. Отдел является ведущим научным подразделением ДВ МСХиП РФ по проблемам ветеринарной радиобиологии и радиоэкологии и располагает высококвалифицированными специалистами по разрабатываемым проблемам (доктора и кандидаты наук), необходимым оборудованием и мощной изотопной техникой.

Опытная научно-исследовательская станция ПО «МАЯК» – ОНИС

После аварии 1957 г. – взрыва емкости-хранилища высокоактивных отходов на радиохимическом заводе - произошло крупномасштабное загрязнение обширных территорий Уральского региона и образование Восточно-Уральского радиоактивного следа (ВУРС). Для изучения последствий аварии в Челябинской области в марте 1958 г. была создана ОНИС [11,12].

На ОНИС была разработана методика получения больших (порядка сотен и тысяч кюри) количеств молодой смеси ПЯД

возрастом 7–10 часов, близкой по основным физическим характеристикам к реальной смеси продуктов мгновенного деления при ядерном взрыве [13].

Проведенные на коровах исследования стали основой для решения ключевых проблем сельскохозяйственной радиоэкологии и радиобиологии при загрязнении окружающей среды молодыми смесями ПЯД. Комплексный характер исследований сделал возможным сопоставление значимости ведущих факторов радиационной опасности. До Чернобыльской аварии территория ОНИС представляла единственную в мире экспериментальную площадку, где в натурных условиях можно было проводить любые радиоэкологические эксперименты и наблюдения [14].

Лаборатория радиобиологии ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии (ныне - ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии — филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН)

Лаборатория радиобиологии ВНИИВС создана в 1956 г. Заведующими лабораторией были кандидаты наук И.А. Покровский (1956–1959), Г.В. Филатов (1959–1961), В.С. Устенко (1962–1986), П.А. Сивохин (1986–1998). С декабря 1998 г. по 2017 г. коллектив лаборатории возглавлял д.в.н. П.Н. Рубченков. В период с 1956 по 1970 г. коллективом лаборатории с применением методики «меченых атомов» на лабораторных и сельскохозяйственных животных были изучены резорбтивно-токсические свойства новых инсектоакарицидов и разработаны методики их определения в молоке, мясе и кормах.

В лаборатории радиобиологии ВНИИВС сложилось три основных направления:

– использование радиоактивных меток при исследовании токсичности и метаболизма химико-терапевтических препаратов, пестицидов и механизма действия химических веществ на бактерии;

– использование нейтронно-активационного анализа микроэлементов;

– применение радиоактивных веществ большой мощности для стерилизации кожсырья и шерсти.

Выпускник 1963 г. ветеринарного факультета Казанского ветеринарного института Ю.Н. Шувалов впервые применил нейтронно-активационный анализ для определения микроколичеств мышьяка в биологических объектах. Золу облучали тепловыми нейтронами в ядерном реакторе при плотности потока $1{,}2 \cdot 10^{13}$ нейтрон/см^2 сек. Одновременно облучали образцы водного раствора химически чистого мышьяковистого ангидрида с содержанием в нем от 0,0012 до 0,0015 мг мышьяка. После облучения гамма-спектр образцов определяли на стоканальном амплитудном анализаторе (АИ-100-1) с датчиком NaI(Tl).

С 1970 г. в лаборатории начаты работы по изучению влияния ионизирующей радиации, а также особо токсичных радионуклидов и их смесей на физиологическое состояние сельскохозяйственных животных, их продуктивность и качество продуктов.

После аварии на Чернобыльской АЭС сотрудники лаборатории участвовали в ликвидации последствий радиоактивного загрязнения территорий УССР, БССР и РСФСР: радиационно-гигиеническое обследование объектов животноводства, дезактивация производственных помещений, обеспечение радиационной безопасности при переработке сырья, загрязненного РВ.

С 1989 по 2000 г. в лаборатории продолжались научно-исследовательские работы по разработке методов дезактивации продуктов и сырья, полученных от животных, загрязненных радиоактивными веществами. Разработана технология дезактивации мяса, кишечного и эндокринно-ферментного сырья, яиц кур при переработке их на меланж или яичный порошок [15]. Разработаны способы дезактивации шерсти, кожевенного и шубно-мехового сырья, полученного от животных на загрязненной радионуклидами территории. Новые технологии дезактивации мяса и сырья животного происхождения, защищенные 10 патентами, вошли в 9 рекомендаций, которые внедрены на предприятиях Украины и России. «Рекомендации по заготовке, хранению и переработке мяса, шерсти, кожевенного и шубно-мехового сырья в условиях загрязнения территорий радиоактивными

веществами», 2000 г.

За время работы лаборатории было подготовлено 5 докторов и 17 кандидатов наук. Научная и практическая новизна разработок лаборатории за последние 25 лет подтверждена 12 авторскими свидетельствами и патентами. Получен патент «Кормовая добавка для животных» (2013), разработаны «Методическое пособие по применению сорбентов и биологически активных веществ для снижения суммарного поступления радионуклидов и тяжелых металлов в продукцию животноводства в зонах повышенного экологического риска», «Технология применения биологически активных сорбирующих комплексов для крупного рогатого скота при сочетанном загрязнении кормов радионуклидами (^{137}Cs, ^{90}Sr) и токсичными элементами (Cd, Pb и Zn)».

В настоящее время основным направлением работы лаборатории является изучение влияния ионизирующей радиации и токсичных элементов на физиологическое состояние сельскохозяйственных животных, их продуктивность и качество продукции, а также разработка сорбционно-детоксикационных технологий для животноводства в экологически неблагополучных регионах.

Лаборатория изотопных методов исследования ВНИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии Главного управления научно-исследовательских и экспериментально производственных учреждений МСХ СССР – ВНИИВВиМ (ныне ФГБНУ Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии)

В 1959 г. во ВНИИВВиМ была создана лаборатория изотопных методов исследований, которую возглавил д.в.н., проф., заслуженный деятель науки РФ И.А. Чистяков. Работал на этом посту до января 1977 г. По его предложению и непосредственном участии в г. Покрове спроектирован и построен лабораторный корпус № 5 с замкнутым циклом технологического оборудования для проведения радиобиологических исследований, введённый в эксплуатацию в январе 1970 г.

С января 1977 г. до февраля 1979 г. обязанности заведующего лабораторией исполнял к.б.н. А.В. Васильев. В феврале 1979 г. заведующим лабораторией был избран выпускник Казанского ветеринарного института, ученик проф. В.А. Киршина д.б.н. В.А. Бударков (ныне профессор, заслуженный деятель науки РФ, с 2008 г. – главный научный сотрудник ФГБНУ ФИЦВиМ).

Начиная с 1971 г., лаборатория приступила к разработке методов раннего прогнозирования исходов лучевых поражений у сельскохозяйственных животных, оценки влияния легко- и труднорастворимых модельных продуктов ядерного взрыва на их хозяйственно-полезные качества. В период 1971–1976 гг. в экспериментах на крупных сельскохозяйственных животных было использовано 53 кюри модельных продуктов ядерного деления 7–12 часового возраста после облучения солей урана-235 и урана-238 на ядерных реакторах Москвы и Обнинска.

На базе радиобиологического корпуса ВНИИВВИМ около 15 лет проводили исследования с неразделенной смесью модельных продуктов ядерного деления специалисты из многих НИИ бывшего СССР (ВНИИСХР, ВИЭВ, ВНИЯИ, ВНИИВС, ВНИВИ, ВНИМИ). Эти исследования, выполненные в 1970-1980 гг. оказались столь результативными, что основные исполнители из ВНИИВВиМ и ВНИИСХР были удостоены Государственной премии СССР по ветеринарии, в т.ч. И.А. Чистяков, И.А. Бакулов, О.Н. Горбунов, А.В. Васильев, Н.А. Корнеев, Б.Н. Анненков, Б.П. Кругликов, В.П. Финов и др.

Велась активная работа по подготовке кадров высшей квалификации по специальности радиобиология. Защищено 7 докторских, и 32 кандидатских диссертации.

В задачи сотрудников ВНИИВВиМ входило:

– изучение биологических и генетических свойств микроорганизмов, вопросов иммунологии и эпизоотологии, разработка средств и методов диагностики и специфической профилактики, биотехнологии производства вакцин и диагностикумов при особо опасных болезнях сельскохозяйственных животных, в том числе общих для человека и животных. С этой целью

использовались радиоактивные метки и γ-излучение в работах с возбудителями африканской и классической чумы свиней, сибирской язвы, бешенства, ньюкаслской болезни, гриппе, вирусной геморрагической болезни кроликов, лихорадке долины Рифт, листериозе животных и др. Результаты этих исследований обобщены в книге сотрудников института «Радионуклидные методы исследований в вирусологии и микробиологии», М.: Энергоатомиздат, 1990 (В.А. Бударков, И.А. Бакулов, В.В. Макаров, Р.М. Чумак);

– разработка средств и методов ветеринарной диагностики, профилактики радиационных поражений сельскохозяйственных животных и системы ветеринарных противорадиационных мероприятий при ведении животноводства на территории, загрязненной радиоактивными продуктами ядерного деления (Л.М. Сургучева, А.С. Зенкин, А.М. Мишин, Н.В. Грехова, Д.В. Куренков, О.Г. Шведов, С.А. Зенкин, Н.И. Архипов, Р.М. Юнусова, А.Н. Ильина, В.А. Гаврилов, А.Л. Семенихин). Основу практических предложений в этом направлении составили результаты экспериментов по изучению метаболизма и патогенеза действия модельных продуктов ядерного взрыва и γ-излучения на сельскохозяйственных животных и оценка возможности применения средств и методов профилактики поражений костного мозга и терапии радиационных поражений желудочно-кишечного тракта от оплавленных радиоактивных частиц (И.М. Жукова, Е.А. Маяков, Ю.А. Ястребков, Г.В. Козьмин, Н.М. Позднякова, В.А. Демихов, А.А Торубарова, Е.П. Прилепская);

– изучение вопросов инфекции и иммунитета при воздействии ионизирующих излучений на организм, разработка средств и методов диагностики и защиты с.-х. животных в условиях комбинированного воздействия на организм факторов биологической, радиационной и химической природы (О.Н. Карпов, Р.М. Зубаиров, Л.М. Сургучева, Н.М. Лазарев);

Оценено влияние некоторых особо опасных возбудителей инфекционных болезней вирусной и бактериальной природы на облученных сельскохозяйственных животных и радиозащитные свойства вакцин против классической чумы свиней, бешенства, сибирской язвы, лихорадки долины Рифт и болезни Ньюкасла (А.Р. Амирханян, С.С. Кабась, С.В. Юрецкий, Е.К. Долганова, В.А. Дороговцев).

Исследована заболеваемость крупного рогатого скота на Восточно-Уральском следе Челябинской области сибирской язвой, бешенством, туберкулезом и оценены радиологические риски распространения лейкоза скота (Н.А. Шкаева, А.Э. Шкаев).

Способы профилактики острой лучевой болезни защищены авторскими свидетельствами: у овец вакцинами из штамма 55-ВНИИВВиМ против сибирской язвы и из штамма ТС-80 против бешенства, у свиней вакциной из штамма ЛК-ВНИИВВиМ против КЧС.

Научный потенциал ветеринарных радиобиологов и других специалистов ВНИИВВиМ оказался востребован вскоре после чернобыльской аварии. В период с 1986 по 1989 гг. на институт были возложены обязанности головной организации по выполнению НИР, направленной усовершенствование противоэпизоотических мероприятий на загрязненной радионуклидами территории. Соисполнителями были Белорусский филиал ВНИИСХРАЭ, ВИЭВ, ВНИВИ (г. Казань), ЦНПВРЛ, Украинский и Белорусский ИЭВ. Исследования сотрудников ВНИИВВиМ в период йодной опасности выполнялись на территории Белоруссии.

Способы диагностики хронической лучевой болезни защищены авторским свидетельством СССР (1991 г., авторы В.А. Бударков, В.А. Киршин, А.С. Зенкин, Н.И. Архипов, Р.М. Юнусова) и патентом СССР (1994 г., авторы В.А. Бударков, А.С. Зенкин, О.Н. Карпов, Е.А. Маяков, А.М. Мишин, А.А. Торубарова, Н.И. Архипов, Р.М. Юнусова).

Животные с проявлениями гипо- и атиреоза отличались пониженными фагоцитарной активностью нейтрофилов, количеством Т- и В-лимфоцитов, функциональной активностью Т-лимфоцитов. Однако вакцинация против сибирской язвы и лихорадки долины Рифт способствовала активному образованию специфических антител. Иммунизированные животные в лабораториях ВНИИВВиМ выдерживали контрольное

заражение вирулентными возбудителями соответствующих инфекций.

Структура заболеваний и падежа взрослых сельскохозяйственных животных в зонах радиоактивного загрязнения в послеаварийный период существенно не отличалась от доаварийного уровня. Отмечена тенденция к увеличению в послеаварийный период латентных инфекций и незаразных болезней молодняка, лейкоза крупного рогатого скота, положительно реагирующих на туберкулин животных. Эпизоотий, вызванных опасными инфекционными болезнями, в послеаварийный период не зарегистрировано.

В период, когда основными дозообразующими радионуклидами стали изотопы цезия, исследования проводились на территории юго-западных районов Брянской области России.

На территории с плотностью загрязнения ^{134}Cs более 40 Ки/км^2 в 1991 г. у телят (поглощенные дозы облучения от внешних и внутренних источников 35–350 мрад/мес.) вакцинация против сибирской язвы и ящура обеспечивала надежный и долговременный иммунитет (О.Н. Карпов, Р.М. Зубаиров, ВНИИВВиМ; А.А. Дороговцев, ВНИЯИ). Установлено достоверное повышение напряженности эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота в юго-западных районах Брянской области в периоды 1987–1990 и 1998–2000 гг. (А.В. Книзе, ВНИИВВиМ). Для прививки животных на загрязненной радионуклидами территории против сибирской язвы рекомендовано использовать вакцину из штамма 55-ВНИИВВиМ 1 раз в год, а против ящура – универсальную вакцину ВНИЯИ. Для достижения наибольших результатов в защите животных от инфекций, в случаях иммунодефицита, целесообразно проводить вакцинации на фоне предварительного введения животным иммуномодуляторов.

В Брянской области проведены исследования сорбции радионуклидов цезия порошковыми ферроцианидными сорбентами. В комплексных экспериментах принимали участие Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии Россельхозакадемии, Институт биофизики Минздрава СССР, Пермский политехнический университет, Челябинский политехнический университет, Институт физической химии РАН, АО «Ведущий научно-исследовательский институт химической технологии», Центральная научно-производственная ветеринарная радиологическая лаборатория МСХ СССР, Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт Росельхозакадемии.

По предложению сотрудников института биофизики МЗ СССР В.П. Борисова и И.Я. Василенко за основу была взята медицинская форма селективного сорбента цезия – ферроцин. С целью удешевления сорбента Н.Ф. Калинин (1998) создал ветеринарную форму – ферроцин-2, а сотрудники ВНИИВВиМ по предложению В.В. Милютина, Р.А. Пензина, Н.И. Крюкова (2011) из отходов виноделия разработали способ изготовления ферроцианидно-бентонитового сорбента ХЖ-90. Наши работы включали в себя изучение сорбционных свойств сорбентов *in vitro* и *in vivo* (Е.А. Маяков, В.А. Бударков, А.В. Васильев, Л.А. Волосевич, С.А. Зарванская).

В зависимости от уровня загрязнения кормовой базы и сроков введения в рацион сорбентов переход изотопов цезия в продукцию животноводства снижался от 1,5 до 10 раз. Разработаны «Ветеринарно-технические требования к препаратам из группы ферроцианидов и способам их использования в животноводстве» (1991), ветеринарные правила ВП 13.73.13-99 «Применение сорбентов радиоактивного цезия в ветеринарии» (1999). Приоритет применения сорбентов на основе ферроцианидов защищен 4 патентами.

Материалы полевых и лабораторных исследований коров и овец под влиянием инкорпорированных радионуклидов в последующем вошли в ряд Ветеринарных правил и Методических рекомендаций, утвержденных на федеральном уровне.

Для популяризации радиобиологических знаний написаны «Радиобиологический справочник», Минск: Ураджай, 1993 (В.А. Бударков, В.А. Киршин, А.Е. Антоненко), «Краткий радиоэкологический словарь», Саранск: Издательство Мордовского университета, 1998 (В.А. Бударков, А.С. Зенкин), «Радиобиология. Радиационная безопасность

сельскохозяйственных животных», М.: Колосс, 2008; М.: БИБКОМ. 2017; М.: Колосс, 2018 (под редакцией проф. В.А. Бударкова и проф. А.С. Зенкина).

Всесоюзный институт экспериментальной ветеринарии

Во Всесоюзном институте экспериментальной ветеринарии (ВИЭВ) проведено широкомасштабное изучение влияния неблагоприятных факторов окружающей среды на сельскохозяйственных животных и разработаны средства их ветеринарной защиты от радиационного воздействия и токсикозов.

В лаборатории, возглавляемой кандидатом наук А.В. Дороговым. в 1947 г. был создан новый препарат, защищающий людей и животных от радиации. Удачу принесли нетрадиционный подход к решению проблемы и экспериментаторский талант А.В. Дорогова. Он использовал в качестве сырья лягушек, а в качестве способа переработки — термическую возгонку тканей с конденсацией жидкости. Полученная жидкость обладала антисептическими, стимулирующими, ранозаживляющими свойствами и была названа АСД (антисептик-стимулятор Дорогова).

Поиск новых противолучевых препаратов от внешнего и внутреннего облучения овец и крупного рогатого скота в последующие годы был продолжен П.А. Карташовым и В.Д. Сыпиным. Основные результаты этих исследований были обобщены в книге П.А. Карташова, В.А. Киршина, В.Г. Ильина и др. «Лучевая болезнь сельскохозяйственных животных» (1978).

Большой цикл работ по изучению хронической лучевой патологии, вызванной внутренним облучением организма ^{90}Sr, выполнен на коровах и овцах, подсвинках, курах (В.Т. Круглов (1969), Г.П. Кудрявцев (1969), В.Д. Сыпин (1969), Н.Т. Татаринцев (1969) и другими сотрудниками и аспирантами ВИЭВ).

П.А. Карташов, В.Т. Круглов и В.Д. Сыпин активно участвовали в ликвидации последствий аварии на ЧАЭС.

Центральная научно–производственная ветеринарная радиологическая лаборатория

В 1962 г в Москве создана Центральная научно-производственная ветеринарная радиологическая лаборатория (первый директор В.И. Педченко). Его сменил М.В. Калмыков, который совместно с К.М. Галатом, Ю.Я. Михайловым, Ю.И. Абрамовым, И.А. Рубановым и др. внес существенный вклад в создание нормативной ветеринарной радиологической базы (все приведенные ниже документы утверждены на федеральном уровне):

Положение о системе государственного ветеринарного контроля радиоактивного загрязнения объектов ветеринарного надзора в Российской Федерации (1998).

Положение о государственной лаборатории ветеринарно-санитарной экспертизы на продовольственных рынках (1998).

Ветеринарные правила обеспечения радиационной безопасности сельскохозяйственных животных. Радиационная экспертиза продукции животного и растительного происхождения лабораториями ветеринарно-санитарной экспертизы на продовольственных рынках (2000).

Методические указания по отбору проб объектов ветеринарного надзора для проведения радиологических исследований (1997).

Ветеринарно-санитарные требования к радиационной безопасности кормов, кормовых добавок, сырья кормового. Допустимые уровни содержания стронция-90 и цезия-137 (2000).

Организация государственного радиоэкологического мониторинга агроэкосистем в зоне воздействия радиационно-опасных объектов. Методические указания. МУ 13.5.13-00. М., 2000.

Ветеринарные правила обеспечения радиационной безопасности сельскохозяйственных животных. Организация государственного ветеринарного радиологического мониторинга объектов ветеринарного надзора в зоне воздействия радиационно-опасных объектов (2001).

Персонал лаборатории активно участвовал в ликвидации последствий аварии на ЧАЭС в сфере агропромышленного

производства и внедрял свои разработки на практике в Брянской области.

В настоящее время учреждение переведено в г. Барнаул и имеет наименование - ФГБУ «Центральная научно–производственная ветеринарная радиологическая лаборатория».

Отдел животноводства ВНИИ сельскохозяйственной радиологии (ныне ФГБНУ «ВНИИ радиологии и агроэкологии»)

В 1971 г. был создан ВНИИ сельскохозяйственной радиологии (ВНИИСХР) (г. Обнинск, Калужская область). На первом этапе большое внимание уделялось изучению патогенеза острой лучевой болезни и его особенностей при различных уровнях и формах воздействия ионизирующих излучений на организм животных, модификации условий их кормления и содержания. При проведении исследований изучали картину крови (Б.П. Кругликов, А.И. Бурцев, В.П. Свиридова) и барьерную функцию лимфатической системы (Ю.П. Найденов). При биохимических исследованиях изучали динамику широкого спектра ферментов, нуклеиновых и аминокислот, макро- и микроэлементов крови (Л.Н. Ульяненко, Е.Х. Ткачук, А.И. Цыцын). Биофизические показатели, основанные на принципах флюоресценции и проницаемости клеточных мембран, были исследованы Н.В. Грудиной, А.С. Шевченко, Э.Б. Мирзоевым, В.О. Кобялко и Т.С. Шевченко, динамика аберраций хромосом в лимфоцитах крови животных – А.В. Саниной и Л.К. Храмцовой.

Иммунный статус животных оценивали по состоянию гуморального и клеточного иммунитета, барьерной функции слизистой носа. При этом определяли бактерицидную и бета-литическую активность крови, содержание лизоцима (Н.И. Епифанов, Н.И. Чепикова, В.Я. Саруханов) и уровень бактериальной обсемененности в органах дыхания и пищеварения (Л.А. Конева, В.И. Лой, Л.В. Исамова). Гормональный статус оценивали по функциональной активности щитовидной и поджелудочной желез, половой и адреналогипофизарной системы (А.Д. Вакуленко, Н.С. Грудин, А.М. Четокин, Г.А. Орлова).

В результате экспериментальных исследований были разработаны методы биоиндикации радиационного поражения сельскохозяйственных животных, включающие гематологические, иммунологические, биохимические, биофизические, цитогенетические и другие показатели (Б.П. Кругликов, Н.Н. Исамов (ст.), А.И. Бурцев, Н.С. Чепиков, Н.И. Епифанов, Л.Н. Ульяненко, А.В. Санина, Л.К. Храмцова, О.И. Жильчук-Потетня, Н.В. Грудина, Н.И. Чепикова, Н.С. Грудин, А.С. Шевченко, Л.А. Конева, А.М. Четокин).

Проведение дозиметрии при введении животным радионуклидов с кормами

В результате анализа особенностей формирования цитогенетических эффектов при облучении животных для оценки радиационного поражения был предложен основанный на частоте аберраций хромосом тест (Л.К. Храмцова).

Для индикации радиационного поражения был отработан метод хемилюминесценции гранулоцитов периферической крови (Б.П. Кругликов, Н.В. Грудина), биофизический тест (А.С. Шевченко, В.О. Кобялко, Э.Б. Мирзоев, Т.С. Шевченко), оценивающий нарушение проницаемости плазматической мембраны клеток животного, выявлены основные закономерности функционирования системы цАМФ в клетках крови облученных животных (А.С. Шевченко, Т.С. Шевченко, Э.Б. Мирзоев, В.О. Кобялко, З.А. Симонова).

Создана полевая лабораторная укладка радиологическая (ПЛУР) для диагностических целей (Б.П. Кругликов, А.И. Бурцев, Л.Н. Ульяненко), а также аллерго

диагностикум для выявления радиационно-пораженных животных (Н.Н. Исамов (ст.), А.М. Четокин, Л.В. Исамова).

Ожидалось, что после массированного применения ядерного оружия радиационная патология животных будет проявляться на фоне резкого снижения обеспеченности животных кормами. В этой связи было изучено влияние голодания на течение лучевой болезни у всех видов сельскохозяйственных животных и пушных зверей, потери и динамику восстановления продуктивности животных после радиационного воздействия (Б.Н. Анненков, А.В. Васильев, Н.Н. Исамов (ст.), А.Н. Сироткин, Н.П. Асташева, Л.К. Храмцова, В.П. Финов, Л.Н. Ульяненко, О.С. Губарева, Е.А. Соколова, Е.Г. Краснова). Клиническое проявление, состояние иммунного и гормонального статуса при особенностях течения острой лучевой болезни, связанных с голоданием, были исследованы Н.Н. Исамовым (ст.), Б.П. Кругликовым, Н.И. Епифановым, Н.В. Грудиной, Н.С. Грудиным и В.Л. Ивановым.

Важным направлением в области радиобиологии животных являлось изыскание средств, позволяющих облегчить течение лучевой болезни после радиационного воздействия. Изучена эффективность химических препаратов из класса анаболиков, иммуномодуляторов, антибиотиков (Н.Н. Исамов (ст.), А.В. Васильев, А.Н. Сироткин, И.А. Морозов, А. Соколова, Е.Г. Краснова, В.Л. Иванов, Н.И. Епифанов).

В 1989 г. во ВНИИСХР начаты исследования по оценке действия малых доз ионизирующего излучения низкой интенсивности на организм сельскохозяйственных животных. На основе использования методологии радиоиммунного анализа разработан способ диагностики лейкоза у крупного рогатого скота (Н.Н. Исамов (ст.), В.Л. Иванов).

Исследования во ВНИИСХР носили комплексный характер. В организационном плане лидирующее положение занимали лаборатории Отдела животноводства (руководитель Б.Н. Анненков). В опытах активное участие принимали сотрудники физико-химического отдела (руководитель Л.И. Пантелеев) и Отдела растениеводства (руководитель С.П. Целищев). Практические вопросы радиационной безопасности успешно решала группа И.А. Амплеева.

Будучи головным учреждением, ВНИИСХР проводил большую координационную работу и выполнял совместные исследования с Всесоюзным НИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии (И.А. Чистяков, В.А. Бударков, О.Н. Карпов), Всесоюзным НИИ экспериментальной ветеринарии (П.А. Карташов, В.Д. Сыпин), Всесоюзным НИИ ветеринарной санитарии (П.А. Сивохин, Н.И. Калиберда), Всесоюзным научно-исследовательским молочным институтом (Г.А. Донская, Л.Н. Опарина), Всесоюзным НИИ молочной промышленности (Е.В. Лабецкий), Казанским научно-исследовательским ветеринарным институтом (В.А. Киршин), Узбекским научно-исследовательским ветеринарным институтом (М.Б. Камалов, Р.У. Булханов, И.В. Ряснянский), Всесоюзным НИИ коневодства (А.П. Кошаров, Р.А. Халилов), Всесоюзным НИИ незаразных болезней животных (В.С. Бузлама, В.Н. Долгополов), Всесоюзным научно-исследовательским ящурным институтом (А.А. Дороговцев), Всесоюзным НИИ мясного скотоводства (В.И. Левахин).

Основные эксперименты по изучению последствий сочетанного радиационного воздействия на животных были выполнены в радиологическом корпусе ВНИИВВиМ [16]:

– осуществлена широкая программа физиолого-биохимических и цитологических исследований в организме пораженных животных. Помимо общепринятых в ветеринарной практике клинических исследований (Б.П. Кругликов, А.И. Бурцев и сотр.), в лабораториях Отдела животноводства изучали у животных после радиационного воздействия:

– переваримость питательных веществ рациона у овец (Н.А. Васильева);

– гематоморфологическую картину крови (А.И. Бурцев и сотр.) и барьерную функцию лимфатической системы (Ю.П. Найденов);

– обменные процессы и функциональное состояние сердечно-сосудистой системы (Б.П. Кругликов и сотр.);

– содержание белка, белковосвязанных фракций, ферментов и минеральных

веществ в сыворотке крови (Л.Н. Ульяненко);

– динамику свободных аминокислот в плазме крови и эритроцитах, размеры обменноспособного пула аминокислот (А.И. Цыцын);

– спонтанный уровень аберраций хромосом в лимфоцитах крови крупного рогатого скота, динамику структурных нарушений хромосом в разные сроки после радиационного поражения (Л.К. Храмцова, Н.П. Асташева);

– отклонения в воспроизводительной функции размножения животных после радиационного воздействия (Н.П. Асташева, Н.А. Васильева, О.С. Губарева, В.П. Свиридова, В.Я. Фрунзе).

Впервые во ВНИИСХРАЭ проведены широкие радиобиологические исследования на лошадях в модельных и натурных условиях. Именно эти эксперименты позволили выявить особенности биологических эффектов у лошадей при облучении в диапазоне от сублетальных до абсолютно летальных доз (Н.Н. Исамов (ст.), Н.Н. Исамов (мл.) Радиобиология и радиоэкология лошадей / Под ред. Р.М. Алексахина. Обнинск: ГНУ ВНИИСХРАЭ, 2009).

Установлено, что значимым фактором при внешнем γ-облучении, определяющим уровень летальности или других патологических изменений в организме лабораторных и сельскохозяйственных животных, является наличие у них скрытых инфекционных или незаразных патологий, не проявляющихся клиническими симптомами. Внешнее γ-облучение провоцирует латентные инфекции. Лошади лептоспироносители при минимальных летальных и более высоких дозах быстрее погибали с признаками этой инфекции и отклонениями по другим показателям иммунного статуса, свойственным острой лучевой болезни. Полулетальная доза облучения подсвинков провоцировала ускорение развития аскаридоза свиней. Болезнь животных сопровождалась резко выраженной лейкопенией и наступлением ранней гибели подсвинков. Модифицирующее влияние γ-облучения регистрировалось и при незаразных болезнях. Телята хроники-пневмоники тяжело переболевали лучевой болезнью при минимальных летальных дозах, при этом процент летальных исходов значительно возрастал.

С первых дней аварии на ЧАЭС ВНИИСХР активным образом включился в ликвидацию ее последствий, было принято решение об организации двух филиалов ВНИИСХР на территории бывших союзных республик – в Белоруссии и на Украине. В настоящее время они являются ведущими национальными центрами по сельскохозяйственной радиологии.

После чернобыльской катастрофы внимание специалистов-радиологов Отдела животноводства было направлено на решение проблем, связанных с задачами по ликвидации последствий в животноводстве этой крупнейшей техногенной катастрофы. Уже в первые недели и месяцы после аварии были проведены разносторонние исследования по оценке радиобиологических последствий для сельскохозяйственных животных радиоактивных осадков.

В области животноводства экспериментальные работы ВНИИСХР были сосредоточены на разработке способов производства молока, отвечающего радиологическим стандартам по содержанию ^{137}Cs.

Научно-производственные опыты были использованы при подготовке «Временных рекомендаций по проведению заключительного периода выращивания (откорма) мясного скота на территории, подвергшейся радиоактивному загрязнению» (1986). Эти рекомендации нашли широкое практическое применение. Они сыграли большую роль в организации в районах бедствия производства мясной продукции, отвечающей, по содержанию радионуклидов, санитарно-гигиеническим требованиям.

В ликвидации последствий аварии на ЧАЭС приняло участие 208 сотрудников института и в настоящее время продолжают трудиться 38 ученых и специалистов-ликвидаторов.

За разработку системы мероприятий в области ветеринарии группе ученых института (Б.Н. Анненков, А.В. Васильев, Н.А. Корнеев, Б.П. Кругликов, В.П. Финов, С.П. Целищев) была присуждена Государственная премия СССР (1980 г.).

За послеаварийных период

сотрудниками института разработано около 200 памяток, инструкций и рекомендаций. В практическом плане выполнение рекомендованных мероприятий позволило сохранить тысячи тонн продовольственной продукции, обеспечить сохранение сельскохозяйственного производства и возможность безопасного проживания населения на подавляющей части загрязненной территории.

Начиная с 1991 г. ВНИИРАЭ активно участвует в международных проектах по проблемам ликвидации аварии на ЧАЭС. Результаты исследований института явились основой для разработки международных «Рекомендаций по ведению сельскохозяйственного производства в условиях радиоактивного загрязнения» (МАГАТЭ).

Существенный вклад в развитие ветеринарной радиобиологии внесла деятельность: Н.Н. Исамова – по проблемам естественной иммунологической резистентности животных, реабилитации животноводства на радиоактивно загрязненной территории, применению сорбентов; А.С. Шевченко, Т.С. Шевченко, В.О. Кобялко – по вопросам биофизики и механизмам биологического действия внешних и внутренних источников излучения; Г.В. Козьмина., И.А. Сарапульцева – по созданию новых модельных продуктов ядерного деления для изучения метаболизма неразделенной смеси продуктов ядерного деления в организме сельскохозяйственных животных, их биологического действия; Е.В. Спирина – по дозиметрии ионизирующих излучений; А.Н. Сироткина – по вопросам миграции радионуклидов по пищевым цепочкам, распределения в организме сельскохозяйственных животных; Н.В. Грудиной и Н.С. Грудина – по оценке влияния на сельскохозяйственных животных комплекса антропогенных загрязнений и разработке новых биологически активных компонентов кормления сельскохозяйственных животных; А.В. Васильева – по оценке действия радиационных факторов на организм сельскохозяйственных животных, разработке и внедрению сорбентов в ветеринарную практику; Э.Б. Мирзоева – по вопросам радиационной биологии (биохимия, физиология, молекулярная биология) животных; В.Я. Саруханова – по особенностям течения лучевой болезни у разных видов сельскохозяйственных животных.

Заключение

Из приведенного краткого исторического обзора развития ветеринарной радиобиологии видно, что эта наука возникла сразу же после применения в медицине рентгеновского излучения и прошла в течение последующих трех десятилетий путь до успешного приложения этого метода в ветеринарной практике. Изучение биологического действия ионизирующих излучений в последующие годы способствовало развитию общей радиобиологии, радиационной медицины, радиационной гигиены и радиационной защиты. Появилась основа для выбора направлений исследований ветеринарными специалистами. В лабораториях и на ядерных полигонах проводились исследования биологического действия радионуклидов и ионизирующих излучений на сельскохозяйственных животных. Разрабатывались средства, методы и технологии защиты животных от биологического действия ионизирующих излучений, диагностики и сортировки поражённых радиацией животных, способы ведения животноводства на радиоактивно загрязненных территориях. Наряду с этим велась разработка и использование методов радиоактивных изотопов в животноводстве и ветеринарии для изучения физиологии и биохимии животных, диагностики болезней и с лечебной целью, в селекционно-генетических исследованиях. Разрабатывались радиационно-биологические технологии стимуляции хозяйственно полезных качеств сельскохозяйственных животных и птиц, стерилизации ветеринарных, биологических и лекарственных препаратов, продления сроков хранения пищевых продуктов, обеззараживания сырья животного происхождения и отходов сельскохозяйственного производства и др.

Современный период диктует необходимость осуществления постоянного мониторинга и широкомасштабных исследований в области радиоэкологии. В общей и ветеринарной радиобиологии огромное внимание уделяется вопросам совершенствования гигиенического нормирования ионизирующих

излучений. Актуальны задачи выполнения программ реабилитации радиоактивно загрязненных сельскохозяйственных объектов. Недостаточно сведений об эффективности диагностических и противоэпизоотических мероприятий, в т.ч. против особо опасных болезней сельскохозяйственных животных на радиоактивно загрязненной территории. Нынешняя фаза характеризуется углубленным изучением эффектов малых доз ионизирующих излучений: радиоиндуцированного адаптационного эффекта, эффекта «свидетеля», геномной нестабильности. Продолжаются попытки построения общей теории действия ионизирующих излучений на живые системы и объекты.

Сравнительный анализ действующих в стране научных организаций показывает, что центром фундаментальных и прикладных исследований по обеспечению устойчивого развития агропромышленного комплекса и производству экологически безопасной продукции и сырья в условиях техногенного воздействия на агросферу, включая разработку научных основ, практических приёмов и технологий ликвидации последствий радиационных, химических и других техногенных аварий, был и остается ФГБНУ ВНИИРАЭ.

Основные направления исследований: проблемы техногенеза в агропромышленном комплексе; экологическая безопасность ядерной энергетики; радиационный и агроэкологический мониторинг; действие ионизирующих и неионизирующих излучений на живые организмы; миграция радионуклидов и химических токсикантов в природных и аграрных экосистемах; моделирование, создание систем поддержки принятия решений, прогнозирование экологической обстановки; технологии реабилитации загрязненных территорий; технологии на базе УФ- и СВЧ-излучений; радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности.

Структурный потенциал развития данного научного направления позволяет учреждению получать научные результаты, соответствующие мировому уровню науки. Организация ориентирована на исследования и разработки в интересах социально-экономического развития отдельных регионов Российской Федерации и Российской Федерации в целом. Федеральные и региональные органы исполнительной власти являются долгосрочными партнерами организации.

Выполняется значительное количество проектов, реализованных в рамках федеральных целевых программ и при финансировании фондами поддержки научно-технической и инновационной деятельности. ВНИИРАЭ имеет долгосрочных стратегических партнеров из числа бизнес-структур.

Организация ориентирована на получение практически важных результатов и разработок, ведет активную внедренческую деятельность. В Минсельхоз России внедрены и переданы на производство значительное количество научно-технических разработок. Осуществляется активная нормотворческая и экспертная деятельность.

Организация ведет значительную работу по подготовке кадров высшей квалификации. Сотрудники организации защищают существенное (по сравнению с другими организациями данной референтной группы) количество кандидатских и докторских диссертаций, при организации действует диссертационный совет, ведется подготовка аспирантов и докторантов.

ВНИИРАЭ осуществляет активное сотрудничество с образовательными организациями, в том числе имеются совместные с ВУЗами базовые кафедры и научно-образовательные центры, исследователи организации преподают в высших учебных заведениях.

Ведется активное международное сотрудничество. Организация входит в крупные международные консорциумы. Исследователи ВНИИРАЭ выступают в роли лекторов и экспертов по запросам зарубежных организаций, активно участвуют в международных конференциях за рубежом, ВНИИРАЭ проводит конференции с международным участием.

Статьи исследователей организации опубликованы в журналах, в том числе зарубежных, со средним или высоким импакт-фактором для данного научного направления.

Выполняется значительное количество проектов, реализованных при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, Российского научного фонда. Организация имеет международные гранты, исследователи организации имеют значимые российские научные награды, премии и другие звания, награждены иностранными или международными научными наградами и премиями, почетными званиями.

По мнению ВНИИРАЭ, имеются предпосылки для технологического прорыва в области применения радиационных технологий. В их основе находится радиационная обработка сельскохозяйственного сырья и пищевой продукции [17]. Фундаментальной задачей является исследование механизмов биологического действия ионизирующего излучения, вызывающего стимуляцию и ингибирование биологических процессов на разных иерархических уровнях организации биологических систем [18]. Предложения ВНИИРАЭ получили поддержку участников международной научно-практической конференции в Обнинске 26–28 сентября 2018 г. [19].

Литература

1. Ядерные испытания СССР. Семипалатинский полигон. Обеспечение общей и радиационной безопасности ядерных испытаний / Под ред. *В.А. Логачева. М.*, 1997. 319 с.

2. Ядерные испытания СССР. Новоземельский полигон. Обеспечение общей и радиационной безопасности ядерных испытаний. М.: ИздАТ, 1997. 483 с.

3. *Горбунов О.Н.* Ветеринарно-санитарное и токсикологическое значение радиоактивного йода. М., 1969.

4. *Караваев В.М., Коляков В.Л., Коржевенко Г.Н., Ильин В.Г.* Защита животных от поражения ядерным оружием. М.: Колос, 1970. 400 с.

5. *Алексахин Р.М.* У истоков отечественной радиоэкологии. К 100-летию со дня рождения академика ВАСХНИЛ В.М. Клечковского // Вестник РАН. 2001. Т. 71. № 1. С. 63-70.

6. *Рачинский В.В.* Агроатомный учебно-научный центр. Рекламно-информационный проект. М., 1988. 59 с.

7. *Рябов В.И., Кудрявцев А.А.* Систематизированный указатель отечественных диссертаций по применению ионизирующих излучений и радиоактивных изотопов в ветеринарии и животноводстве. Материалы научной конференции по использованию радиоизотопов и ионизирующих излучений в ветеринарии и животноводстве. М., 1969, 217–222.

8. *Киршин В.А.* Этапы жизни и деятельности. Казань, 2010. 108 с.

9. Радиобиологические эффекты у животных / *В.А. Киршин, К.П. Бобрышев, В.А. Бударков, М.Л. Гусарова, Е.Г. Жуков, Ю.Н. Зеленое, С.К. Кирикбаев, С.В. Киршин, Б.С. Покровский, В.А. Сафонова, С.А. Сутбаев, Е.М. Гелеугалиев, Е.И. Трошин, В.П. Фролов, Н.Ф. Шуклин.* М.: ООО «Фантера», 1999. 196 с.

10. *Конюхов Г.В.* Вклад отдела радиобиологии ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» в разработку методов и средств защиты животных от радиационных поражений. Актуальные проблемы ветеринарной медицины. ФЦТРБ-ВНИВИ: Казань, 2018. С. 17–22.

11. *Бакуров А., Ровный С.* Вклад опытной научно-исследовательской станции (ОНИС) в ликвидацию последствий аварии 1957 года на ПО "Маяк" // Охрана природы Южного Урала: областной экологический альманах. Челябинск, 2007. С. 38–43.

12. *Корнеев Н.А.* К чистой среде, чистому миру и светлым помыслам (Комбинат «Маяк», ВУРС, ОНИС в памяти и сердце). Обнинск, 2013. 79 с.

13. *Пристер Б.С.* Проблемы сельскохозяйственной радиобиологии и радиоэкологии при загрязнении окружающей среды молодой смесью продуктов ядерного деления. Чернобыль: Ин-т проблем безопасности АЭС, 2008. 320 с.

14. Опытная научно-исследовательская станция ПО "Маяк" (1958–2000 гг.) и становление отечественной прикладной радиоэкологии // Библиотека журнала «Вопросы радиационной безопасности». 2003. № 3. С. 3–6.

15. *Захарова Л.Л.* Дезактивация мяса и сырья животного происхождения / В кн: Радиобиология. Радиационная безопасность сельскохозяйственных животных. М.: ИКЦ «Колос-с», 2018. С. 167–192.

16. *Анненков Б.Н.* К истории развития радиоэкологии и радиобиологии сельскохозяйственных животных // XXXУ Радиоэкологические чтения, посвященные действительному члену ВАСХНИЛ В.М. Клечковскому. М., 2007. С. 44–61.

17. *Санжарова Н.И., Козьмин Г.В., Павлов А.Н., Кобялко В.О., Лой Н.Н., Цыгвинцев П.Н.* Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности: история, современное состояние и перспективы / В кн.: Сборник докладов международной научно-практической

конференции. Обнинск: ФГБНУ ВНИИРАЭ, 2018. С. 32–35.

18. *Санжарова Н.И., Козьмин Г.В., Гераськин С.А.* Фундаментальные и прикладные аспекты применения радиационных технологий в сельском хозяйстве и пищевой промышленности / В кн.: Применение химических веществ, ионизирующих и неионизирующих излучений в агробиотехнологиях. Сборник докладов круглого стола в рамках XX Менделеевского съезда по общей и прикладной химии. Обнинск: ФГБНУ ВНИИРАЭ, 2016. С. 109–112.

19. Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности: состояние и перспективы. Сборник докладов международной научно-практической конференции. Обнинск: ФГБНУ ВНИИРАЭ, 2018. 356 с.

Основные закономерности радиобиологических реакций растений

С.А. Гераськин

ФГБНУ ВНИИ радиологии и агроэкологии

Проанализированы общие и специфические реакции растений на действие ионизирующих излучений на разных уровнях биологической организации. Особое внимание уделено анализу свойственных только растениям реакций на облучение. Показано, что повышенная устойчивость растений к действию ионизирующего излучения по сравнению с животными связана с более эффективной системой антиоксидантной защиты, систем репарации ДР ДНК, регулярным формированием новых репродуктивных структур и значительной избыточностью производства семян. Обсуждаемые в статье закономерности имеют универсальный характер и во многом определяют направление и развитие не только физиологических, но и патологических процессов, а также открывают принципиальную возможность прогнозирования реакций растений на внешнее воздействие.

Ионизирующее излучение, растения, радиобиологические реакции растений, радичувствительность, малые дозы, эффекты облучения

Исследование радиобиологических реакций растений началось практически сразу после открытия рентгеновского излучения в 1895 г. Уже на этом этапе были обнаружены разнообразные по своей природе реакции клеток, растений и их популяций на облучение. Резкое увеличение числа исследований в этой области в 60–70 гг. прошлого века (рис. 1) было обусловлено работами по мутационной селекции и стимуляции развития растений облучением, а также необходимостью оценить возможные последствия глобальной ядерной войны. Дальнейший рост публикаций по радиобиологии растений был связан с необходимостью оценки экологических последствий радиационных катастроф в Чернобыле и на Фукусиме. К настоящему времени опубликовано более 150 000 работ, посвященных изучению реакций растений на облучение.

Классической радиобиологией детально исследованы закономерности формирования разных радиационных эффектов (индукция мутаций, гибель клеток, поражение отдельных структур и функций, формирование уродств и аномалий развития, угнетение роста и размножения, гибель организма) в зависимости от дозы и мощности облучения [2]. При этом установлена общая закономерность: по мере снижения дозы уменьшается и степень проявления наблюдаемого эффекта. Однако в области малых доз монотонный характер зависимости доза-эффект существенно меняется [3], что связано с качественным различием в биологическом действии больших и малых доз ионизирующего излучения. Более того, в области малых доз возникают явления, не наблюдающиеся при больших дозах облучения, вплоть до диаметрально противоположных эффектов, при которых ингибирование физиологических процессов сменяется их стимуляцией [4]. В основе такой реакции организма на облучение в малых дозах и слабые внешние воздействия некоторых других факторов лежат [5] фундаментальные эволюционно выработанные механизмы обеспечения устойчивости живых систем и возможности их адаптации к изменяющимся условиям внешней среды. Наблюдаемые в этой области эффекты обусловлены не столько повреждающим действием ионизирующего излучения либо иных факторов физической или химической природы, сколько особенностями реализации ответной реакции клетки и организма на слабое внешнее воздействие и являются

результатом развертывания во времени генетической программы, выбор конкретного варианта которой определяется интенсивностью и характером внешнего воздействия.

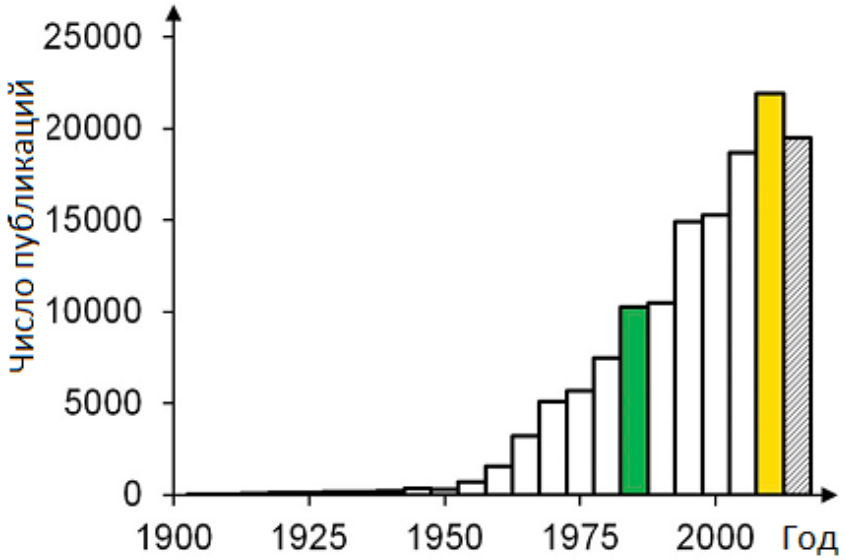


Рисунок 1. Динамика числа публикаций по радиобиологии и радиоэкологии растений [1]

Цепь последовательных событий, завершающихся конечной радиобиологической реакцией, начинается с поглощения в клетке энергии ионизирующего излучения. Выделяют [6] несколько стадий взаимодействия ионизирующего излучения с веществом:

1. Физико-химическая стадия – прямое или косвенное действие излучения на молекулы-мишени (10^{-18} – 10^{-11} с).

2. Биохимическая стадия – воздействие на основные компоненты клеток с последующим изменением метаболизма (10^{-6} – 10^{-3} с).

3. Биологическая стадия – формирование генетических и соматических эффектов облучения (секунды – годы).

Особое место в возникновении первичных радиационных повреждений занимает радиолиз воды – разложение молекулы воды под действием кванта ионизирующего излучения с образованием свободных радикалов (рис. 2). Необходимо отметить, что возникающие в клетке в процессе ее нормального развития активные формы кислорода (АФК) широко используются для выполнения сигнальных и регуляторных функций [7]. Причем в клетках растений свободных радикалов продуцируется гораздо больше, чем в клетках животных, т.к. значительное количество АФК возникает в процессе фотосинтеза [8], поэтому в ходе эволюции растения выработали эффективные механизмы защиты от оксидативного стресса. Например, в клетках растений число видов низкомолекулярных антиоксидантов на порядок больше, чем в клетках животных [1]. Тем не менее, возникающие в результате радиолиза воды дополнительные количества АФК могут превысить защитные возможности клетки, что ведет к активации реакций перекисного окисления липидов, деструктивным изменениям мембран, белков и ДНК, поражению мембраносвязанных ферментов, нарушению проницаемости мембран, нарушению активного транспорта веществ через мембраны, снижению ионных градиентов в клетке, нарушению синтеза АТФ, выходу ферментов из мест их специфической локализации, поступлению их в ядро и, как следствие, дезорганизации работы ядерных структур и даже гибели клетки.

Поскольку АФК представляют собой короткоживущие соединения, а их содержание в тканях растения остается повышенным в течение недель после острого облучения [9], разумно предположить, что основной причиной их повышенного содержания в клетке является не индукция ионизирующим излучением, а нарушения в работе производства и утилизации АФК в клетке.

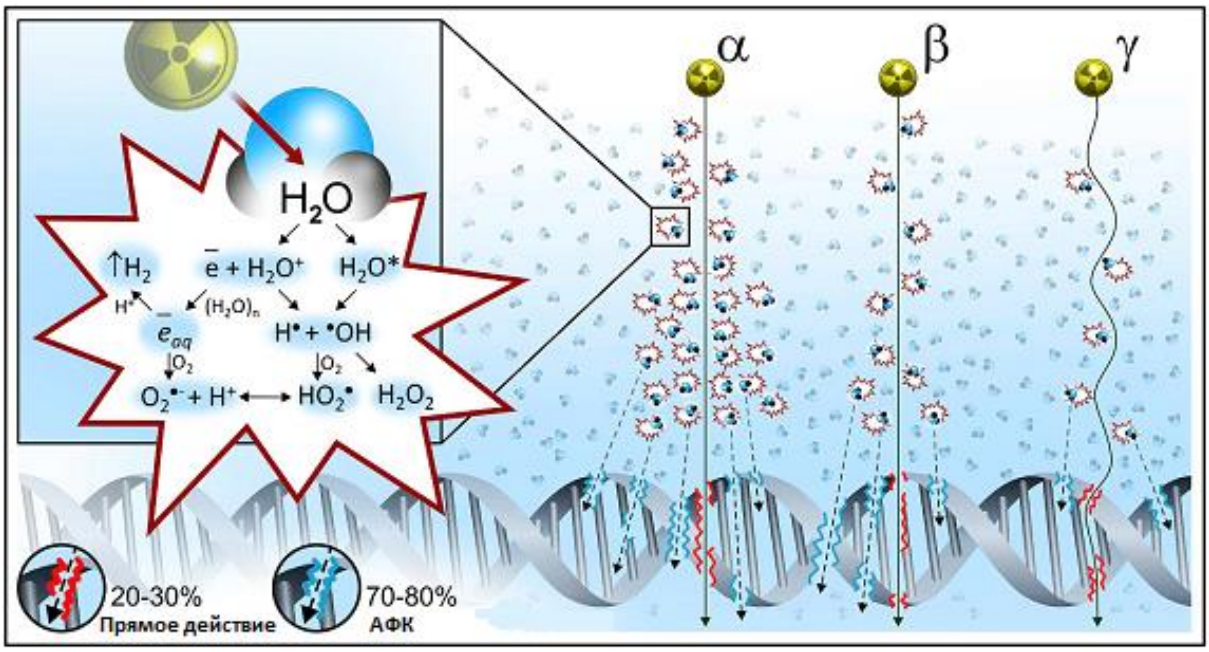


Рисунок 2. Схема радиолиза воды и индукции нарушений в молекуле ДНК разными видами ионизирующих излучений [1]

С учетом важной роли, которую АФК играют во внутриклеточных и межклеточных сигнальных каскадах, индуцированные ионизирующим излучением изменения в метаболизме АФК ведут к серьезным и длительным нарушениям многих биохимических и физиологических процессов. Экспериментально показано [10], что баланс АФК изменяется и в не подвергшихся облучению частях растения, что предполагает передачу в облученном растении сигнала, способного активировать индукцию АФК.

Начинаясь со стохастических по своей сути актов формирования молекулярных повреждений, радиационное поражение постепенно приобретает детерминистские черты, которые выражаются в ограниченном числе завершающих лучевое поражение растений явлений: формировании генных, хромосомных и геномных мутаций, а также гибели клетки. Все остальные проявления лучевого поражения являются производными этих явлений: нарушения морфогенеза тканей и гибель растения происходят из-за гибели части клеток или их мутационных изменений, изменения метаболизма обусловлены мутационными изменениями соматических клеток. Отметим, что активизация надклеточных реакций на облучение происходит на фоне исчерпания адаптационного потенциала субклеточных механизмов.

С удалением от индуцированных облучением первичных, сходных для всех живых клеток процессов, все более явными становятся специфические черты радиобиологических эффектов, отражающие своеобразие структурно-функциональной организации растений. Клетки растений отличаются от клеток животных наличием пластид, вакуоли, тонопласта, некоторых свойственных только растениям веществ – некоторые пигменты, целлюлоза и др., что в совокупности обуславливает специфичность происходящих в клетках растений радиобиологических реакций. Тем не менее, эти различия не затрагивают основной причины лучевого поражения – повреждения ядра – которая является общей для всех клеток.

Радиобиологические реакции клеток меристемы во многом сходны с реакцией стволовых клеток животных – аберрации хромосом, потеря способности к делению, пролиферативная гибель. Поскольку меристемы наиболее чувствительны к облучению, их повреждение играет решающую роль в формировании морфологических изменений. Облучение может вести к изменению порядка листообразования, возникновению

фасциаций, опухолевидных образований, меняется тип ветвления. Аномалии размеров и количества являются проявлением гиперфункций оставшихся неповрежденными или поврежденными в меньшей степени клеток, тканей, органов; следствием работы компенсаторных механизмов, включающихся при потере функций у части клеток, тканей, органов. У корней может усилиться ветвление, обусловленное торможением роста осевой части, может произойти увеличение активности вторичных меристем, формирование корней, образующихся из клеток перицикла, нарушается образование корневых волосков. Активное развитие боковых корней может привести к ускорению роста и развития надземных органов. В стебле также наблюдается снижение пролиферативной активности меристем вплоть до полной остановки роста верхушечного побега и утраты его доминирования. В этом случае пробуждаются находящиеся в покое и потому более радиорезистентные пазушные почки, образуются дополнительные побеги, листья и цветы, в результате чего растение может приобретать не характерные для него формы (рис. 3).

Рисунок 3. Рябина и сосна из 30-км зоны ЧАЭС

В ходе специализации отличия клеток растений от животных резко увеличиваются, что проявляется в свойственных только растениям реакциях на облучение. У животных закладка тканей и органов происходит на стадии зародыша. В противоположность этому, меристемы продуцируют органы на протяжении всей жизни, что определяет специфичность тканевых и организменных реакций растений. В частности, в клетках меристемы растений отсутствует система p53-апоптоза [8]. При оценке последствий хронического облучения следует учитывать, что зародышевые клетки растений формируются гораздо позже в онтогенезе, чем у животных [11]. Поэтому содержащие мутации соматические клетки могут впоследствии дифференцироваться в половые и наследоваться. Именно это фундаментальное свойство лежит в основе удивительной фенотипической и генотипической пластичности растений и их способности быстро адаптироваться к меняющимся условиям среды обитания, в том числе к высоким уровням техногенного загрязнения. Еще одним отличием растений от животных является то, что у животных подвижными являются взрослые особи, а у растений – эмбриональные формы (семена).

Функционирование организма, поддержание его гомеостаза и формирование реакций на изменение внешней среды обеспечиваются регуляторными системами. У животных к регуляторным системам относятся нервная, иммунная и железы внутренней секреции. У растений эти функции выполняют фитогормоны. В наших исследованиях

показано, что облучение семян ведет к сдвигу фитогормонального баланса проростков [12]. Причем облучение в низких дозах ведет к увеличению концентраций стимулирующих развитие гормонов, а облучение в высоких дозах – к обратному эффекту. Соответствующим образом меняется и экспрессия контролирующих метаболизм фитогормонов генов [13]. Ускорение/подавление роста и развития, подавление апикального доминирования, возникновение морфологических изменений – все эти фенотипические эффекты обусловлены изменением соотношения концентраций ключевых фитогормонов в соответствующем органе растения.

Облучение сказывается на многих физиологических процессах: изменяются темпы формообразования; нарушаются процессы дыхания, фотосинтеза, биосинтеза многих соединений и биогенеза структур [14]. Принципиально различны у растений и животных стратегии распределения ресурсов в условиях стресса. Если животные направляют ресурсы в системы, обеспечивающие выживание индивида (в первую очередь головной мозг), то у растений имеющиеся ресурсы преимущественно используются на выживание потомков в виде семян или других переживающих неблагоприятные условия форм [15]. Поэтому только высокие дозы облучения, ведущие к подавлению ростовых процессов, могут уменьшить репродуктивную способность растений, поскольку в этом случае генеративные органы вообще не закладываются, а если закладываются, то часто лишены репродуктивных структур [14]. Хроническое облучение, как правило, увеличивает вариабельность репродуктивных параметров и их чувствительность к другим факторам окружающей среды [16-18].

Крайним проявлением радиобиологической реакции является гибель растения, которая может быть вызвана разными причинами – накоплением аберраций хромосом в клетках меристем, ослаблением иммунитета, нарушением работы регуляторных систем, отказом отдельных органов и др. Т.е. гибель растения реализуется как отдаленный этап лучевого поражения. Такое развитие патологической реакции подразумевает возможность влияния на ее динамику и конечный радиобиологический эффект сопутствующих факторов. Поэтому при исследовании природы отдаленных радиобиологических эффектов необходим тщательный анализ условий, в которых они формировались.

Мир растений представлен разнообразными жизненными формами, различающимися морфологией, размерами, темпами развития, способами размножения, биохимическим составом. Прикрепленный образ жизни растений обусловил невозможность уклониться от источника стресса. Поэтому растения в ходе эволюции выработали разветвленную систему адаптивных реакций, позволяющих им успешно развиваться и доминировать в биосфере в широком диапазоне факторов среды на протяжении многих тысяч лет. Так, при облучении в одной и той же дозе, в клетках растений остается в 3 раза меньше двунитевых разрывов (ДР) ДНК, чем в клетках животных [19]. Одной из причин этого является высокий уровень избыточности систем репарации в клетках растений по сравнению с клетками животных [20]. Интересно, что если острое облучение увеличивает экспрессию связанных с репарацией ДНК генов, то хроническое облучение не изменяет существенно уровень их экспрессии [21, 22]. Еще одной причиной повышенной устойчивости растений к действию ионизирующего излучения является присущая им эффективная и разветвленная система антиоксидантной защиты [1, 8].

Степень и масштабы проявления радиобиологических эффектов зависят от радиочувствительности растений. Для царства растений характерно широкое варьирование радиочувствительности [23] от синезеленых водорослей, способных переносить дозы более 10 000 Гр до хвойных и лилейных, полулетальная доза для которых составляет единицы Гр. Радиочувствительность растений зависит от размера ядра и содержания в нём ДНК, числа и строения хромосом [24]. Важное значение имеет положение растений на филогенетическом древе: эволюционно более древние формы (Голосеменные) наиболее чувствительны к действию радиации, однодольные покрытосеменные растения имеют среднюю радиочувствительность, а

эволюционно наиболее продвинутые представители класса двудольных объединяют наиболее радиорезистентные виды [23]. Разнообразие реакций растений на облучение открывает перспективы использования разных видов излучений в практических целях, в частности, в активно развивающихся в последнее время радиационных технологиях [25].

Проведенные в США, Канаде, Франции и СССР в 60–70 гг. прошлого века эксперименты по облучению природных и искусственных биоценозов позволили описать динамику процессов лучевого поражения и пострадиационного восстановления в ценозах разных типов и установить величину дозовых нагрузок, приводящих к радиационно-индуцированным сдвигам в экосистемах. На рисунке 4 представлены результаты одного из таких экспериментов по облучению смешанного дубово-соснового леса. Видно, как, в зависимости от расстояния от источника, и, соответственно, дозы, меняется структура ценоза. Чем больше доза, тем проще структура ценоза, а соотношение видов меняется в пользу более радиоустойчивых. В ближней зоне выжили только низшие растения. Далее идет травянистая растительность, затем кустарники, лиственный лес и, наконец, когда мощность дозы существенно снизилась, исходный сосново-дубовый лес. Таким образом, типичными реакциями растительного ценоза на облучение в высокой дозе являются снижение видового разнообразия, изменение доминантности видов, уменьшение продуктивности растений и изменение структуры сообщества [26]. Если радиочувствительный вид является к тому же эдификаторным, то изменение его роли в сообществе неизбежно ведет к изменению облика всего фитоценоза.

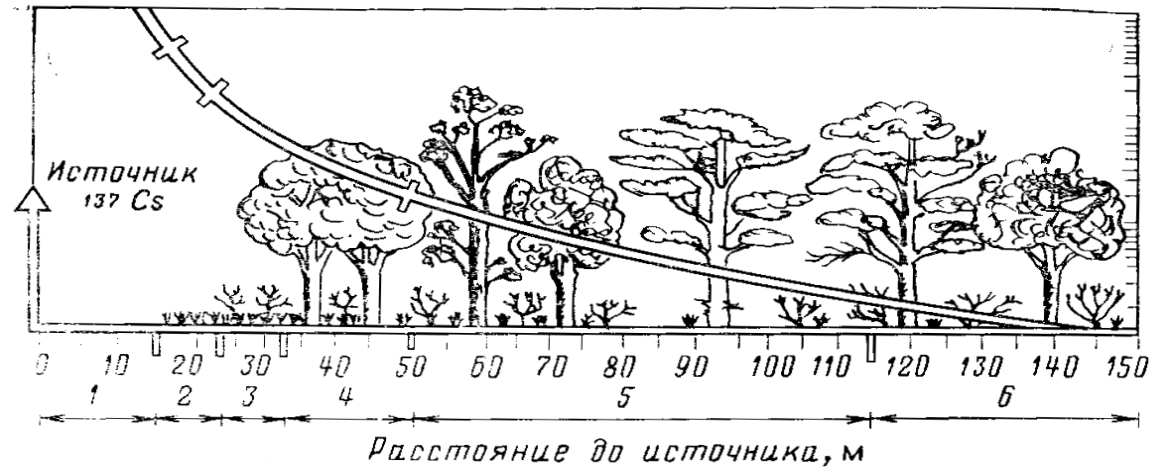


Рисунок 4. Результаты облучения сосново-дубового леса [26]

Таким образом, радиобиологические эффекты, в зависимости от радиочувствительности и поглощенной дозы, наблюдаются на разных уровнях организации живой материи – от молекулярно-клеточного до экосистемного (рис. 5). Эффекты ионизирующего излучения формируются на молекулярно-клеточном уровне. При этом эффекты на этом уровне организации при действии умеренных или низких доз радиации, чаще всего не приводят к летальному исходу, однако могут влиять на структуру популяций (половую, возрастную, генетическую) даже после прекращения радиационного воздействия [27]. Действительно, результаты многолетних (2003–2016) наблюдений за популяциями сосны обыкновенной, населяющими контрастные по уровню и спектру радиоактивного загрязнения участки показали, что развивающиеся в условиях хронического облучения популяции характеризуются повышенными уровнями мутагенеза и полногеномного метилирования, изменениями экспрессии генов, генетической структуры популяции и временной динамики цитогенетических нарушений [28]. Однако изменения на генетическом уровне не отразились на активности ферментов в

эндоспермах, частоте морфологических аномалий и репродуктивной способности сосны. К сожалению, знания об эффектах действия излучения на молекулы, клетки и отдельные растения не могут быть непосредственно экстраполированы на популяции и экосистемы, поскольку на высших уровнях биологической организации в ответную реакцию на облучение вовлекаются все более сложные биологические и экологические механизмы [29].

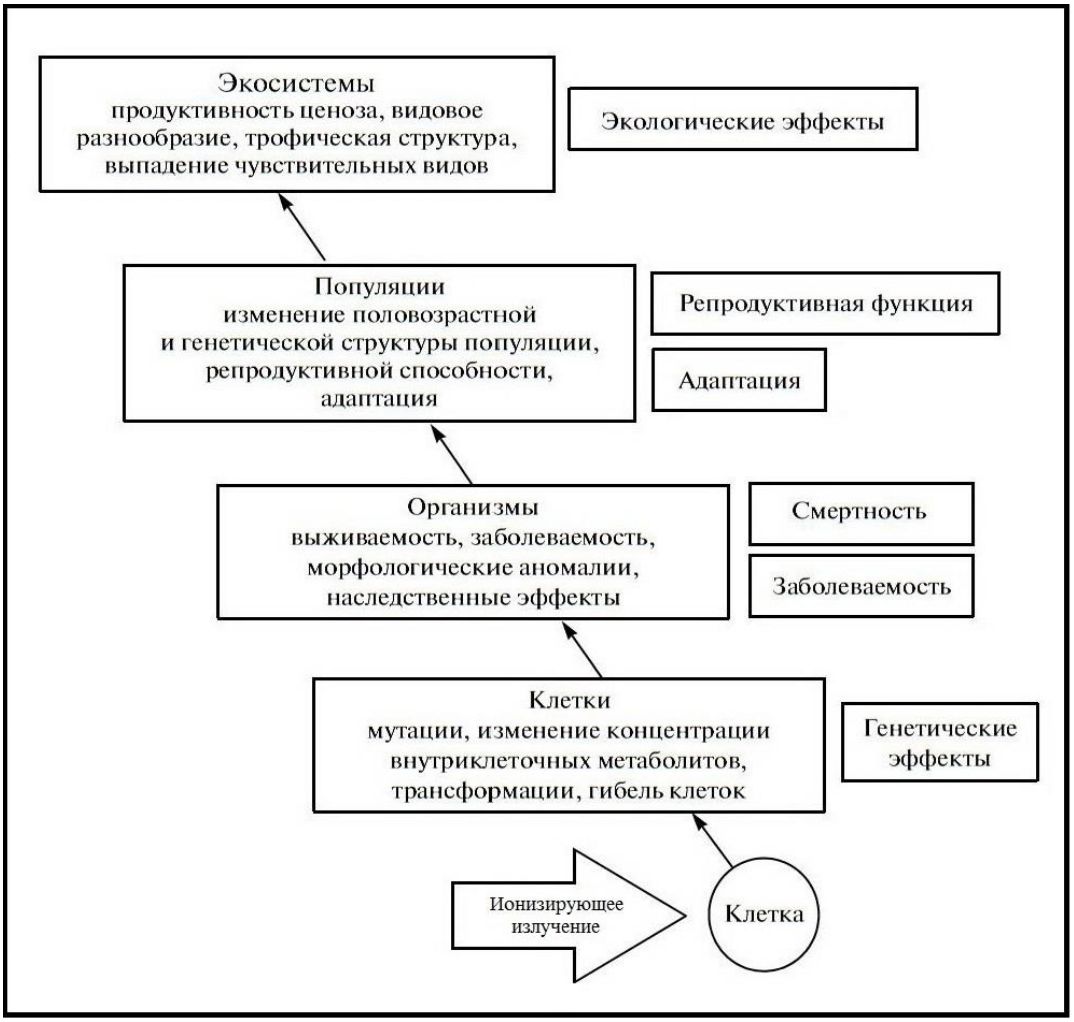


Рисунок 5. Эффекты облучения на разных уровнях биологической организации

Из представленных данных следует, что ионизирующее излучение способно изменять практически все стороны жизни растения: состояние ДНК и хроматина, генную экспрессию, состояние антиоксидантной системы, базовые физиологические процессы и морфологические параметры. Выживаемость отдельных растений, их популяций и сообществ базируется на жизненной стратегии, которая хотя и не предполагает индивидуальной мобильности, использует динамические процессы на разных уровнях биологической организации, которые часто характеризуются высоким уровнем избыточности [30]. В целом, повышенная устойчивость растений к действию ионизирующего излучения по сравнению с животными связана с более эффективной системой антиоксидантной защиты, систем репарации ДР ДНК, регулярным формированием новых репродуктивных структур, в отличие от зародышевой линии животных, что позволяет ограничить эффект вредных мутаций, и значительной избыточностью производства семян. Перечисленные закономерности имеют универсальный характер и во многом определяют направление и дальнейшее развитие не только физиологических, но и

патологических процессов, а также открывают принципиальную возможность прогнозирования реакций растений на внешнее воздействие.

Литература

1. *Gudkov S.V., Grinberg M.A., Sukhov V., Vodeneev V.* Effect of ionizing radiation on physiological and molecular processes in plants // J. Environmental Radioactivity. 2019. V. 202. P. 8–24.

2. *Ярмоненко С.П., Вайнсон А.А.* Радиобиология человека и животных. М.: Высшая школа, 2004. 549 с.

3. *Гераськин С.А.* Критический анализ современных концепций и подходов к оценке биологического действия малых доз ионизирующего излучения. Радиационная биология. Радиоэкология // 1995. Т. 35. С. 563–571.

4. *Calabrese E.J., Blain R.B.* Hormesis and plant biology // Environmental Pollution. 2009. V. 157. P. 42–48.

5. *Гераськин С.А.* Концепция биологического действия малых доз ионизирующего излучения на клетки // Радиационная биология. Радиоэкология. 1995. Т. 35. С. 571–580.

6. *Кудряшов Ю.Б.* Радиационная биофизика (ионизирующие излучения). М.: Физматлит, 2004. 448 с.

7. *Choudhury F.K., Rivero R.M., Blumwald E., Mittler R.* Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination // The Plant J. 2017. V. 90. P. 856–867.

8. *Caplin N., Willey N.* Ionizing radiation, higher plants, and radioprotection: from acute high doses to chronic low doses // Frontiers Plant Science. 2018. V. 9, 847.

9. *Qi W., Zhang L., Feng W. et al.* ROS and ABA signaling are involved in the growth stimulation induced by low-dose gamma irradiation in Arabidopsis seedling // Appl. Biochem. Biotechnol. 2015. V. 175. P. 1490–1506.

10. *Wang T., Li F., Xu S. et al.* The time course of longdistance signaling in radiation-induced bystander effect *in vivo* in *Arabidopsis thaliana* demonstrated using root micro-grafting // Radiation Research. 2011. V. 176 P. 234–243.

11. *Walbot V.* Sources and consequences of phenotypic and genotypic plasticity in flowering plants // Trends Plant Science. 1996. V. 1. P. 27–32.

12. *Битаришвили С.В., Волкова П.Ю., Гераськин С.А.* Влияние γ-облучения семян на фитогормональный статус проростков ячменя // Физиология растений. 2018. Т. 65. № 3. С. 223-231.

13. *Битаришвили С.В., Бондаренко В.С., Гераськин С.А.* Экспрессия генов метаболизма фитогормонов в проростках γ-облученных семян ячменя // Актуальные вопросы сельскохозяйственной радиобиологии: Труды ФГБНУ ВНИИРАЭ. Выпуск 2 / Под ред. проф. С.А. Гераськина. Обнинск: ФГБНУ ВНИИРАЭ, 2019. С. 51-56.

14. *Гродзинский Д.М.* Радиобиология растений. Киев: Наукова думка, 1989. 384 с.

15. *Михеев А.Н.* Модификация онтогенетической адаптации. Киев: Фитосоциоцентр, 2018. 396 с.

16. *Geras'kin S., Vasiliyev D., Makarenko E. et al.* Influence of long-term chronic exposure and weather conditions on Scots pine populations // Environmental Science and Pollution Research. 2017. V. 24. P. 11240–11253.

17. *Geras'kin S., Oudalova A., Kuzmenkov A., Vasiliyev D.* Chronic radiation exposure modifies temporal dynamics of cytogenetic but not reproductive indicators in Scots pine populations // Environmental Pollution. 2018. V. 239. P. 399–407.

18. *Pozolotina V.N., Antonova E.V.* Temporal variability of the quality of *Taraxacum officinale* seed progeny from the East-Ural Radioactive Trace: is there an interaction between low level radiation and weather conditions? // International J. Radiation Biology. 2016. V. 93. P. 330–339.

19. *Yokota Y., Shikazono N., Tanaka A. et al.* Comparative radiation tolerance based on the induction of DNA double-strand breaks in tobacco BY-2 cells and CHO-K1 cells irradiated with gamma rays // Radiation Research. 2005. V. 163. P. 520–525.

20. *Weimer A.K., Biedermann S., Harashima H. et al.* The plant-specific CDKB1-CYCB1 complex mediates homologous recombination repair in Arabidopsis // EMBO J. 2016. V. 35. P. 2068–2086.

21. *Kovalchuk I., Molinier J., Yao Y., Arkhipov A., Kovalchuk O.* Transcriptome analysis reveals fundamental differences in plant response to acute and chronic exposure to ionizing radiation // Mutation Research. 2007. V. 624. P. 101–113.

22. *Duarte G., Volkova P., Geras'kin S.* The response profile to chronic radiation exposure based on the transcriptome analysis of Scots pine from the Chernobyl affected zone // Environmental Pollution. 2019. V. 250. P. 618–626.

23. *Сарапульцев Б.И., Гераськин С.А.* Генетические основы радиорезистентности и эволюция. М.: Энергоатомиздат, 1993. 208 с.

24. *Sparrow A.H., Rogers A.F., Schwemmer S.S.* Radiosensitivity studies with woody plants. I. Acute gamma irradiation survival data for 28 species and predictions for 190 species // Radiation Botany. 1968. V. 8. P. 149–186.

25. *Козьмин Г.В., Гераськин С.А., Санжарова Н.И. (ред.)* Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности. Обнинск: ВНИИРАЭ, 2015. 400 с.

26. *Woodwell G.M.* Radiation and the patterns of nature // Science. 1967. V. 156. P. 461–470.

27. *Гераськин С.А., Фесенко С.В.* Действие аварийных выбросов Чернобыльской АЭС на биоту / В кн.: Радиоэкологические последствия аварии на Чернобыльской АЭС: биологические эффекты, миграция, реабилитация загрязненных территорий. М.: РАН, 2018. С. 60–90.

28. *Гераськин С.А., Волкова П.Ю., Удалова А.А и др.* Эффекты хронического облучения в популяциях растений на примере референтного организма «сосна обыкновенная». [Обзор] // Радиация и риск. 2018. Т. 27. № 4. С. 95–118.

29. *Geras'kin S.A.* Ecological effects of exposure to enhanced levels of ionizing radiation // J. Environmental Radioactivity. 2016. V. 162–163. P. 347–357.

30. *Walck J.L., Hidayati S.N., Dixon K.W. et al.* Climate change and plant regeneration from seed // Global Change Biology. 2011. V. 17. P. 2145–2161.

Анализ митотической активности в корневой меристеме проростков γ-облучённых семян ячменя

Волкова П.Ю., Чурюкин Р.С., Казакова Е.А., Битаришвили С.В., Перькова А.В., Макаренко Е.С., Лыченкова М.А., Чиж Т.В.

ФГБНУ ВНИИ радиологии и агроэкологии

Проведён анализ морфологических показателей проростков и митотического индекса в корневой меристеме растений ячменя сорта Нур первой репродукции после γ-облучения семян в дозах 20 и 100 Гр. Показано, что незначительный стимулирующий эффект по показателю длины корня наблюдается только к седьмому дню прорастания семян, тогда как в предшествующие дни прорастания значения морфологических параметров ниже контрольных или схожи с ними. Выявлено, что изменения митотического индекса, по-видимому, не вносят существенный вклад в наблюдаемое увеличение длины и массы проростков, которое скорее связано с увеличением интенсивности роста клеток растяжением.

Предпосевное облучение, малые дозы, ячмень обыкновенный, пролиферация, морфологические изменения, митотический индекс

Известно, что облучение семян сельскохозяйственных культур малыми дозами ионизирующего излучения может повышать всхожесть семян, стимулировать рост и развитие растений, улучшать качественные и количественные характеристики урожая, а также увеличивать сопротивляемость растений неблагоприятным условиям среды [1–6]. Явление радиационной стимуляции можно рассматривать в качестве ответной реакции растений на воздействие стрессовых факторов низкой интенсивности. Изменения продолжительности фаз клеточного цикла и митотической активности тканей считаются важными этапами формирования ответной реакции растения на действие стрессовых факторов различного генеза.

При изучении пролиферации клеток растений, выросших из облучённых семян, часто наблюдаются разнонаправленные эффекты. Так, в ряде работ показано усиление активности деления клеток [7–10], другие работы при схожих дозах демонстрируют ингибирование митотической активности клеток [11–14].

Ранее проведённые в нашей лаборатории исследования [15, 16] на двух сортах ячменя показали, что максимальное увеличение размеров корня и побега наблюдается при облучении семян ячменя дозой 20 Гр при мощности дозы 60 Гр/ч, при этом дозы от 50 Гр и выше угнетают морфологические показатели проростков в лабораторных условиях. Было показано, что в формировании стимулирующего эффекта, по-видимому, вовлечены ферменты разных метаболических путей и антиоксидантной системы [16, 17], а также что облучение семян в стимулирующих дозах существенно изменяет баланс фитогормонов в тканях проростков [18], в том числе ауксинов, влияющих на рост клеток растяжением. Таким образом, изучение митотического индекса в корневой меристеме проростков облучённых семян ячменя может предоставить новую информацию о биологических механизмах возникновения эффекта стимуляции и о роли клеточной пролиферации в формировании этого эффекта.

Материалы и методика

Объект исследования. В качестве объекта исследования был выбран яровой ячмень (*Hordeum vulgare* L.), являющийся важной сельскохозяйственной культурой и хорошо изученным биологическим объектом. В работе использовали семена сорта Нур первой репродукции (2016 г.). Семена были получены в Калужском НИИ сельского хозяйства.

Облучение семян. Облучение семян проводили на установке ГУР-120 (^{60}Co) (ФГБНУ ВНИИРАЭ, Обнинск). Дозу излучения измеряли с помощью дозиметра ДКС-101

(Россия). Мощность дозы регулировали расстоянием от источника излучения. Для исследования использовали дозы 20 Гр (стимулирующая в предыдущих исследованиях) и 100 Гр (ингибирующая) при мощности дозы 60 Гр/ч. Контролем служили необлучённые семена ячменя.

Проращивание семян. Облучённые и контрольные семена стерилизовали в 5 %-ном растворе гипохлорита натрия и проращивали в рулонах фильтровальной бумаги с полиэтиленовой плёнкой, как было описано ранее [15]. Рулон с семенами заворачивали, ставили в пластиковый лабораторный стакан с дистиллированной водой (200 мл) и помещали в инкубатор (MIR-254, Sanyo, Япония), поддерживающий температуру 20 °C. Семена проращивали в темноте.

Оценка морфофизиологических параметров. Все эксперименты проводили в трёх репликациях (8 рулонов на репликацию эксперимента), используя по 2 рулона по 100 семян на одну дозу каждый день. Используя линейку, на 4-е–7е сутки проводили измерения длины побега и корня. При помощи аналитических весов (Ohaus Adventure Pro, США) на 5-е–7-е сутки проводили измерения массы побегов и корней проростков ячменя с пересчётом на 100 растений. В трёх репликациях эксперимента в сумме использовали 7200 семян ячменя.

Определение митотического индекса (МИ). МИ в корневой меристеме проростков определяли на 2-й–5-й дни прорастания по общепринятой методике [19]. Отбор и фиксацию корешков для приготовления препаратов проводили строго с 8.00 до 8.30 утра, чтобы учесть суточную динамику митозов в корневой меристеме [20]. Для каждой дозы из 5-и случайных рулонов в случайном порядке отбирали 20 проросших семян (4 семени из одного рулона), затем кончики зародышевых корешков фиксировали в ацетоалкоголе (3 части ледяной уксусной кислоты и 1 часть этанола) и хранили в холодильнике. За день до приготовления давленых препаратов корешки переносили в ацетоорсеин для мацерации и окрашивания. Для приготовления давленого препарата брали 2 корешка длиной 2–3 мм, которые помещали в каплю ацетоорсеина на предметном стекле и накрывали покровным стеклом. Далее препарат разбивали с помощью пинцета и кратковременно нагревали над спиртовой горелкой. Для каждого дня эксперимента и для каждой дозы в среднем готовили 10 давленых препаратов.

Подсчёт клеток в разных фазах митотического цикла проводили с помощью микроскопа Nikon Eclipse i30 (Япония) с цифровым окуляром Altami (UCMOS14000KPA) и ПО Altami Studio, делая фотосъёмку 10–15 полей зрения. Для анализа фотографий использовали программное обеспечение ImageJ, плагин Cell Counter. Всего было проанализировано 344 давленых препарата. Митотический индекс определяли в процентах по соотношению числа клеток, находящихся в митозе (рис. 1), к общему числу учтённых клеток в исследуемой ткани.

Статистический анализ данных. Экспериментальные данные анализировали с использованием программных пакетов MS Excel и STATISTICA. При расчёте морфологических показателей использовали средние значения длины, массы корней и побегов в рулоне, затем данные по 6-ти рулонам усредняли и для оценки значимости различий от контроля использовали критерий Манна-Уитни. Средние значения митотического индекса, полученные в каждой из трёх независимых репликаций эксперимента, усредняли и сравнивали между собой. Данные приведены в виде «среднее значение ± стандартная ошибка среднего».

Результаты

Оценка морфологических параметров. При оценке длины корней во всех трёх репликациях эксперимента наблюдали схожий тренд (рис. 2А) – при облучении в стимулирующей дозе в ранние дни прорастания наблюдали ингибирование длины корня, затем размеры корней догоняли контрольные, и на седьмой день незначительно превышали контрольные значения. Похожие результаты были получены и для длины побегов, которая к 7-му дню прорастания имела схожие с контролем значения (рис. 2Б). При этом облучение в дозе 100 Гр ингибировало рост как корней, так и побегов во все дни прорастания, причём ингибирование было

более выражено на 6-й–7-й дни прорастания.

Несмотря на изменения длин корней и побегов при облучении в дозе 20 Гр, их масса во все дни прорастания практически не отличалась от контрольной (рис. 3). При этом масса корней и побегов, выросших из семян, облучённых в дозе 100 Гр, во все дни прорастания была значимо ниже контрольных значений.

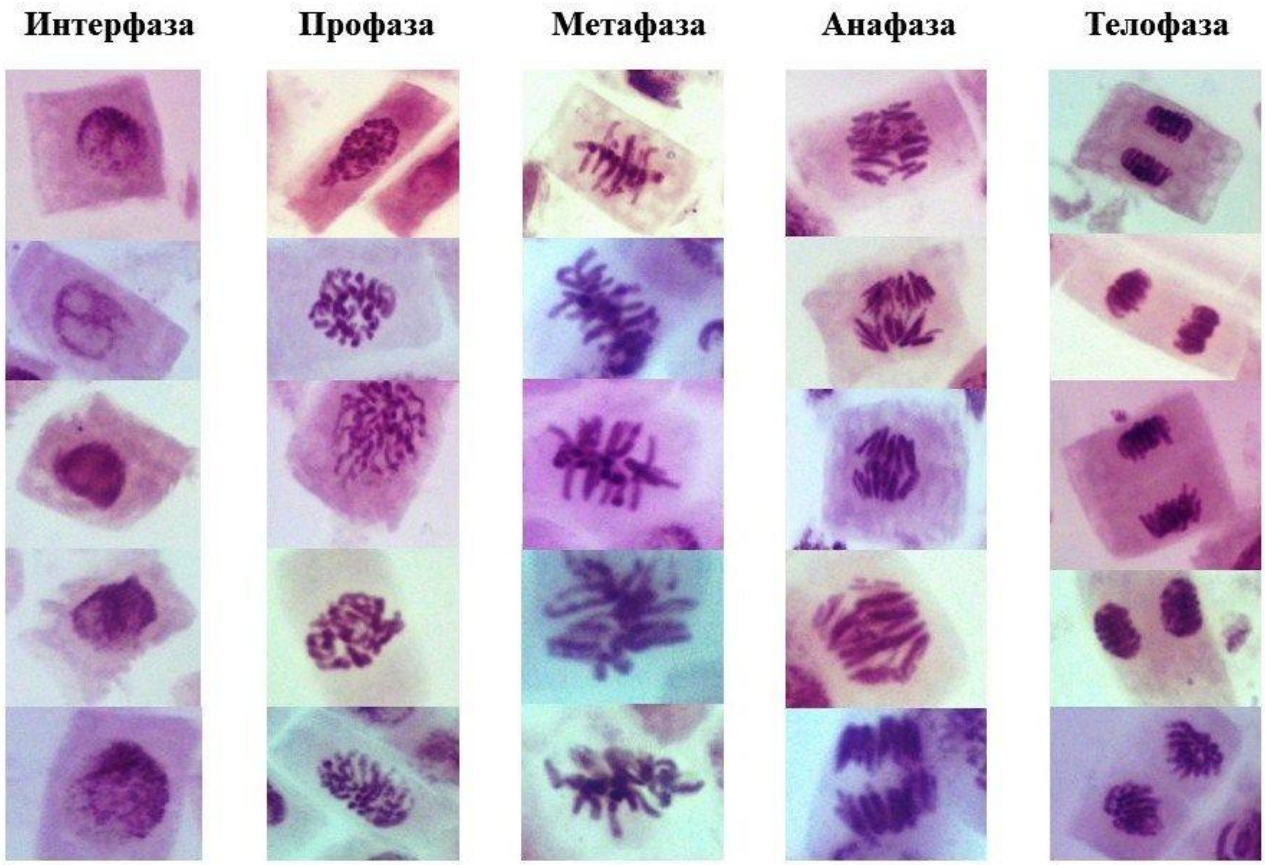


Рисунок 1. Примеры фотографий интерфазы и основных фаз митотического цикла, учитываемых в эксперименте

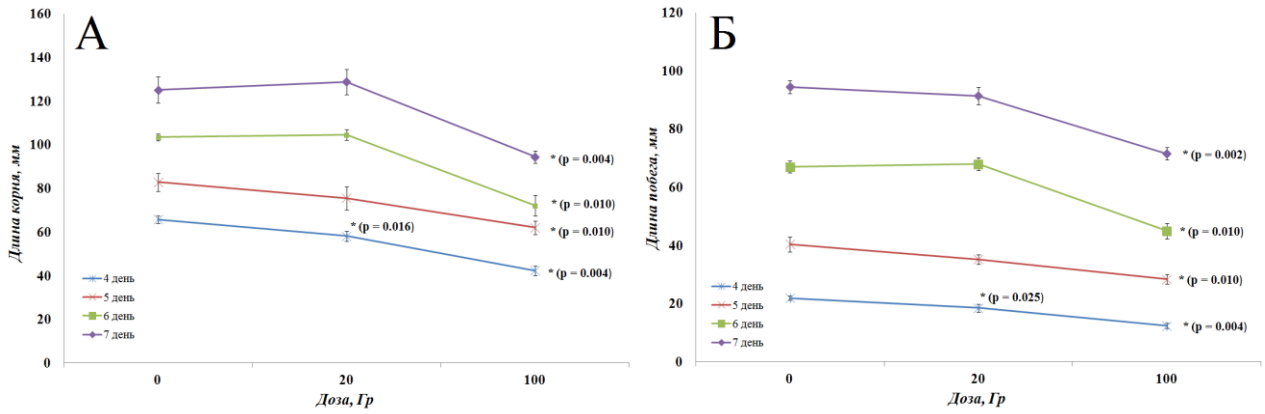


Рисунок 2. Изменения длины корней (**А**) и побегов (**Б**) проростков контрольных и облучённых семян ячменя в зависимости от дозы и дня прорастания

** – значимые отличия от контроля, U-тест Манна-Уитни. В скобках приведены значения p-value*

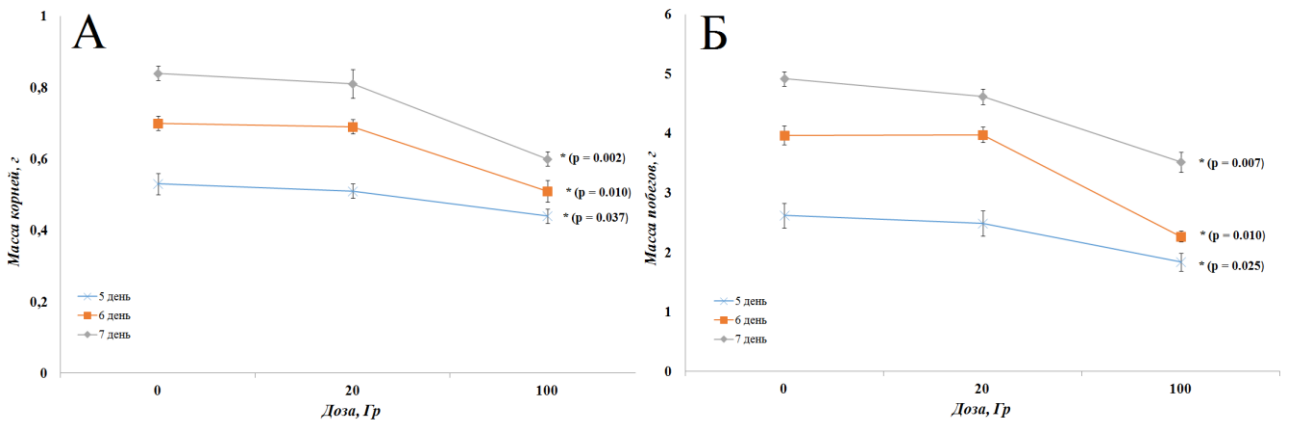


Рисунок 3. Изменения массы корней (**А**) и побегов (**Б**) проростков контрольных и облучённых семян ячменя в зависимости от дозы и дня прорастания

** - значимые отличия от контроля, U-тест Манна-Уитни. В скобках приведены значения p-value*

Анализ митотического индекса. В ходе работы были проанализированы 5400 фотографий микропрепаратов, что составило свыше 355 000 клеток. Результаты исследования представлены в таблице 1.

Митотический индекс значительно варьирует между репликациями эксперимента, что обусловливает относительно большие значения стандартных ошибок среднего. При этом значимых отличий от контроля выявить не удалось, хотя на вторые и третьи сутки прорастания средние значения митотического индекса в корневой меристеме проростков облучённых семян превышают таковые для контрольных образцов.

Таблица 1

Значения митотического индекса в корневой меристеме проростков облучённых семян ячменя в разные дни прорастания.

Доза	МИ, %			
	2 сутки	3 сутки	4 сутки	5 сутки
Контроль	16.82 ± 3.64	12.47 ± 2.33	17.3 ± 1.61	23.12 ± 1.07
20 Гр	20.44 ± 5.17	16.56 ± 6.31	16.44 ± 1.7	17.12 ± 5.21
100 Гр	22.65 ± 5.07	14.52 ± 3.03	12.98 ± 6.19	16.16 ± 4.05

Обсуждение

Принимая во внимание приведённые в данной работе и ранее полученные данные о стимуляции роста проростков ячменя сорта Нур первой репродукции дозой γ-излучения 20 Гр, можно сделать вывод о том, что при облучении семян данного сорта, по-видимому, пролиферация клеток корневой меристемы не вносит определяющего вклада в увеличение длины растений. Мы предполагаем, что стимулирующий эффект может быть в большей степени связан с усилением роста клеток растяжением. В пользу этой гипотезы говорят полученные ранее данные [18], показавшие, что при облучении семян ячменя сорта Нур первой репродукции стимулирующими дозами увеличиваются концентрации фитогормонов из группы ауксинов, которые отвечают за рост клеток растяжением, так называемый кислый рост [21]. При кислом росте происходит растяжение клеточных стенок за счёт стимуляции ауксинами работы мембранных H^+-АТФаз, что приводит к закислению пространства между плазмалеммой и клеточной стенкой. Под действием кислой среды активируются белки-экспансины, которые разрушают водородные связи между целлюлозными микрофибриллами, что позволяет клетке расширяться под действием тургорного давления [22].

Остаётся открытым вопрос о выраженном ингибировании морфологических показателей проростков после облучения семян в дозе 100 Гр при относительно постоянных показателях митотической активности в корневой меристеме проростков. Вероятно, подобный эффект может быть связан с увеличением частоты хромосомных аномалий в клетках меристемы, однако в рамках нашей работы подобная оценка не проводилась. Выполненный в рамках отдельной работы анализ транскриптома зародышей облучённых семян ячменя в целом тоже свидетельствует о том, что усиление пролиферации клеток не является определяющим фактором при возникновении эффекта стимуляции.

Литература

1. *Гудков И.Н.* Основы общей и сельскохозяйственной радиобиологии. Киев: УСХА, 1991. 328 с.

2. *Jan S. et al.* Effect of gamma radiation on morphological, biochemical, and physiological aspects of plants and plant products // Environmental Reviews. 2012. V. 20. P. 17–39.

3. Calabrese E.J., Blain R.B. Hormesis and plant biology // Environmental Pollution. 2009. V. 157. P. 42–48.

4. *Mattson M.P., Calabrese E.J.* Hormesis: a revolution in biology, toxicology and medicine. NY: Humana Press, 2010. 213 p.

5. *Tang F.R., Loke W.K.* Molecular mechanisms of low ionizing radiation-induced hormesis, adaptive responses, radioresistance, bystander effects, and genomic instability // International Journal of Radiation Biology. 2015. V. 91. Is. 1. P. 13–27.

6. *Araujo S.S. et al.* Physical methods for seed invigoration: advantages and challenges in seed technology // Frontiers in Plant Science. 2016. V. 7. Article 646.

7. *Okamoto H., Tatara A.* Effect of low dose γ-irradiation on the cell cycle duration of barley roots // Environmental and Experimental Botany. 1995. V. 35. Is. 3. P. 379–388.

8. *den Boer B.G., Murray J.A.* Triggering the cell cycle in plants // Trends in Cell Biology. 2000. V. 10. P. 245–250.

9. *Гудков И.Н.* Сокращение продолжительности клеточного цикла растений при радиационном гормезисе // Физиология и биохимия культурных растений. 1993. Т. 25. № 3. С. 267–273.

10. *Гудков И.Н.* Радиационная стимуляция растений // Мат-лы межд. научно-практич. конф. «Микроэлементы и регуляторы роста в питании растений: теоретические и практические аспекты». Ульяновск, 2014. С. 27–29.

11. *Савин В.Н.* Действие ионизирующего излучения на целостный растительный организм. М.: Энергоиздат, 1981. 120 с.

12. *Kumar G., Keserwani S.* Germination and cytological aspects of *Dolichos lablab* L. exposed to gamma radiation // Chromosome Botany. 2017. V. 12. Is. 3. P. 63–71.

13. *Kumbhakar D.V. et al.* Comparative assessment of some physiological and cytological attributes following gamma irradiation exposure to dry and dry irradiated stored seeds of *Nigella sativa* L. (black cumin) // Nucleus. 2017. V. 60. P. 51–55.

14. *Eroglu Y., Eroglu H.E., Ilbas A.I.* Gamma Ray Reduces Mitotic Index in Embryonic Roots of *Hordeum vulgare* L. // Advances in Biological Research. 2007. V. 1. Is. 1–2. P. 26-28.

15. *Гераськин С.А., Чурюкин Р.С., Казакова Е.А.* Модификация γ-облучением семян развития растений ячменя на ранних этапах онтогенеза // Радиационная биология. Радиоэкология. 2015. Т. 55. № 6. С. 607–615.

16. *Geras'kin S.A., Churyukin R.S., Volkova P.Yu.* Radiation exposure of barley seeds can modify the early stages of plants' development // Journal of Environmental Radioactivity. 2017. V. 171. P. 71–83.

17. *Волкова П.Ю., Чурюкин Р.С., Гераськин С.А.* Влияние γ-облучения семян на активность ферментов в проростках ячменя // Радиационная биология. Радиоэкология. 2016. Т. 56. № 2. С. 190–196.

18. *Битаришвили С.В., Волкова П.Ю., Гераськин С.А.* Влияние гамма-облучения семян ячменя на содержание фитогормонов в динамике прорастания // Физиология растений. 2018. Т. 65. № 3. С. 223–232.

19. *Паушева З.П.* Практикум по цитологии растений. М.: Агропромиздат, 1988. 271 с.

20. *Уткина И.А., Синягина И.М.* Суточная динамика митозов в корневой меристеме ячменя / Материалы по экологии и физиологии растений уральской флоры / МВ и ССО РСФСР, Урал. гос. ун-т им. А.М. Горького. Свердловск: УрГу, 1976. С. 42–50.

21. Rayle D.L., Cleland R.E. The acid growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. Plant Physiology. 1992. V. 99. P. 1271–1274.

22. *Лутова Л.А. и др.* Генетика развития растений. Спб.: Наука, 2010. 539 с.

Экспрессия генов метаболизма фитогормонов в проростках γ-облученных семян ячменя

Битаришвили С.В., Бондаренко В.С., Гераськин С.А.

ФГБНУ ВНИИ радиологии и агроэкологии

Изучено влияние γ-облучения семян ячменя сорта Нур в дозах 4–50 Гр на экспрессию генов метаболизма гиббереллинов (*HvGA3ox2, HvGA2ox3)* и абсцизовой кислоты (АБК) (*HvNCED1, HvABA8'OH-1)* в зародышах семян ячменя в динамике первых 30 часов прорастания. Показано, что изменения экспрессии генов метаболизма фитогормонов в диапазоне стимулирующих доз могут привести к увеличению содержания гиббереллинов и снижению содержания АБК, тем самым обусловив увеличение потенциала прорастания семян.

Ячмень, γ-излучение, гиббереллины, АБК, HvGA3ox2, HvGA2ox3, HvNCED1, HvABA8'OH-1, ОТ-ПЦР в реальном времени, экспрессия генов

Процесс прорастания семян является критическим этапом в жизни растения, при котором изменения окружающей среды, в первую очередь поступление воды, приводят к активации эмбриона. Помимо внешних факторов, важную роль играют эндогенные сигналы – фитогормоны, которые регулируют все процессы жизнедеятельности растений, включая адаптивные реакции. Прорастание находится под контролем антагонистического взаимодействия гиббереллинов и абсцизовой кислоты. Гиббереллины инициируют выход семян из состояния покоя и переход к прорастанию [1], вызывая синтез α-амилазы в алейроновом слое, что ведет к гидролизу крахмала эндосперма и обеспечению зародыша питательными веществами [2]. АБК поддерживает покой семян и ингибирует их прорастание [3]. Помимо этого, АБК играет ключевую роль в процессах адаптации к различным биотическим и абиотическим стрессам [4].

Неблагоприятные условия могут угнетать прорастание, снижать жизнеспособность проростков и негативно сказываться на морфологических показателях [5]. Однако низкие дозы стрессоров могут запускать адаптивные реакции, в результате которых происходит усиление восстановительных процессов и сверхактивация метаболизма, что приводит к интенсификации роста и развития растений. В начале прошлого века было установлено, что ионизирующие излучения (ИИ) в малых дозах могут ускорять рост и развитие растений, стимулировать прорастание семян [6]. В нашей предыдущей работе [7] было показано, что облучение семян ячменя дозами 4–20 Гр приводит к накоплению в проростках фитогормонов-стимуляторов роста и снижению содержания ингибитора – АБК, применение ингибирующей дозы 50 Гр – к противоположному эффекту.

Эндогенное содержание фитогормонов определяется балансом их биосинтеза и катаболизма. Целью настоящей работы явился анализ экспрессии генов метаболизма гиббереллинов и АБК в зародышах семян ячменя в течение первых 30 часов прорастания после γ-облучения.

Материалы и методика

Растительный материал

В качестве объекта исследования был использован ячмень (*Hordeum vulgare* L.) сорта Нур первой репродукции. Семена влажностью 13–15 % облучали в дозах 4, 10, 16, 20 и 50 Гр при мощности дозы 60 Гр/ч на установке «ГУР-120» (ВНИИРАЭ, Обнинск), источником излучения служил ^{60}Co. Дозу излучения измеряли с помощью дозиметра ДКС-101 (Политехформ-М, Россия). В качестве контроля использовали необлученные семена. Семена проращивали в рулонах из фильтровальной бумаги согласно ГОСТ 12038-84 [8]. Рулоны помещали в стаканы с дистиллированной водой и ставили в термостат MIR-254 (Sanyo, Япония) при температуре 20 °C ± 0,5 °C.

Экстракция РНК

Для каждого измерения из 20 семян в трех биологических повторностях извлекали зародыши, используя скальпель и препаровальную иглу, и фиксировали в жидком азоте до экстракции. Зародыши гомогенизировали до порошкообразной фракции в жидком азоте. Выделение РНК осуществляли при помощи набора NucleoSpinTriPrep фирмы Macherey-Nagel согласно протоколу производителя. Синтез кДНК на матрице РНК осуществляли при помощи набора реактивов MMLV RT kit фирмы Евроген. Концентрацию нуклеиновых кислот измеряли на спектрофотометре NanoDrop и флуориметром Qubit 2.0 с использованием наборов реактивов фирмы Invitrogen согласно протоколу производителя.

ПЦР в реальном времени

Генами интереса в данной работе выступали гены, кодирующие ферменты биосинтеза АБК 9-цис-эпоксидкаратиноид-диоксигеназу (*HvNCED1)* и катаболизма АБК-8'-гидроксилазу (*HvABA8'OH-1)*, биосинтеза гиббереллинов GA3-оксидазу *(HvGA3ox2)* и катаболизма гиббереллинов GA2-оксидазу (*HvGA2ox3)*.

В качестве референтного гена был выбран ген *18SrRNA*, кодирующий 18S-субъединицу рРНК. У ячменя данный ген входит в число наиболее стабильных генов домашнего хозяйства в условиях биотических и абиотических стрессов и рекомендуется к использованию в качестве референтного при исследовании транскрипционной активности [9]. В качестве праймеров использовали последовательности, приведенные в таблице 1.

Таблица 1

Олигонуклеотидные последовательности, используемые для анализа экспрессии генов

Ген	Праймер F	Праймер R	Источник
18SrRNA	GTGACGGGTGACGGAGAATT	GACACTAATGCGCCCGGTAT	[9]
HvGa3ox2	TGGTAGCTTAGCTGAGGTAGCTAGGA	TTGGCTAGCTGCAGATGTAGAAC	[10]
HvGa2ox3	GAGAGCAGAGCCTGTACAAG	TGGCTACCTGTGGAAGTGAG	
HvNCED1	CCAGCACTAATCGATTCC	GAGAGTGGTGATGAGTAA	[11]
HvABA8'OH-1	AGCACGGACCGTCAAAGTC	TGAGAATGCCTACGTAGT	

Для определения уровня транскрипционной активности генов использовали метод ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени на амплификаторе ДТ-96 (ДНК-Технология). Реакционные смеси готовили на основе набора реактивов HS TaqDNA Polymerase dNTP mix (Евроген). Для детекции накопления продуктов ПЦР в режиме реального времени использовали флюоресцирующий краситель SYBR Green I фирмы Lumiprobe.

Реакции проводили в объёме 20 мкл с первичной денатурацией в течение 10 мин при 95 °С, затем 50 циклов с тремя температурными полками: 94 °С 20 с, 60 °С 20 с, 72 °С 20 с. Детекцию накопления продуктов амплификации проводили автоматически на стадии отжига праймеров (60 °С) каждого цикла.

Все реакции проводили в трёх повторах (триплетах) для каждой матрицы кДНК. В случае, если значения Ct в триплете различались на 0.5 и более, результаты по данному триплету признавали недействительными и реакцию для данной матрицы проводили повторно. Пороговая линия выставлялась автоматически в среде специализированного программного обеспечения фирмы ДНК-Технология. После получения для каждой матрицы значений Ct по референтному гену и Ct по исследуемому гену вычисляли значение ΔCt по формуле:

$$Ct_{реф} - Ct_{ген} = \Delta Ct,$$

где $Ct_{реф}$ – значение для референсного гена, $Ct_{ген}$ - значение для исследуемого гена. Перевод полученных значений в условные единицы транскрипционной активности проводили по методике [12]. Уровень транскрипционной активности = $2^{-\Delta Ct}$.

Статистическая обработка данных.

Анализ экспериментальных данных проводили методами непараметрической статистики. Статистическую значимость отличий оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни. Влияние облучения на изменения транскрипционной активности генов оценивали с помощью критерия Краскела-Уоллиса.

Результаты

Обнаружены изменения транскрипционной активности исследуемых генов в зародышах облученных семян на всех этапах прорастания (6–30 ч) и даже в воздушно-сухих семенах. Эффекты в генах синтеза и катаболизма имели разную направленность, значения в некоторых случаях отличались на порядок. Для улучшения интерпретации данных были проанализированы соотношения транскрипционных активностей генов катаболизма и синтеза гиббереллинов *HvGa3ox2/HvGa2ox3* и АБК *HvABA8'OH-1/HvNCED1*.

Результаты показали, что облучение в дозе 20 Гр после 18 часов прорастания сдвигает соотношение в сторону гена *HvGa3ox2* (рис. 1), что подразумевает преобладание синтеза гиббереллинов над катаболизмом, и, как следствие, стимуляцию прорастания. Также можно отметить, что облучение в ингибирующей рост дозе 50 Гр не приводит к активации катаболических процессов, даже наоборот, после 24 и 30 часов транскрипционная активность гена синтеза была выше, чем транскрипционная активность гена катаболизма.

Соотношение транскрипционной активности генов метаболизма АБК *HvABA8'OH-1/HvNCED1* (рис. 2) указывает на преобладание процесса катаболизма АБК над биосинтезом, и, соответственно, на снижение концентраций АБК при облучении в дозе 20 Гр в период 6–18-й час прорастания. Особенно ярко это выражено на 18-й час прорастания, где отмечается пиковое значение, превышающее контрольное в 3 раза.

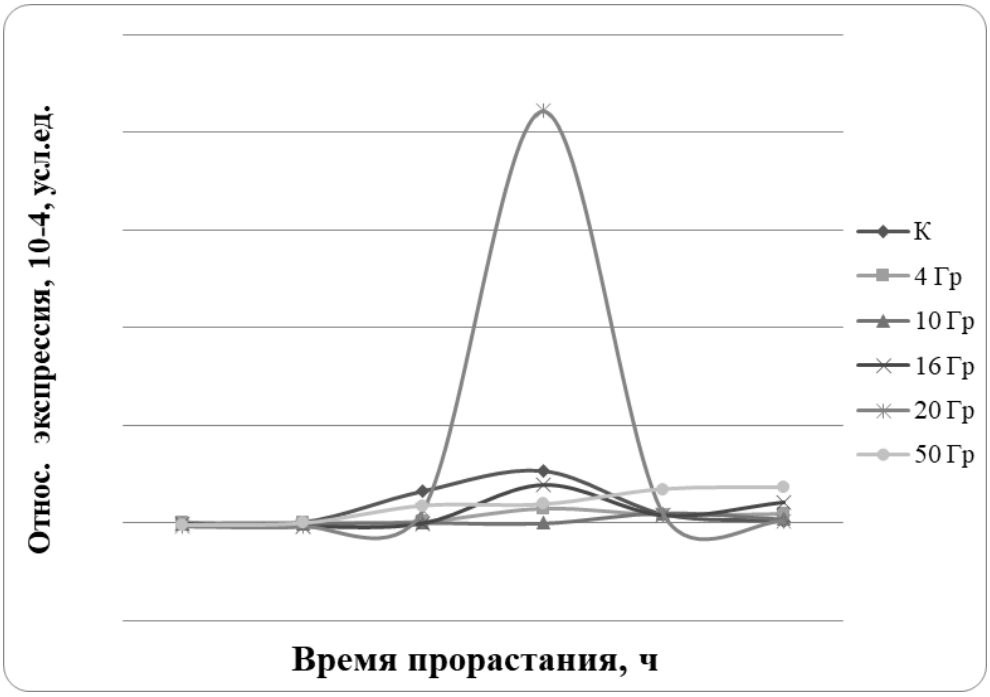


Рисунок 1. Соотношение транскрипционной активности генов *HvGa3ox2/HvGa2ox3* в зависимости от дозы облучения и времени прорастания

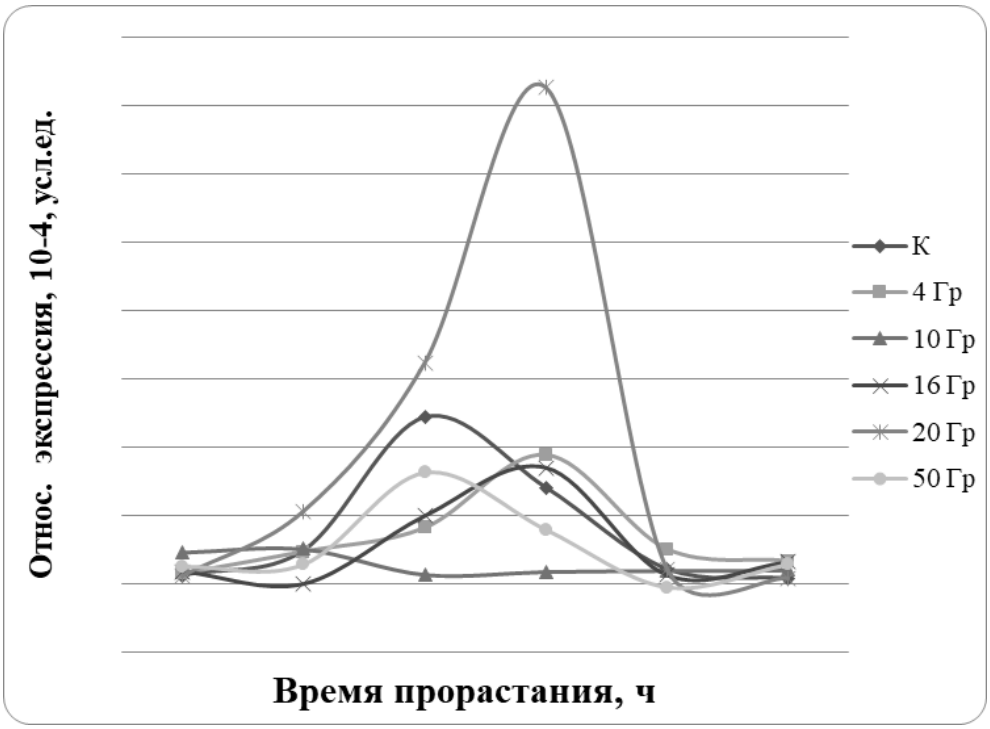


Рисунок 2. Соотношение транскрипционной активности генов *HvABA8'OH-1/HvNCED1* в зависимости от дозы облучения и времени прорастания

Для определения вклада облучения в изменение транскрипционной активности генов на каждом этапе прорастания был использован критерий Краскела-Уоллеса (межгрупповые различия статистически значимы при $p < 0.05$) (табл. 2). Расчеты показали, что облучение вносит вклад в изменение транскрипционной активности генов на всех этапах прорастания за исключением 24 часов и 12 часов для гена *HvGa2ox3*.

Таблица 2

Оценка вклада облучения в изменение транскрипционной активности генов в пределах одного этапа прорастания семян

Ген	Критерий Краскела-Уоллиса, *p*-value					
	0	6	12	18	24	30
HvGa3ox2	0.007	0.039	0.054	0.0003	*0.247*	0.0002
HvGa2ox3	0.001	0.009	*0.097*	0.0001	*0.127*	0.012
HvNCED1	0.054	0.017	0.0003	0.0004	0.0001	0.007
HvABA8'OH-1	0.020	0.054	0.007	0.001	*0.156*	0.007

Курсивом выделены статистические незначимые отличия ($p > 0.05$).

Обсуждение

Переход семян от состояния покоя к прорастанию является критическим этапом в жизни растения, который сопровождается изменением физиологического и биохимического состояния семени, экспрессии генов, а также эпигенетическими модификациями [13]. Прорастание семян, как и многие процессы в растениях, находится под контролем гормональной системы. Ключевая роль в процессе прорастания отводится гиббереллинам и АБК, которые действуют антагонистически в данном случае. АБК индуцирует и поддерживает покой семян, в то время как гиббереллины инициируют их прорастание. Антагонизм гиббереллинов и АБК является предметом активного изучения физиологов растений, однако сложная организация сигнальных путей фитогормонов и их взаимодействие осложняют расшифровку механизмов их взаиморегуляции.

Выявленные изменения генной экспрессии в результате γ-облучения свидетельствуют об усилении синтеза гиббереллинов - гормонов, положительно регулирующих прорастание семян и усилении катаболизма АБК - ингибитора прорастания, что, в свою очередь, может обусловить стимуляцию роста и развития растений ячменя.

Интересно отметить, что максимальные значения разницы генной экспрессии были зафиксированы на одном этапе после 18 часов прорастания. Это свидетельствует об общих элементах сигнальных каскадов, приводящих к изменениям в экспрессии генов, контролирующих метаболизм обоих фитогормонов. Согласно шкале микрофенологических фаз прорастания ячменя именно на 18-й час прорастания происходит проклевывание колеоптиля, т.е. первая стадия активного роста после набухания [14]. Таким образом, обнаруженные паттерны транскрипционной активности генов метаболизма фитогормонов на 18-й час после замачивания отражают запуск генных сетей, ответственных за развитие проростков, а соответствующий временной промежуток является критическим для прорастания семян ячменя. Это соотносится с данными, представленными в работе [15], где в ходе изучения влияния окислительного стресса на зародыш и клетки алейронового слоя самые высокие значения экспрессии генов синтеза *HvGa20ox1*, *HvGa3ox*1 и катаболизма гиббереллинов *HvGa2ox4* наблюдали именно на 18-й час после прорастания.

Значения исследуемых параметров были максимальны при облучении семян в дозе 20 Гр. Именно при этой дозе в проростках ячменя было обнаружено увеличение содержания основных классов фитогормонов, стимулирующих рост и развитие растений, снижение концентраций ингибитора прорастания АБК [7], увеличение активности антиоксидантных ферментов [16] и морфологических параметров [17].

В результате гамма-облучения, как, вероятно, и в результате действия других стрессоров, происходит активация множественных сигнальных путей, имеющих разные временные и пространственные характеристики. Представляется, что первичный стимул воспринимается несколькими сенсорами, причем, в зависимости от природы раздражителя, набор сенсоров может отличаться [18], в результате чего инициируются каскадные процессы сигналинга вторичных мессенджеров, таких как фитогормоны, которые осуществляют регуляцию всех важнейших процессов жизнедеятельности растений и, взаимодействуя друг с другом и окружающими молекулами, создают сложную сигнальную сеть. Исследованная в данной работе экспрессия генов метаболизма фитогормонов, не являясь концом сигнального пути, не может являться безусловным доказательством повышенных уровней гиббереллинов и пониженных концентраций АБК, но может указывать на изменение потенциала их синтеза и катаболизма. Есть множество других аспектов, включая транскрипционную, посттранскрипционную и посттрансляционную регуляцию, генную избыточность, альтернативный сплайсинг, некодирующие РНК и эпигенетические эффекты, которые регулируют пути передачи сигналов. Эти направления, несомненно, требуют дальнейшего изучения для раскрытия механизмов формирования ответных реакций растений на действие ИИ в широком диапазоне доз.

Литература

Shu K., Liu X. D., Xie Q. et al. Two faces of one seed: hormonal regulation of dormancy and germination // Mol. Plant. 2016. V. 9. P. 34–45.

Gubler F., Chandler P.M., White R.G. et al. Gibberellin signaling in barley aleurone cells. Control of SLN1 and GAMYB expression // Plant Physiology. 2002. V. 129. P.191–200.

Finkelstein R. Abscisic acid synthesis and response // The Arabidopsis book. 2013. V. 11. e0166.

Christmann A., Weiler E.W., Steudle E. et al. A hydraulic signal in root-to-shoot signaling of water shortage // Plant J. 2011. V. 52. P. 167–174.

Deborah V., Malone R.P., Dix P.J. Increased tolerance to abiotic stress in tobacco plants expressing a barley cell wall peroxidase // J. Plant Sci. 2011. V. 6. P. 1–13.

Козьмин Г.В., Гераськин С.А., Санжарова Н.И. Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности. Обнинск: ВНИИРАЭ, 2015. 400 с.

Битаришвили С.В., Волкова П.Ю., Гераськин С.А.

Влияние γ-облучения семян на фитогормональный статус проростков ячменя // Физиология растений. 2018. Т. 65. № 3. С. 223–231.

ГОСТ12038_84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. Межгосударственный стандарт. Стандарты на методы контроля. М., 2002. 28 с.

Jarošova J., Kundu J.K. Validation of reference genes as internal control for studying viral infections in cereals by quantitative real-time RT-PCR // BMC Plant Biology. 2010. V.10. 146.

Gubler F., Hughes T., Waterhouse P. et al. Regulation of dormancy in barley by blue light and after-ripening: effects on abscisic acid and gibberellins metabolism // Plant Physiology. 2008. V. 147. P. 886–896.

Millar A.A., Jacobson J.V., Ross J.J. et al. Seed Dormancy and ABA Metabolism in Arabidopsis and Barley: Role of ABA 8'-Hydroxylase // Plant J. 2006. V. 45. P. 942–954.

Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ Method // Methods. 2001. V. 25. P. 402–408.

Gao F., Rampitsch C., Chitnis V. R. et al. Integrated analysis of seed proteome and mRNA oxidation reveals distinct post-transcriptional features regulating dormancy in wheat (Triticum aestivum L.) // Plant Biotechnol. J. 2013. V. 11. P. 921–932.

Казакова А.С. Козяева С.Ю. Шкала микрофенологических фаз прорастания семян ярового ячменя // Сельскохозяйственная биология. 2009. № 3. С. 88–92.

Ishibashi Y. Kasa S., Sakamoto M. et al. A role for reactive oxygen species produced by NADPH oxidases in the embryo and aleurone cells in barley seed germination // PLoS One. 2015. 10(11): e0143173.

Волкова П.Ю., Чурюкин Р.С., Гераськин С.А. Влияние γ-облучения семян на активность ферментов в проростках ячменя // Радиац. биология. Радиоэкология. 2016. Т. 56. № 2. С. 190–196.

Гераськин С.А., Чурюкин Р.С., Казакова Е.А. Модификация развития ячменя на ранних этапах онтогенеза при воздействии γ-облучения на семена // Радиац. биология. Радиоэкология. 2015. Т. 55. № 6. С. 607–615.

Sewelam N., Kazan K., Schenk P.M. Global plant stress signaling: reactive oxygen species at the crossroad // Front. Plant Sci. 2016. V. 7. 187.

Действие ультрафиолетового излучения на растения ячменя

Цыгвинцев П.Н., Козьмин Г.В., Гончарова Л.И., Гусева О.А., Тихонов В.Н., Тихонов А.В.

ФГБНУ ВНИИ радиологии и агроэкологии

В вегетационных экспериментах на растениях ячменя исследовано биологическое действие ультрафиолета (УФ). Первичное воздействие УФ на растения ячменя осуществляется через повреждения PSII, при этом со временем активность фотосистемы может восстановиться, но сохраняются дозозависимые и адаптивные по своему характеру изменения в системе тепловой диссипации света излишней интенсивности. При изучении воздействия острого УФ-облучения А и В диапазонов на формирование ответа растений на разных этапах органогенеза выявлены неоднозначные закономерности по изменению биохимических показателей в зависимости от стадии развития растений и спектра УФ. В ответ на окислительные процессы в растениях развивались адаптационные механизмы – синтез свободного пролина и фенольных веществ. При анализе процесса накопления свободного пролина в листьях ячменя отмечены закономерности в зависимости от возраста растений и спектральных характеристик УФ излучения. Повышенные уровни УФ-радиации, воздействующие на растения в течение всех этапов органогенеза, способствовали увеличению индукции флавоноидов, особенно ярко выраженной при действии УФ-В. Интегральным показателем, определяющим устойчивость растений к различным неблагоприятным факторам, является конечный урожай, снижение которого свидетельствует о происходящих на разных уровнях организации растительного организма изменениях и нарушении его важнейших функций. Наибольшие потери урожайности происходят при облучении растений УФ-В в фазе формирования дополнительных побегов и в фазе формирования цветков. При хроническом облучении ячменя суточная доза выше 9 кДж/м^2 является летальной при условии, что уровень УФ-А излучения не превышает тех же 9 кДж/м^2, если суточный уровень УФ-А излучения при этом составляет 36,5 кДж/м^2, растения могут дать урожай, хотя и ниже на 70% чем без УФ-облучения.

Ультрафиолет, ячмень, урожайность, озоновый слой, хлорофилл, МДА, флавоноиды

Введение

Среди глобальных экологических факторов, воздействующих на наземные экосистемы и, соответственно, на агросферу, особое место занимает ультрафиолетовое (УФ) излучение, интенсивность которого может повышаться при снижении концентрации стратосферного озона. К концу XX столетия сокращение концентрации озона в стратосфере над странами Европы составляло примерно 1 % в год [1]. На современном этапе биосферных явлений, в связи с появлением в зимнее-весенний период ранее не наблюдавшихся в Арктике «озоновых дыр», отмеченная тенденция может усиливаться. Резкие снижения уровня стратосферного озона в Арктике весной привлекли особое внимание к исследованиям влияния ультрафиолетового излучения на растения в нашей стране [2]. В связи с этим возникла необходимость экспериментального изучения эффектов острого УФ-облучения сельскохозяйственных агроценозов.

Особенное внимание важно уделить изучению чувствительности растений на разных этапах органогенеза, поскольку увеличение интенсивности УФ-В излучения в связи с образованием «озоновых дыр», как правило, наблюдается в весенний период, когда начинается активный рост озимых зерновых культур. Как видно на рисунке 1, снижение озонового слоя может составлять до 50 % в отдельных случаях. Для растений северной части Евразии и Канады в этот период обычный уровень ультрафиолетового излучения очень низок из-за низкого уровня солнца над горизонтом. И растения могут не успеть адаптироваться к резкому и кратковременному увеличению УФ-излучения [3].

Хотя УФ-В излучение на поверхности земли является незначительной составляющей солнечного спектра, тем не менее, оно несоразмерно влияет на метаболические процессы растений, рост, морфологию, цветение, опыление, фотосинтез и транспирацию [5]. Потенциальными молекулярными мишенями при прямом повреждении УФ-В путем фотосенсибилизации или

фотомодификации являются нуклеотиды, белки, липиды и пигменты [6]. Но кроме прямого ущерба высокомолекулярным соединениям, УФ-В может изменять трансдукцию сигналов и экспрессию генов, что способствует акклиматизации и репарации процессов [7, 8].

Целью работы является исследование реакции вегетирующих растений на действие УФ-облучения в разные этапы органогенеза, что необходимо для прогноза потерь урожая.

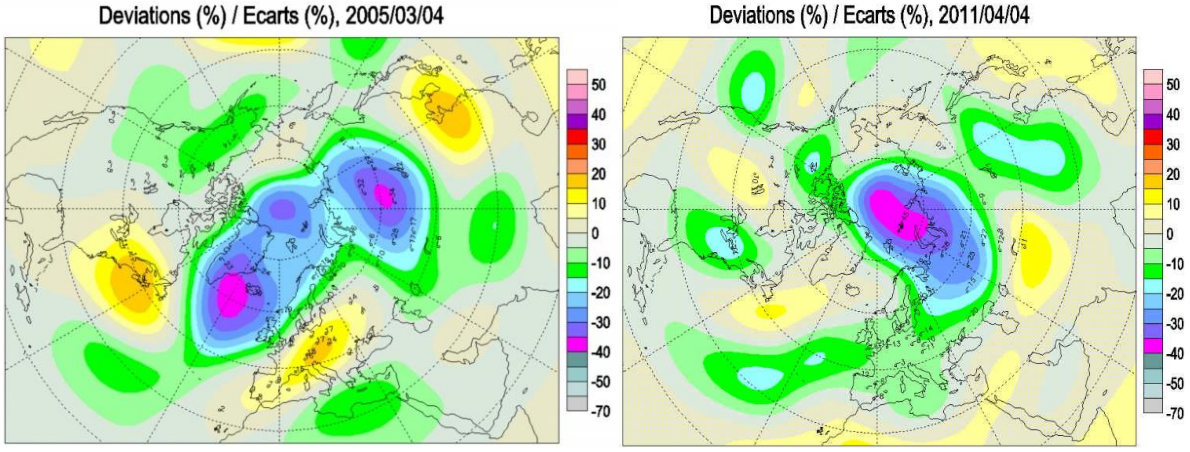


Рисунок 1. Примеры «озоновых дыр», возникающих весной в Арктике [4].

Материалы и методы

Объектом исследования служил ячмень (*Hordeum vulgare* L.), сорт Зазерский 85. Растения выращивали в сосудах, содержащих 4,5 кг воздушно-сухой дерново-подзолистой супесчаной почвы. Агрохимические свойства почвы: pH_{KCl} (5,00±0,01); гумус (1,42±0,01) %; гидролитическая кислотность (2,06±0,03) мг-экв/100 г почвы; сумма поглощенных оснований (5,75±0,05) мг-экв/100 г почвы; обменный K_2O и подвижный P_2O_5 (8,52±0,4) и (48,5±1,0) мг/100 г, соответственно. Перед посевом в почву вносили питательные элементы из расчета N_{200}, P_{100} и K_{100} мг/кг почвы по действующему веществу в виде водных растворов солей (NH_4NO_3, KH_2PO_4 и K_2SO_4).

Облучение проводили в условиях вегетационного эксперимента в теплице. В качестве источника УФ-А излучения использовали лампы Black Light BLUE фирмы Philips, для УФ-В – ЛЭР-40 (рис. 2). Мощность облучения определяли с помощью спектрофотометра AvaSpec 2048 и программного обеспечения AvaSoft 6.2. Поскольку при снижении толщины озонового слоя до 50 %, появляется УФ-В излучение в области 295–320 нм, и наибольшее увеличение УФ-А в области 320–400 нм (рис. 3), в первом приближении можно считать облучение данными лампами соответствующим по спектру облучению из-за снижения толщины озонового слоя. При этом следует учитывать, что в условиях острого облучения растения не были адаптированы к действию ультрафиолета (рис. 3).

Измерения флуоресценции хлорофилла (ФХ) проводили в тепличных условиях при температуре 28 °С с полноценно раскрывшегося 5 листа (отсчет от корня растения). Стационарную ФХ измеряли с помощью амплитудно-импульсного флуориметра Junior-PAM (Walz Inc., Effeltrich, Germany). Для определения минимального уровня флуоресценции Fo использовали слабомодулированный измерительный свет, а для измерения максимального уровня флуоресценции Fm – импульсный измеряющий свет.

Параметры флуоресценции вычисляли по измеренным уровням флуоресценции:

1) максимальный фотохимический квантовый выход фотосистемы II (PSII), выражающийся отношением Fv/Fm (отн. ед.), где Fv= Fm– Fo;

2) коэффициент фотохимического тушения, qP (отн. ед.), по формуле Fm-F’/Fm’-Fo’;

3) коэффициент нефотохимического тушения, qN (отн. ед.), по формуле 1–(Fm’–Fo’)/(Fm–Fo).

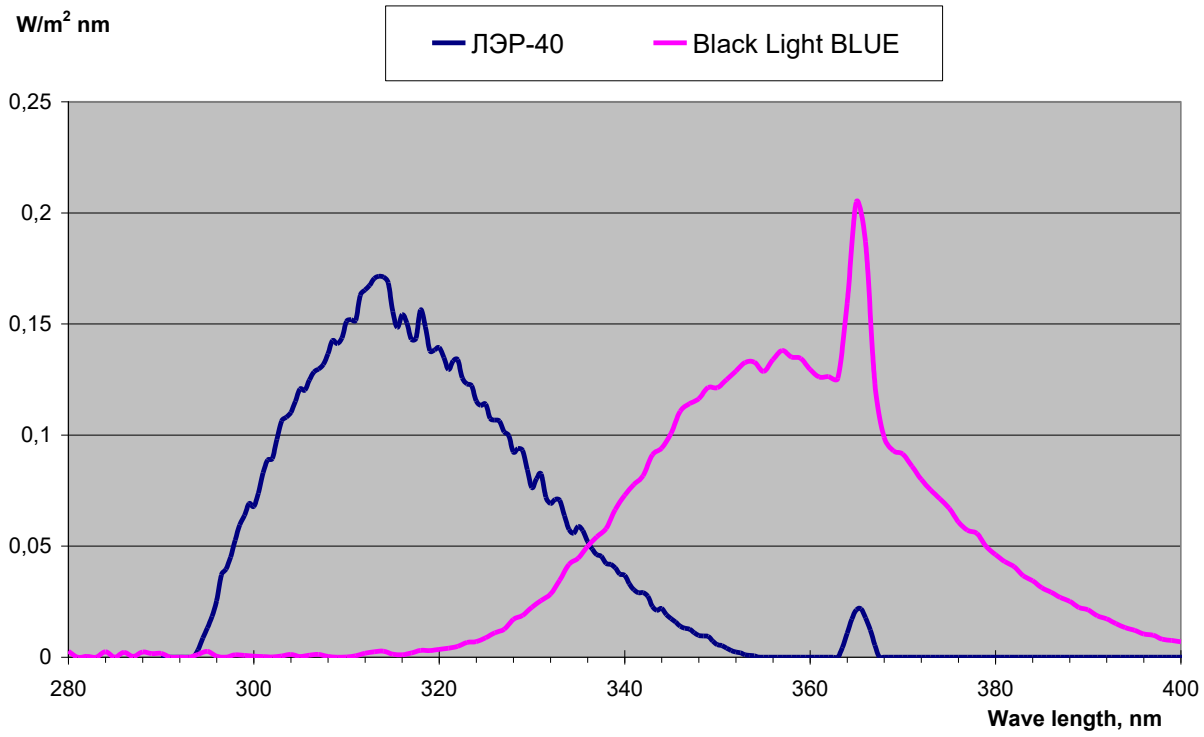


Рисунок 2. Спектры излучения ламп ЛЭР-40 и Black Light BLUE в УФ-области

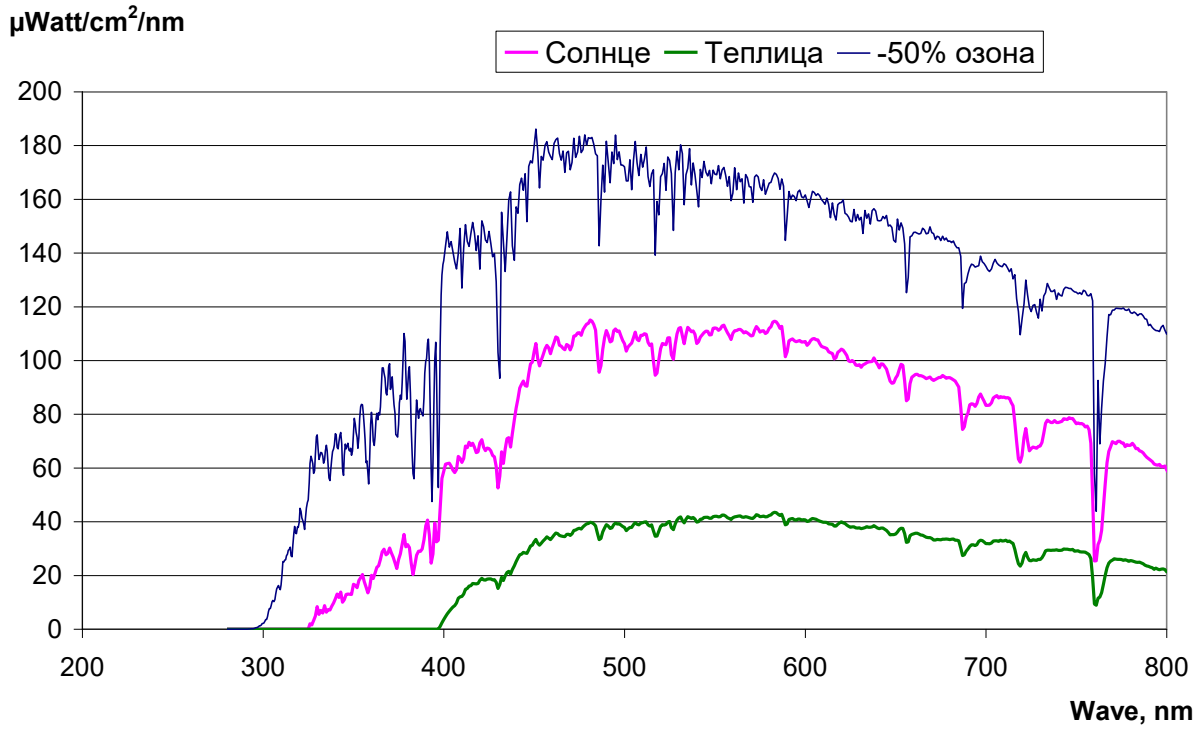


Рисунок 3. Спектры излучения Солнца на уровне земли, в теплице и при 50 % снижении озонового слоя

Критериями оценки действия УФ радиации на растения служили также биохимические показатели. У растений на разных этапах органогенеза спектрофотометрическим методом на приборе UNICO-1200 (Санкт-Петербург, РФ) в листовой меристеме определяли интенсивность ПОЛ по содержанию малонового диальдегида (МДА) по методике [9], накопление свободного пролина по его реакции с кислым нингидрином согласно методике [10] и содержание флавоноидов по методике [11] в трехкратной аналитической повторности.

Действие изучаемых спектров УФ-излучения оценивали также в конце вегетации по морфологическим параметрам и урожайности.

Статистическую значимость различий вариантов опыта устанавливали по t-критерию Стъюдента. В тексте и на рисунках представлены средние значения и ошибка средней X±m.

Ниже представлены результаты экспериментов, различающихся условиями УФ-облучения растений.

Результаты и обсуждение

Имитируя воздействие УФ при появлении «озоновых дыр» проводили острое (однократное в течение 5 часов) облучение ячменя на стадии выхода в трубку (51 этап органогенеза по международному коду [12]) сочетанным действием УФ-А и УФ-В в дозах 35 кДж/м^2 (6 УФ-В и 29 УФ-А соответственно), 70 кДж/м^2 (12 УФ-В и 58 УФ-А соответственно) и 105 кДж/м^2 (18 УФ-В и 87 УФ-А соответственно). При этом наблюдали дозозависимое снижение максимального квантового выхода для PSII сразу после облучения (рис. 4). Минимальное значение составило 0,34 при максимальной дозе, в контроле изменений Fv/Fm не наблюдалось и составляло 0,77. Необходимо отметить, что восстановления PSII у облученных растений до уровня контроля не произошло даже спустя 30 суток.

Похожие данные были получены в исследовании Pfundel на виноградных листьях и в работе Смоликовой на горчице черной [13, 14]. Полученные результаты можно интерпретировать как повреждения комплексов PSII в результате избыточного потока УФ-излучения, энергия которого не может быть реализована в фотосинтетических реакциях, что считается одним из основных факторов инактивации комплексов PSII.

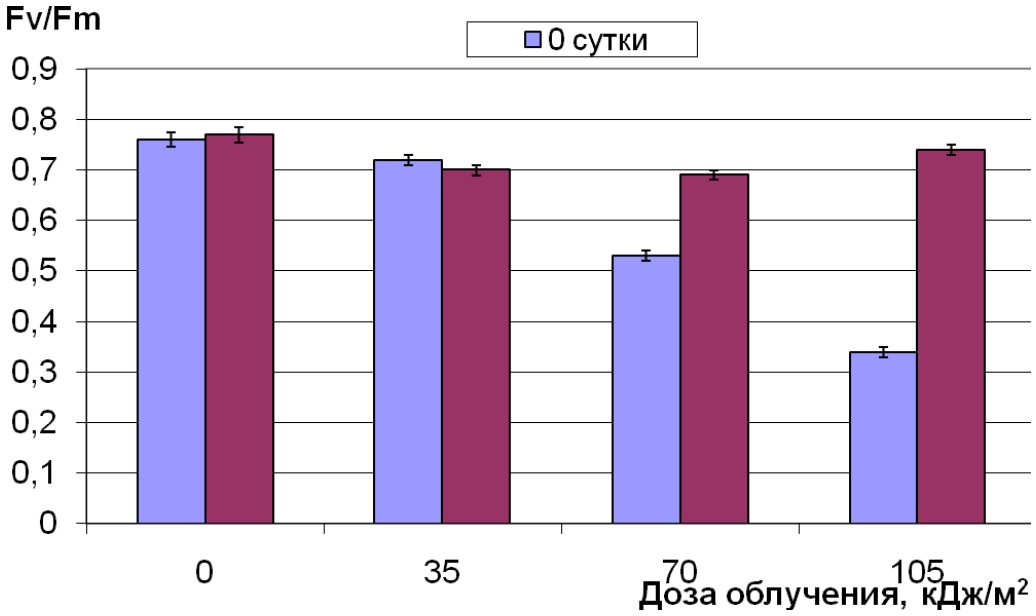


Рисунок 4. Влияние УФ-излучения на максимальный фотохимический квантовый выход PSII в листьях ячменя сразу после облучения и спустя 30 дней

Изменения в фотохимических реакциях комплексов PSII могут быть в какой-то мере обусловлены физиологически восстановимыми повреждениями пластохинонов. Фотохимическое тушение флуоресценции зависит от окислительно-восстановительного состояния QA, и уровень ФХ может увеличиваться при восстановлении QA и уменьшаться при его окислении. В результате применения вспышки света высокой интенсивности пластохиноны переходят в восстановленное состояние и уровень ФХ увеличивается до Fm'. После выключения света пул пластохинонов окисляется и интенсивность ФХ снижается до Fo'. Для того, чтобы оценить долю окисленных QA применяют коэффициент фотохимического тушения qP. Он отражает степень окисленности пула QA и зависит от притока электронов от феофитина к QA, и от их оттока от QA на вторичный акцептор PSII – QB [15, 16]. Острое УФ облучение привело к дозозависимому увеличению qP, которое восстановилось с течением времени (рис. 5).

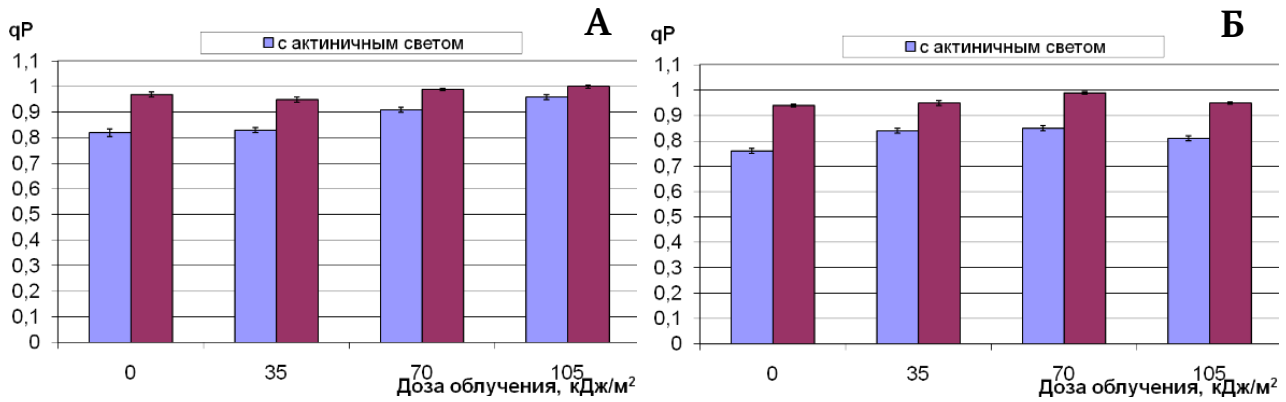


Рисунок 5. Фотохимическое тушение флуоресценции в листьях ячменя после УФ-облучения.
А – сразу после облучения; **Б** – спустя месяц после облучения

Восстановление механизма фотохимического гашения с течением времени может объясняться заменой поврежденного пула пластохинонов. Однако даже спустя 30 суток после облучения у растений ячменя наблюдались дозозависимые изменения в механизмах тепловой диссипации - показателе нефотохимического тушения флуоресценции (NPQ), который является механизмом защиты фотосинтетического аппарата от света высокой интенсивности (рис. 6).

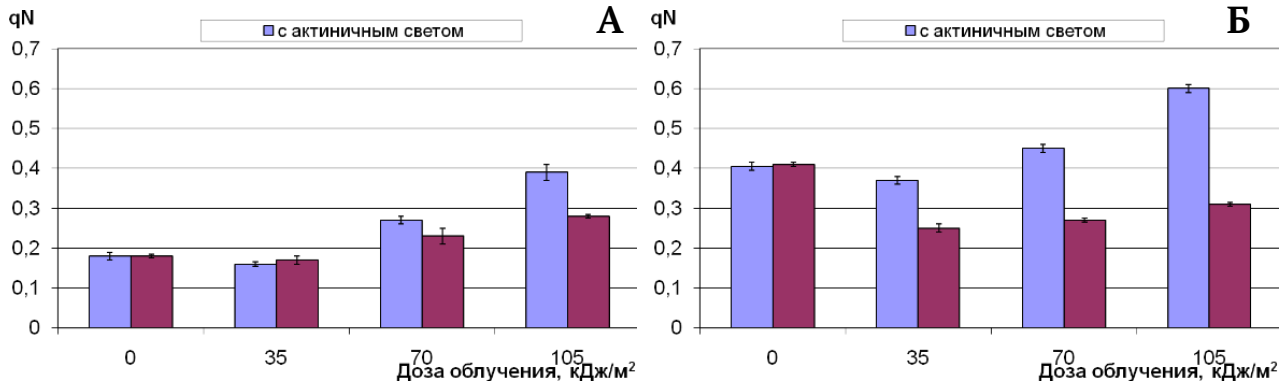


Рисунок 6. Нефотохимическое тушение флуоресценции в листьях ячменя после УФ-облучения.
А – сразу после облучения; **Б** – спустя месяц после облучения

Таким образом, первичное воздействие УФ на растения ячменя осуществляются через повреждения PSII, при этом со временем активность фотосистемы может восстанавливаться, но сохраняются дозозависимые и адаптивные по своему характеру, изменения в системе тепловой диссипации света излишней интенсивности.

УФ-излучение способствует образованию в клетках свободных радикалов, что приводит к интенсификации процессов перекисного окисления липидов мембран (ПОЛ) и нарушению целостности структурно-функционального состояния клеток [17, 18]. Процессы ПОЛ характеризуют состояние важнейших клеточных структур – биомембран, которые одними из первых испытывают воздействие стрессовых факторов. Реакции структурных и ферментативных систем клеток с этими соединениями вызывают обширные повреждения в структурах и нарушения ферментативных циклов метаболизма, объединяемых под общим термином оксидативный стресс [19].

Существование растительной клетки в окислительных условиях возможно лишь благодаря выработке системы антиоксидантных механизмов защиты, включающей как высокомолекулярные, так и низкомолекулярные соединения [19, 20]. К одним из последних относится аминокислота - свободный пролин, полифункциональное соединение, обладающее в том числе антиоксидантными свойствами [18, 19]. К фотозащитным пигментам, эффективно задерживающим излучение в УФ и видимой областях спектра относятся фенольные вещества (антоцианы, флавоноиды и т.д.), которые локализованы главным образом в эпидермисе тканей растений и действуют как внутренний фильтр [18, 21, 22]. Накопление фенольных соединений у высших растений при действии УФ-излучения относится к универсальным механизмам фотоадаптации и защиты от фотоповреждения, сформировавшимся на ранних этапах эволюции фотоавтотрофных организмов [21, 22].

При изучении воздействия острого УФ-облучения А и А+В диапазонов на формирование ответа растений на разных этапах органогенеза выявлены неоднозначные закономерности по изменению биохимических показателей в зависимости от стадии развития растений и спектра УФ. Облучение растений ячменя проводили на 13, 25, 34, 43 и 52 этапах органогенеза в дозе 40 кДж/м^2 для УФ-А и в дозе 45 кДж/м^2 для УФ (А+В), при этом доза УФ-В составила 45 кДж/м^2.

Оценка активности перекисного окисления липидов (ПОЛ), индуцированного влиянием разных спектров УФ-радиации позволила установить, что на ранней стадии развития растений ячменя (фаза 3-лист – 13 этап органогенеза) совместное действие УФ излучения (А+В спектров) в дозе 45 кДж/м^2 обусловило ярко выраженное уменьшение содержания МДА на 26 % ($p \leqslant 0,05$) по сравнению с контролем (рис. 2). С увеличением возраста растений степень развития окислительного процесса при действии УФ-излучения была различной. Так, в вегетативный период развития растений (фаза кущение – 25 этап органогенеза) применение как раздельного длинноволнового спектра УФ-А радиации в дозе 40 кДж/м^2, так и совместного действия УФ (А+В) излучения в дозе 45 кДж/м^2 индуцировало активизацию процесса ПОЛ в среднем в 2 раза ($p \leqslant 0,01$) по отношению к контролю (рис. 6).

По мере роста растений, в начале генеративного периода (фаза выход в трубку – 34 этап органогенеза) окислительные процессы наиболее ярко развивались при сочетанном действии УФ-радиации (А+В диапазонов): увеличение содержания МДА по отношению к контролю составило 2 раза ($p < 0,001$). В период колошение-цветение - на 43 и 52 этапах органогенеза растений применение раздельного длинноволнового спектра УФ-А излучения обусловило несколько меньшую индукцию продуктов МДА – в среднем на 13 % ($p < 0,05$), тогда как совместное действие УФ-радиации А+В диапазонов в этот же период развития растений ячменя, напротив, вызвало снижение содержания МДА в среднем на 25 % ($p < 0,01$) по сравнению с контролем (рис. 6).

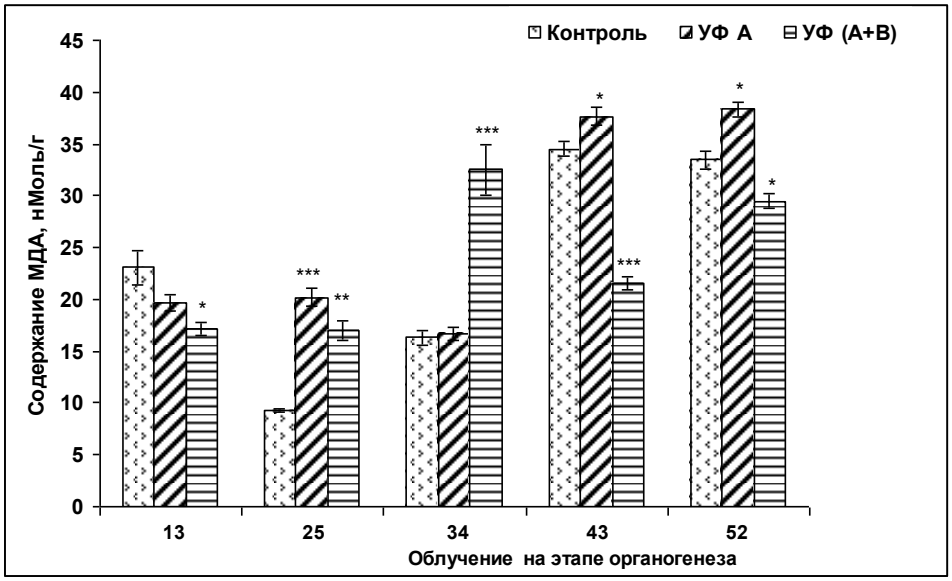


Рисунок 6. Влияние острого УФ-облучения в разные стадии онтогенеза растений ячменя на активность перекисного окисления липидов
*Примечание: здесь и далее различия с контролем статистически значимы при *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001*

Из полученных данных следует, что острое УФ-А-облучение растений при суточной дозе 40 кДж/м^2 вызывало активизацию окислительного процесса растений начиная с фазы кущения вплоть до стадии колошения, тогда как совместное действие УФ-излучения А+В диапазонов при дозе 45 кДж/м^2 способствовало индукции окислительного процесса только в период кущение-выход в трубку. Выявленные эффекты, по-видимому, связаны с различиями спектральных характеристик поглощенной и отраженной от поверхности листьев растений УФ-радиации в диапазоне длин волн от 280 до 400 нм [23, 24], а также, возможно, с различиями в механизмах формирования компонентов антиоксидантной защиты и возрастными особенностями растений [17, 18]. Оптическими методами выявлено [24], что уже на начальных этапах развития окислительного стресса усиливаются процессы рассеяния света, падает эффективность преобразовании световой энергии в химическую в процессе фотосинтеза, увеличивается синтез каротиноидов, флавонолов и других вторичных метаболитов, обеспечивающих повышение защиты клеток и тканей от деградации.

В ответ на окислительные процессы в растениях развивались адаптационные механизмы – синтез свободного пролина и фенольных веществ. При анализе процесса накопления свободного пролина в листьях ячменя установлены зависимости от возраста растений и спектральных характеристик УФ-излучения.

Установлено, что на разных этапах органогенеза в ходе вегетации растений в контрольных вариантах (без воздействия УФ-облучения) в листьях ячменя накапливалось примерно одинаковое количество свободного пролина (среднее значение – 0,8 мкМоль/г сырой массы) (рис. 7).

Применение как совместного (А+В), так и раздельного действия острого УФ-А облучения растений в период от фазы 3-й лист до фазы колошение обусловило незначительные колебания в направленности эффектов: несущественное снижение содержания свободного пролина на 34 этапе органогенеза и незначительное увеличение накопления этого соединения на 43 этапе органогенеза. Максимальная активизация накопления свободного пролина в среднем в 7 раз ($p < 0,001$) свыше контроля отмечалась в фазу колошение на 52 этапе органогенеза как в случае раздельного действия УФ-А облучения при дозе 40 кДж/м^2, так и при совместном воздействии облучения (А+В диапазонов) в дозе 45 кДж/м^2 (рис. 3).

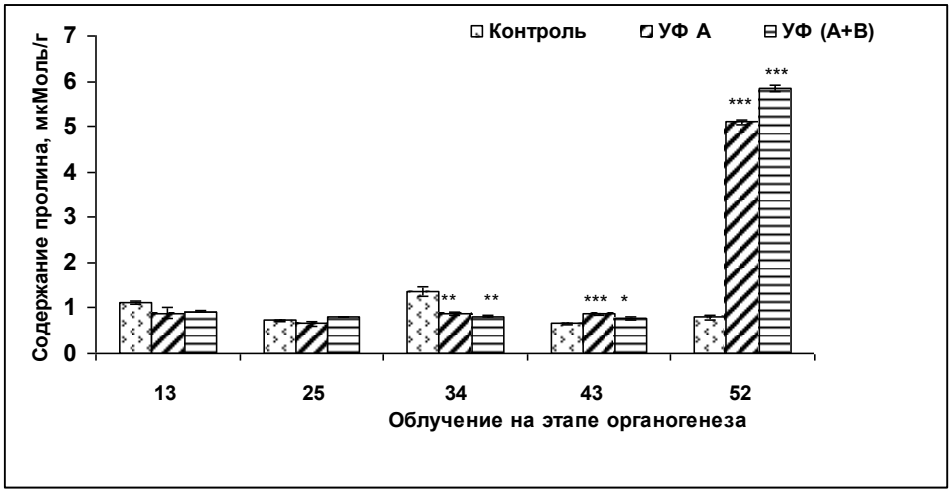


Рисунок 7. Динамика свободного пролина в ходе онтогенеза ячменя под действием УФ-излучения

О высокой чувствительности хлебных злаков к УФ-В радиации в период колошение--цветение, особенно при недостатке видимого света и водном дефиците, сопровождаемой повышенным содержанием свободного пролина, свидетельствуют авторы [17]. Другими авторами [25] показано, что активизация накопления свободного пролина у растений в ответ на неблагоприятные факторы является особенностью биосинтеза и метаболизма этого соединения для поддержания клеточного гомеостаза и может проходить независимо от возраста растений.

Универсальной защитной реакцией растений на воздействие повышенных уровней УФ-радиации является накопление в листьях фенольных соединений, которые играют ключевую роль в предотвращении фотоповреждений окислительного характера [20-22]. По данным [17, 22] фенольные вещества (антоцианы, флавоноиды и общие фенолы) могут влиять как солнечные экраны, посредством абсорбирования УФ-радиации до тех пор, пока УФ-лучи достигнут чувствительных мишеней, таких хлоропласты и другие органеллы в листьях.

В нашем опыте установлено, что повышенные уровни УФ-радиации, воздействующие на растения в течение всех исследуемых этапов органогенеза, способствовали увеличению индукции флавоноидов, особенно ярко выраженной при совместном действии УФ-излучения А+В диапазонов (рис. 8).

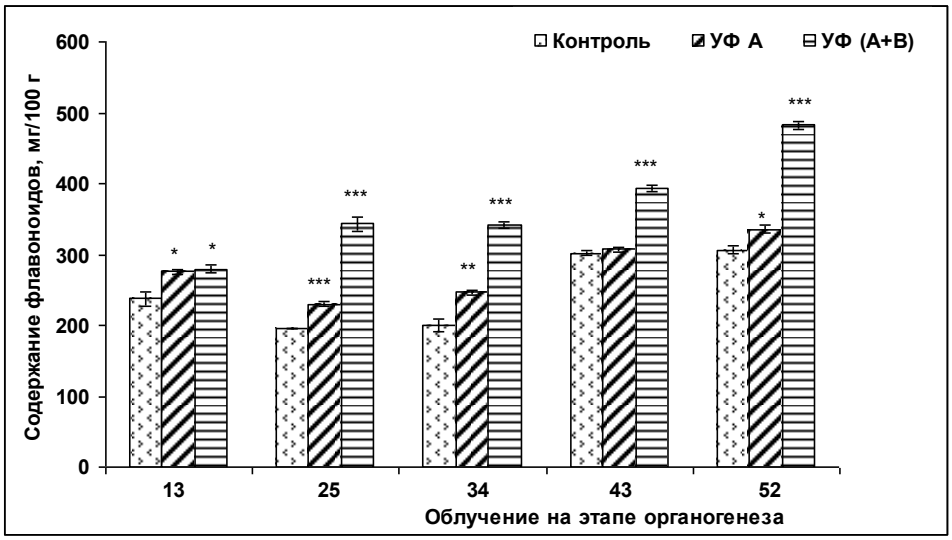


Рисунок 8. Влияние УФ-радиации (А и А+В диапазонов) на содержание флавоноидов в листьях растений ячменя в ходе онтогенеза

Если воздействие острого УФ-А-облучения растений при суточной дозе 40 кДж/м^2 на изученных стадиях онтогенеза обусловило повышение уровня флавоноидов в среднем в 1,2 раза ($p < 0,01$), то при появлении в спектре облучения УФ-В радиации даже в дозе 2,5 кДж/м^2 содержание флавоноидов превысило контроль в среднем более, чем в 1,5 раза ($p < 0,01$) (рис. 8). Эффекты увеличения содержания флавоноидов у двух сортов ячменя отмечены при действии острого УФ-В-облучения при энергетической освещенности 10 Вт/м^2 в течение 4 час на этапе кущения и выхода в трубку растений [26].

Эти данные согласуются с результатами других авторов [22, 24, 27] о том, что при действии УФ-радиации у высших растений повышенная индукция продуктов вторичного метаболизма (антоцианов, флавоноидов и других фенольных соединении) в значительной степени может выполнять фотозащитные функции. Кроме того, существует мнение [18], что в фотозащитном процессе для предотвращения повреждения клеток растений необходимо противодействие антиоксидантов и пигментов защиты прежде, чем флавоноиды погасят окислительный взрыв, вызванный АФК.

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что формирование ответной реакции растений ячменя на действие острого УФ-излучения (А и А+В диапазонов) в разные этапы органогенеза происходило в условиях взаимодействия окислительных процессов и антиоксидантной защиты, зависящих от возрастных особенностей растений и спектральных характеристик УФ-радиации. В период образования вегетативных органов на активизацию окислительных процессов в растениях главным образом оказывало влияние совместное действие УФ-излучения (А +В спектров), тогда как в генеративный период развития растений, преимущественно раздельное действие длинноволнового спектра УФ-А радиации. Среди изученных компонентов антиоксидантной защиты (свободный пролин и флавоноиды) главенствующую роль в фотозащите выполняли флавоноиды, поскольку для поддержания гомеостаза растений в течении всей вегетации наблюдался существенный подъем аккумуляции флавоноидов как в случае раздельного действия УФ-А спектра, так и при совместном влиянии (А+В спектров) УФ-радиации, что находит подтверждение в многочисленных литературных источниках [17, 22, 27].

Изучение морфологической реакции ячменя на острое облучение УФ-А и УФ-(А+В) диапазонов при действии в разные стадии развития показало неоднозначную зависимость. В эксперименте использовали острые (однократно в течение 5 часов) дозы облучения, которые составили 36 кДж/м^2, как для УФ-А, так и для УФ-(А+В), при этом доза УФ-В в совместном действии составила 18 кДж/м^2.

Так, УФ-А облучение на ранних этапах органогенеза не оказало негативного действия на рост ячменя на стадии сбора урожая (рис. 9). Появление в спектре УФ-В облучения на 31 этапе органогенеза вызвало угнетение высоты растений на 12 % ($p < 0,05$). Интегральным показателем, определяющим устойчивость растений к различным неблагоприятным факторам, является урожай (рис. 10), снижение которого свидетельствует о происходящих на разных уровнях организации растения изменениях и нарушении его важнейших функций.

Как видно из рисунка 10, наибольшие потери урожайности происходят при облучении растений УФ-В в фазе формирования дополнительных побегов и в фазе формирования цветков. Если рассматривать влияние острого УФ-облучения растений ячменя в плане формирования дополнительных урожайных стеблей, то УФ-А облучение в первый период роста способствует увеличению кустистости ($p < 0,05$), в то же время УФ-В облучение значительно снижает продуктивность дополнительных стеблей у растений ячменя в любой период развития (рис. 11). Влияние хронического повышенного УФ-А и УФ-В-облучения на формирование боковых побегов отмечено и в других исследованиях [28]. Острое УФ-облучение также негативно влияет и на формирование зерна в колосьях растений. При этом наиболее выражен эффект от облучения УФ-В в фазах, когда происходит закладка колоса (25) и

формирование цветков (31) (рис. 12).

Таким образом, в результате проведенных исследований выявлено, что по всем изученным морфологическим показателям (высота растений, число продуктивных стеблей, число зерновок в колосе и масса зерна с растения) наибольшее негативное действие оказало УФ-В-облучение растений по сравнению с УФ-А-облучением на всех этапах органогенеза. Отрицательное действие УФ-В-радиации проявилось на формирование продуктивных стеблей при облучении на всех этапах органогенеза (снижение составило в среднем до 40 %). УФ-В-облучение ячменя на этапах закладки колоса и формирования цветков провело к снижению озерненности колоса главного стебля в среднем на 34 % по сравнению с контролем, тогда как при УФ-А-облучении отличий от контроля по данному показателю не выявлено. УФ-В-облучение на этих этапах органогенеза вызвало также снижение массы зерновки в среднем на 48 %.

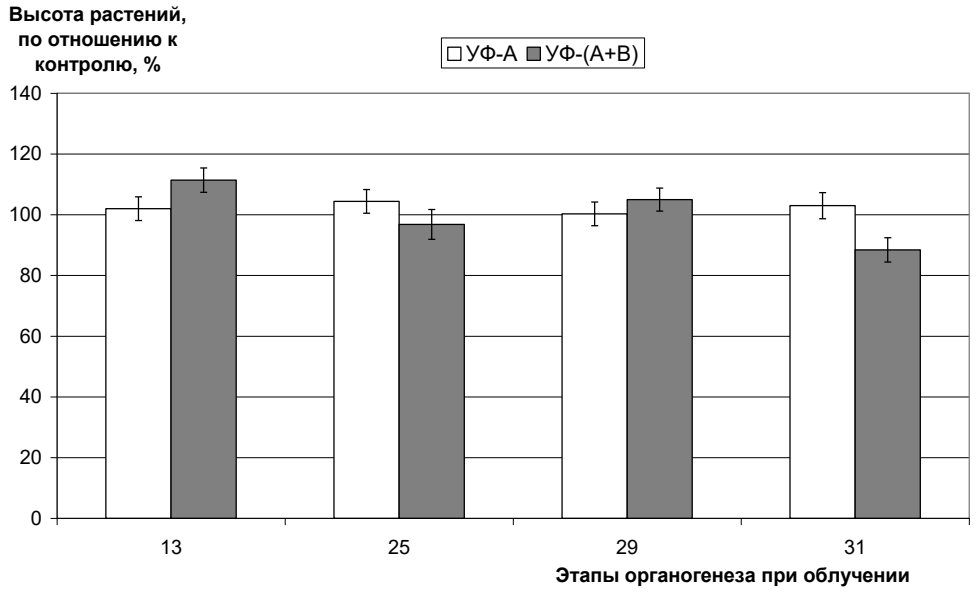


Рисунок 9. Высота растений после острого УФ-облучения в разные фазы онтогенеза по отношению к контролю

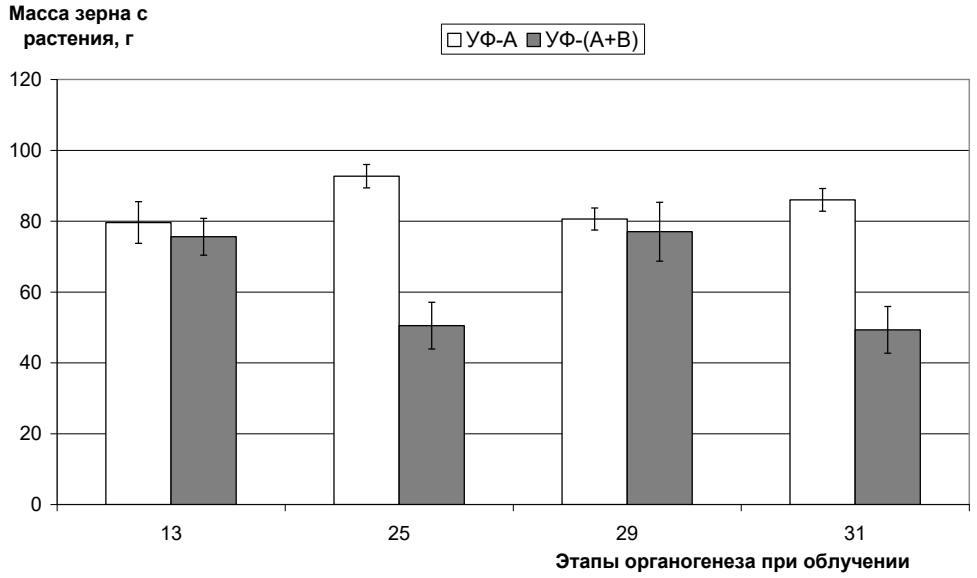


Рисунок 10. Урожай зерна после острого УФ-облучения в разные фазы онтогенеза по отношению к контролю

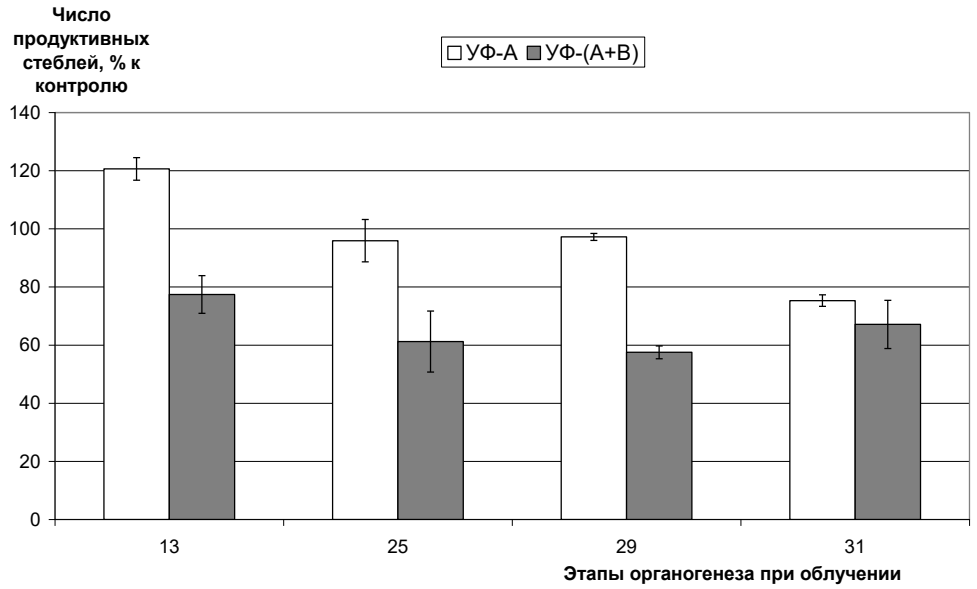


Рисунок 11. Число продуктивных стеблей на растение после острого УФ-облучения в разные фазы онтогенеза по отношению к контролю

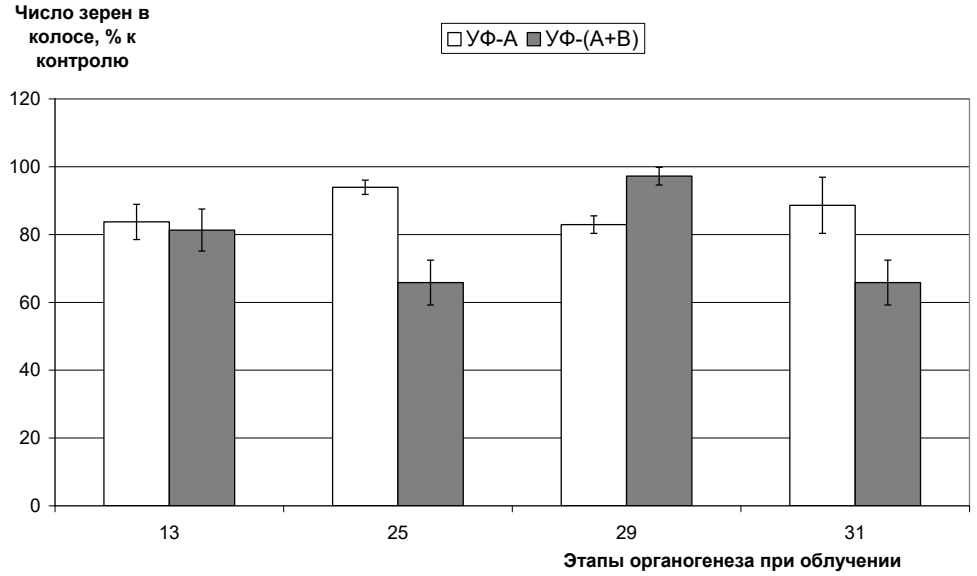


Рисунок 12. Число зерен в колосе после острого УФ-облучения в разные фазы онтогенеза по отношению к контролю

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о значительном негативном эффекте именно УФ-В-облучения. В то же время снижение толщины озонового слоя не только добавляет в спектр более коротковолновую часть, но и значительно повышает интенсивность УФ-А-излучения (рис. 3). Однако имеются данные о «защитном» действии УФ-А-излучения относительно действия УФ-В-излучения при их совместном воздействии [29]. При оценке возможных потерь урожая зерновых от снижения уровня озона необходимо также учитывать плотность посевов, поскольку эффект в фотобиологии привязывают к плотности потока излучения (Дж/м^2), а непосредственно поглощенная доза (Дж/кг) может зависеть как от стадии формирования растений [30], так и от их плотности посева.

Особенно ярко выражено негативное

действие УФ-В-излучения на растения ячменя при хроническом облучении в больших дозах.

Для обеспечения равномерного хронического облучения растений была применена оригинальная схема расположения светильников. Классический метод расположения ламп непосредственно сверху над растениями, имеет ряд недостатков:

1. Растение облучается неравномерно, так как верхняя часть получает большее количество излучения, а нижняя меньше за счет разницы высоты от источника и затенения от верхнего полога.

2. Очень трудно технически обеспечить постоянную мощность облучения растения во время его роста, для этого надо было бы поднимать светильники по мере роста растения.

Поэтому при хроническом облучении светильники располагались как показано на рисунке 13.

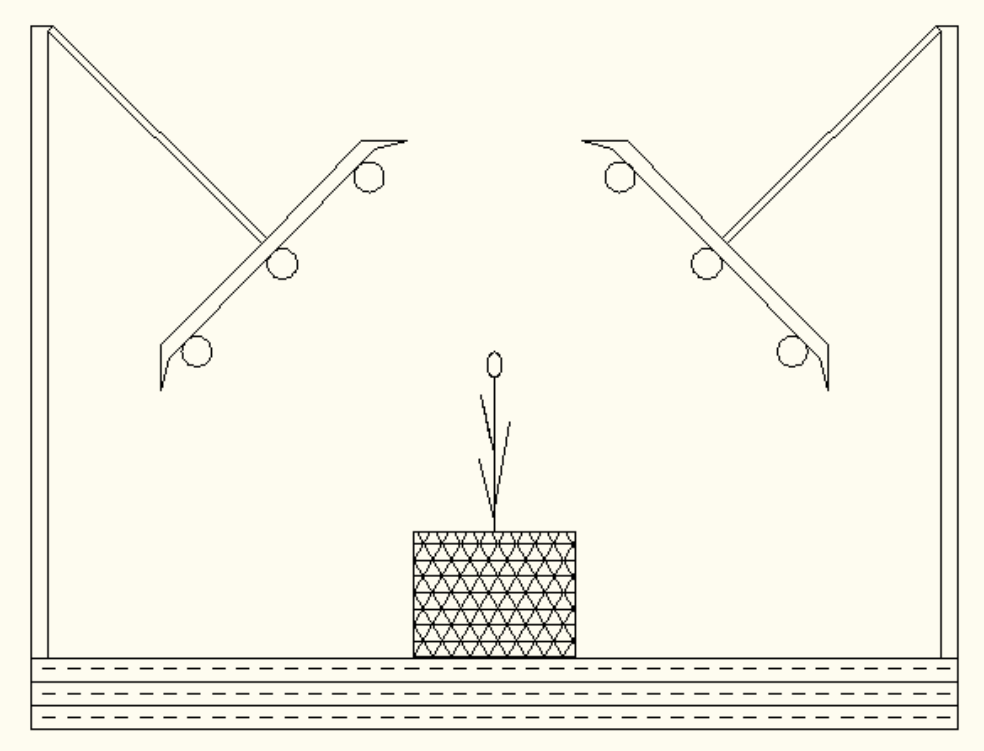


Рисунок 13. Расположение светильников для хронического облучения растений ячменя

При таком расположении светильников мощность излучения от верхней плоскости вегетационного сосуда нормально вверх на высоту 40 см остается практически постоянной, тем самым позволяя равномерно облучать растение с заданной мощностью.

После того как растение вырастало на 40 см светильники поднимались однократно за эксперимент на 40 см соответственно. Другое достоинство такого расположения излучателей заключается в равномерности облучения всего растения с двух сторон по всей длине.

В эксперименте помимо контроля были использованы шесть вариантов хронического УФ-облучения, представленных в таблице 1. Время экспозиции составляло 5 часов в сутки.

В вариантах 3 и 5 при хроническом облучении УФ-В в дозе 18 кДж/м² в сутки растения погибли после фазы 3-го листа (рис. 14).

Анализ морфофизиологических показателей 20-ти суточных растений ячменя (табл. 2) показал, что облучение растений УФ-А мощностью 2 Вт/м² приводило к статистически значимому ($p < 0,001$) увеличению высоты растения на 8 % а площади листьев ($p < 0,05$) на 11 %, с увеличением мощности до 4 Вт/м² увеличение высоты составило всего 3,6 % от контроля. В варианте 4 при действии УФ-(А+В) мощностью 1 Вт/м² высота растения статистически значимо

($p < 0,001$) падала на 37 % а площадь листьев на 72 %. В варианте 6, при той же мощности УФ-В (0,5 Вт/м²) и одновременном действии ультрафиолета А (2,5 Вт/м²), высота растения статистически значимо ($p < 0,001$) снижалась только на 12 %, а площадь листьев на 57 % от контроля (табл. 2).

Таблица 1

Мощности и суточные дозы хронического УФ-облучения при использовании ламп ЛЭР-40 и Black Light фирмы Philips, Вт/м²/кДж/м² в сутки

Вариант облучения	Black Light	ЛЭР-40	
	УФ-А	УФ-А	УФ-В
1	4/72	–	–
2	2/36	–	–
3	–	1/18	1/18
4	–	0,5/9	0,5/9
5	4/72	1/18	1/18
6	2/36	0,5/9	0,5/9

Рисунок 14. Внешний вид растений ячменя в фазе кущения при хроническом УФ-облучении. Слева направо варианты: контроль, 2, 1, 6, 5, 4, 3

Таблица 2

Морфофизиологические показатели 20-ти суточных растений ячменя при хроническом УФ-облучении

Вариант	Высота растения		Площадь листьев основного стебля	
	см	% к контролю	см²	% к контролю
Контроль	62,1±0,8	100	88,4±2,4	100
2	67,1±0,9***	108,2±2,1***	98,1±3,7*	110,9±5,1*
1	64,3±1,6	103, 7±2,9	81,3±4,5	92,0±5,6
6	54,6±2,00***	88,0±3,4***	38,3±4,9***	43,3±5,6***
4	39,0±2,6***	62,9±4,2***	25,0±3,5***	28,3±4,0***

*Примечание. Здесь и далее: различия с контролем статистически значимы при: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$*

Анализ содержания хлорофиллов и каротиноидов в растениях ячменя на 15 этапе органогенеза при хроническом УФ-облучении показал, что наблюдается их дозозависимое снижение при увеличении интенсивности облучения. Так, содержание хлорофилла А снижается в вариантах 2 и 1 на 11 % и 14 %, а в варианте 4 даже на 50 %. Аналогичным образом снижается и содержание хлорофилла В. При сочетанном действии УФ-

В и УФ-А-радиации можно отметить, что дополнительное УФ-А-облучение частично нивелирует негативное влияние УФ-В-радиации на содержание фотосинтетических пигментов в листьях ячменя (табл. 3).

Таблица 3

Содержание фотосинтетических пигментов в листьях ячменя на 15 этапе органогенеза при хроническом УФ облучении.

Вариант	Хлорофилл А, мг/100г	Хлорофилл В, мг/100г	Каротиноиды, мг/100г
Контроль	34,46±0,68	13,50±0,46	6,82±0,17
2	30,84±0,13**	11,9±0,12*	6,15±0,07*
1	26,17±0,28***	9,98±0,09**	5,74±0,06**
4	17,28±0,25***	7,00±0,28***	4,53±0,11***
6	25,41±0,63***	9,86±0,38**	5,86±0,03**

Ультрафиолет, прошедший через эпикутикулярный восковой слой, достигает эпидермального слоя. Показано [31], что эпидермальный слой аккумулирует большую часть вторичных метаболитов, таких как фенольные смолы и флавоноиды, которые поглощают и экранируют нижележащие ткани от УФ-В-излучения. Если защитных функций эпитикулярного слоя и флавоноидов к воздействующим уровням УФ-В-радиации недостаточно, то о негативном действии УФ-В-излучения на растения можно судить по увеличению показателя интенсивности окислительных процессов конечного продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида (МДА).

В данном эксперименте установлено, что в листьях ячменя на 15 этапе органогенеза максимальное увеличение продуктов перекисного окисления липидов (МДА) на 62 % выше контрольного наблюдалось в варианте 4, где присутствовало УФ-В-излучение в дозе 9 кДж/м^2 в сутки. Высокие уровни хронического УФ-А-излучения, напротив, снижали содержание МДА на 50–70 % от контрольного (табл. 4). При этом действие хронического УФ-А-облучения растений в дозе 72 кДж/м^2 в сутки вызывало увеличение концентрации флавоноидов в листьях ячменя только на 20 % (вариант 1), но УФ-В-облучение в дозе 9 кДж/м^2 в сутки увеличивало их концентрацию уже в 2 раза.

Таблица 4

Содержание МДА и флавоноидов в листьях ячменя на 15 этапе органогенеза при хроническом УФ облучении

Вариант	МДА, нмоль/г	Флавоноиды, мг/100г
Контроль	23,8±3,9	288,1±13,3
2	8,4±1,3*	280,7±17,6
1	8,6±1,1*	350,9±9,1*
4	38,5±5,7	591,1±44,2**
6	11,8±0,2*	586,8±51,6*

Растения в варианте 4 погибли на этапе выхода в трубку. Таким образом, можно констатировать, что при хроническом облучении ячменя суточная доза свыше 9 кДж/м^2 является летальной при условии, что уровень УФ-А-излучения не превышает тех же 9 кДж/м^2. В варианте 4, где суточный уровень УФ-А-излучения составлял 36,5 кДж/м^2, растения все же смогли дать урожай.

Анализ данных, полученных при полной спелости растений, показал, что дополнительное облучение УФ-А мощностями 2 и 4 Вт/м^2 приводило к высокозначимому ($p < 0,001$) увеличению высоты растения на

12 % и 14 % и уменьшению числа стеблей на 13 % и 39 % соответственно. Присутствие ультрафиолета области. В варианте 6 приводило к значительному снижению высоты - на 66 % (p < 0,001) и числа стеблей на 53 % (табл. 5).

Таблица 5

Морфофизиологические показатели и структура урожая ячменя сорта Зазерский 85 в фазе полной спелости после хронического УФ-облучения.

Показатель	Размерность	Варианты			
		контроль	2	1	6
Высота растения	см	56,1±1,1	64,1±1,3***	62,7±1,4***	34,4±3,3***
	% к контролю	100	114,4±3,3***	111,8±3,4***	61,3±6,0***
Общее число стеблей	шт.	2,1±0,1	1,8±0,1	1,3±0,05***	1,0±0,1***
	% к контролю	100	87,2±6,1*	61,4±3,6***	46,7±6,0***
Число продуктивных стеблей с колосом	шт.	1,71±0,08	1,26±0,06***	1,08±0,04***	0,82±0,10***
	% к контролю	100	73,6±5,0***	63,2±3,7***	48,1±6,0***
Длина колоса главного стебля	см	8,65±0,14	8,83±0,19	6,89±0,18***	4,25±0,42***
	% к контролю	100	102,2±2,8	79,7±2,4***	49,2±5,0***
Число зерен в колосе главного стебля	шт.	21,6±0,4	18,9±0,5***	15,1±0,8***	9,1±1,0***
	% к контролю	100	87,5±2,8***	70,0±3,7***	42,2±4,9***
Число зерен в колосе бокового стебля	шт.	8,1±1,1	2,7±1,1***	0,7±1,2***	1,4±1,1***
	% к контролю	100	32,9±14,7***	9,0±14,5***	17,7±13,8***
Масса зерна с колоса главного стебля	г	1,08±0,02	0,86±0,03***	0,54±0,03***	0,32±0,04***
	% к контролю	100	79,7±3,0***	50,5±2,8***	29,4±3,6***
Масса зерна с колоса бокового стебля	г	0,32±0,03	0,09±0,04***	0,02±0,03***	0,04±0,04***
	% к контролю	100	26,9±13,0***	5,2±4,2***	13,3±11,4***
Масса 1000 зерен	г	48,5±1,1	32,9±1,4***	44,4±1,1**	20,7±2,2***
	% к контролю	100	67,7±3,2***	91,5±3,0**	42,7±4,6***

Для всех вариантов было отмечено статистически значимое снижение числа стеблей с продуктивным колосом. При хроническом УФ-А-облучении с мощностью 2 Вт/м² и 4 Вт/м² число зерен в колосе главного стебля статистически значимо (p < 0,001) уменьшалось на 12 % и на 30 % в боковом стебле на 67 % и на 91 %, соответственно. Аналогично снижались и другие показатели урожайности, при мощности УФ-А-облучения 2 Вт/м² и 4 Вт/м² масса зерна с колоса главного стебля снижалась на 20 % и 49 %, а масса 1000 зерен снижалась на 9 % и 32 %, соответственно. Присутствие ультрафиолета В мощностью 0,5 Вт/м² при УФ-А 2 Вт/м² снижало массу зерна на 70 %, а массу 1000 зерен на 57 % от контрольного.

Таким образом, негативное воздействие УФ-В на порядок существеннее, чем УФ-А, что соответствует спектру действия [1], однако при их совместном действии эффект оказывается значительно ниже, хотя эффективная доза, рассчитанная по спектру действия будет выше, суммируя воздействие УФ-В и УФ-А. Возможно данный парадокс возникает из-за энергетического подхода к определению спектра действия УФ. Если рассматривать не энергии, а количество фотонов в общем потоке, то понятно, что при добавлении значительной доли УФ-А излучения к существующему УФ-В, удельное количество высокоэнергетичных фотонов УФ-В значительно падает, что может снижать вероятность их попадания на акцепторы и,

соответственно, снижать уровень негативного воздействия.

Поскольку при снижении уровня озонового слоя и, соответственно, возрастании уровня УФ-излучения на поверхности земли будет возникать не только УФ-В, но и значительно возрастет доля УФ-А-излучения, данный факт необходимо учитывать при прогнозах негативных последствий для растений.

Заключение

Среди глобальных экологических факторов, воздействующих на наземные экосистемы и, соответственно, на агросферу, особое место занимает УФ-излучение, интенсивность которого повышается при снижении концентрации стратосферного озона.

Первичное воздействие УФ на растения ячменя осуществляется через повреждения фотосистемы II, при остром облучении со временем активность фотосистемы может восстанавливаться, но сохраняются дозозависимые и адаптивные по своему характеру изменения в системе тепловой диссипации света излишней интенсивности.

При изучении воздействия острого УФ-облучения (А и А+В диапазонов) на формирование стрессового ответа растений на разных этапах органогенеза выявлены неоднозначные закономерности по изменению биохимических показателей в зависимости от стадии развития растений и спектра УФ. Из полученных данных следует, что острое УФ-А-облучение растений при суточной дозе 40 кДж/м^2 вызывало активизацию окислительного стресса растений начиная с фазы кущения вплоть до стадии колошения, тогда как совместное действие УФ-излучения А+В диапазонов при дозе 45 кДж/м^2 способствовало индукции окислительного процесса только в периоды кущение-выход в трубку.

В ответ на окислительные процессы в растениях развивались адаптационные механизмы – синтез свободного пролина и фенольных веществ. При анализе процесса накопления свободного пролина в листьях ячменя отмечены закономерности в зависимости от возраста растений и спектральных характеристик УФ-излучения. Увеличение содержания флавоноидов у ячменя наиболее выражено при действии острого УФ-В-облучения.

Формирование ответной реакции растений ячменя на действие острого УФ-излучения А и А+В диапазонов в разные этапы органогенеза происходило в условиях взаимодействия окислительных процессов и антиоксидантной защиты, зависящих от возрастных особенностей растений и спектральных характеристик УФ-радиации. В период образования вегетативных органов на активизацию окислительных процессов в растениях главным образом оказывало влияние УФ-В-излучение, тогда как в генеративный период развития растений, преимущественно УФ-А-радиация. Среди изученных компонентов антиоксидантной защиты (свободный пролин и флавоноиды) главенствующую роль в фотозащите выполняли флавоноиды, поскольку для поддержания гомеостаза растений в течение всей вегетации наблюдался существенный подъем аккумуляции флавоноидов как в случае действия УФ-А, так и наиболее выражено при влиянии УФ-В-радиации.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о значительном негативном эффекте именно УФ-В-облучения. В то же время снижение толщины озонового слоя не только добавляет в спектр более коротковолновую часть, но и значительно повышает интенсивность УФ-А-излучения.

Особенно ярко выражено негативное действие УФ-В-излучения на растения ячменя при хроническом облучении в больших дозах. Так, при хроническом облучении УФ-В в дозе 18 кДж/м^2 в сутки растения погибли уже после фазы 3-го листа. Суточная доза свыше 9 кДж/м^2 также является летальной (растения погибли на стадии выхода в трубку) при условии, что уровень УФ-А-излучения не превышает тех же 9 кДж/м^2. Если суточный уровень УФ-А-излучения составлял 36,5 кДж/м^2 при том же уровне УФ-В 9 кДж/м^2 растения все же смогли дать урожай.

Таким образом, изучение влияния острого и хронического УФ-В и УФ-А-облучения растений ячменя в условиях вегетационного эксперимента показало, что с увеличением дозы как УФ-В, так и УФ-А-

радиации, наблюдаются выраженные эффекты угнетающего действия: снижение уровня фотосинтезирующих пигментов, снижение урожайности, обусловленное как уменьшением количества зерен в колосе, так и массой зерен. Присутствие УФ-В-радиации повышает активность перекисного окисления липидов на 60 %, а также уровень флавоноидов на 100 % от контроля. В то же время сочетанное действие УФ-А и УФ-В при той же мощности излучения уменьшает концентрацию МДА на 100 % в листьях по сравнению с вариантом только УФ-В облучения, уровень флаваноидов при этом остается высоким, как и в случае только УФ-В-облучения. Это свидетельствует о «радиопротекторном» действии УФ-А на фоне УФ-В-облучения растений. Дополнительное действие УФ-А на фоне УФ-В-облучения ячменя способствовало формированию колоса и зерна, которые отсутствовали в случае только УФ-В-облучения.

Таким образом, негативное воздействие УФ-В на порядок существеннее, чем УФ-А, что соответствует спектру действия Колдвела и Флинта [1], однако при их совместном действии, эффект оказывается значительно ниже, хотя эффективная доза, рассчитанная по спектру действия будет выше, суммируя воздействие УФ-В и УФ-А.

Литература

1. *Caldwell M.M., Ballare C.L., Bornman J. et al.* Terrestrial ecosystems increased solar radiation and interactions with other climatic factors // Photochem. Photobiol. Sci. 2003. V. 2. P. 29–38.

2. *Strzhizhovskiĭ A.D.* Plant Reaction to Elevated Ultraviolet Irradiation: Potential Impacts Of Stratospheric Ozone Depletion // Radiation biology. Radioecology. 1999. V. 39. № 6. P. 683–692.

3. *Klem K., Holub P., Štroch M. et al.* Ultraviolet and photosynthetically active radiation can both induce photoprotective capacity allowing barley to overcome high radiation stress // Plant Physiology and Biochemistry. 2015. V. 93. P. 74–83.

4. Site data http://exp-studies.tor.ec.gc.ca/cgi-bin/selectMap

5. *Jansen M., Gaba V., Greenberg B.* Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation // Trends Plant Sci. 1998. V. 3. P. 131–135.

6. *Jordan B.* Molecular response of plant cells to UV-B stress // Funct. Plant Biol. 2002. V. 29. P. 909–916.

7. *Hollosy F.* Effects of ultraviolet radiation on plant cells // Micron. 2002. V. 33. P. 179–197.

8. *Brosche M, Strid A.* Molecular events following perception of ultraviolet-B radiation by plants // Physiol. Plant. 2003. V. 117. P. 1–10.

9. *Heath R.L., Packer L.* Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation // Archives of Biochemistry and Biophysics. 1968. V. 125. № 1. P. 189–198.

10. *Bates L.S., Waldern R.P., Teare I.D.* Rapid determination of free proline for water-stress studies // Plant and Soil. 1973. V. 39. № 1. P. 205–207.

11. *Tevini M., Iwanzik W., Thoma U.* Some effects of enhanced UV-B irradiation on the growth and composition of plants // Planta. 1981. V. 153. P. 388–394.

12. *Zadoks J., Chang T., Konzak C.* A decimal code for the growth stages of cereals // Weed research. 1974. V. 14. P. 415–421.

13. *Pfundel E.E.* Action of UV and visible radiation on chlorophyll fluorescence from dark-adapted grape leaves (*Vitis vinifera* L.) // Photosynth Res. 2003. V. 75. P. 29–39.

14. *Смоликова Г.Н., Лебедев В.Н. и др.* Динамика фотохимической активности фотосистемы II при формировании семян Brassica Nigra L. // Вестник С.-Пб университета. Физиология, Биохимия, Биофизика 2015. Сер. 3. Вып. 3. С. 53–65.

15. *Loriaux S.D., Avenson T.J., Welles J.M. et al.* Closing in on maximum yield of chlorophyll fluorescence using a single multiphase flash of sub-saturating intensity // Plant, Cell and Environment. 2013. V. 36. P. 1755–1770.

16. *Schreiber U.* Detection of rapid induction kinetics with a new type of high frequency modulated chlorophyll fluorometer // Photosynth Res. 1986. V. 9. N 1–2. P. 261–272.

17. *Alexieva V., Sergiev I., Mapelli S., Karanov E.* The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat // Plant Cell Environ. 2001. V. 24. P. 1337–1344.

18. *Carletti P., Masi A., Wonisch A. et al.* Changes in antioxidant and pigment pool dimension in UV-B irradiated maize seedlings // Environmental and Experimental Botany. 2003. V. 50. P. 149–157.

19. *Барабой В.А.* Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи современной биологии. 1991. Т. 1. № 6. С. 923–931.

20. *Бухов Н.Г.* Динамическая световая регуляция фотосинтеза // Физиология растений. 2004. Т. 51. С. 825–837.

21. *Соловченко А.Е., Мерзляк М.Н.* Экранирование видимого и УФ излучения как механизм

фотозащиты у растений // Физиология растений. 2008. Т. 55. № 6. С. 803–822.

22. *Запрометов М.Н.* Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. М., 1993. 150 с.

23. *Дубров А.П.* Генетические и физиологические эффекты действия УФ радиации на растения М.: Наука, 1968. 250 с.

24. *Ермаков Е.И., Канаш Е.В.* Современные проблемы УФ-В-радиации в экофизиологии и растениеводстве // Сельскохозяйственная биология. 2005. Т. 1. С. 3–19.

25. *Кузнецов В.В., Шевякова Н.И.* Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // Физиология растений. 1999. Т. 46. № 2. С. 321–336.

26. *Селезнева Е.М., Зяблицкая Е.Я., Гончарова Л.И.* Чувствительность зерновых культур к УФ-В стрессу на различных этапах органогенеза // Доклады РАСХН. 2000. № 5. С. 7–9.

27. *Lee D.W.* Anthocyanis in Autumn Leaf Senescence // Adv. Bot. Res. 2002. V. 37. P. 147–165.

28. *Hakala K., Jauhiainen L., Koskela T. et al.* Sensitivity of crops to increased ultraviolet radiation in northern growing conditions // Journal of Agronomy and Crop Science. 2002. V. 188. P. 8–18.

29. *Štroch M., Materová Z., Vrábl D. et al.* Protective effect of UV-A radiation during acclimation of the photosynthetic apparatus to UV-B treatment // Plant Physiology and Biochemistry. 2015. V. 96. P. 90–96.

30. *Tsygvintsev P.N.* Absorption of UV by barley at different stages of organogenesis // International Journal Of Applied And Fundamental Research. 2017. V. 10. N. 2. P. 283–289.

31. *McClure J.W.* Physiology and functions of flavonoids / In: The Flavonoids (*J.B. Harborne, T.J. Marby and H.Mabry, eds*). Academic Press. New York. 1975. V. 2. P. 970–1055.

Влияние ионизирующего излучения на возбудители болезней и насекомых-вредителей

Лой Н.Н.

ФГБНУ ВНИИ радиологии и агроэкологии

Проведен анализ литературы о влиянии ионизирующего излучения на возбудителей болезней и насекомых – вредителей. Показано, что восприимчивость фитопатогенных микроорганизмов к облучению широко варьирует у представителей разных систематических групп и зависит от стадии их развития, функционального состояния и условий культивирования. Установлены основные факторы, определяющие радиобиологические эффекты у насекомых. Приведены количественные соотношения между действием разных доз радиации и биологическим эффектом, зависимости радиочувствительности от пола, возрастной и стадийной разнокачественности развивающихся форм, видов ионизирующих излучений и условий облучения. Дано объяснение механизма действия ионизирующего излучения на патогенны и насекомых-вредителей на молекулярном уровне.

Ионизирующее излучение, возбудители болезней, насекомые-вредители, вирулентность и агрессивность патогена, жизнеспособность насекомых

В настоящее время вопросы качества и безопасности агропромышленной и пищевой продукции являются чрезвычайно актуальными. В современных технологических процессах, как правило, применяют химическую обработку сельскохозяйственной и пищевой продукции, использование которой ведет к загрязнению природной среды токсичными веществами и негативному влиянию на здоровье людей. Это вызывает необходимость внедрения более эффективных и экологически безопасных технологий, среди которых перспективными являются радиационные технологии (РТ) [1].

Радиационные технологии могут применяться в агросфере для (1) радиационной дезинсекции зерновых культур и бобовых перед закладкой на хранение для уничтожения насекомых-вредителей и (2) электронно-лучевой обработки посевного материала для уничтожения возбудителей болезней и повышения урожайности сельскохозяйственных культур.

Практическое использование РТ требует знания радиобиологических эффектов действия ионизирующих излучений на возбудителей болезней растений и насекомых-вредителей. В этой связи цель исследования – провести анализ литературы по влиянию ионизирующего излучения на возбудителей болезней и насекомых–вредителей.

Влияние ионизирующего излучения на возбудителей болезней

Воздействие вредных организмов – фитопатогенов и насекомых-вредителей, является одним из важных биотических факторов, оказывающих влияние на растения. По распространённости и причиняемому вреду среди болезней сельскохозяйственных культур лидирующее место занимают грибные листостебельные, такие как: виды ржавчины *(Puccinia* spp.), мучнистая роса (*Blumeria graminis*), септориозы (*Septoria* spp.), пиренофороз (*Pyrenophora* spp.), тёмно-бурая пятнистость *(Bipolaris sorokiniana* Shoem.), которые способны снизить урожайность на 30 % и выше при эфипитотиях [2].

Воздействие ионизирующих излучений (ИИ) на патоген приводит к различным отклонениям. По своей чувствительности к облучению споры возбудителей заболеваний отличаются друг от друга в десятки и даже в сотни раз. Факторами, влияющими на резистентность, являются многоклеточность, многоядерность, плоидность и др. [3]. Среди отдельных групп микрофлоры семян пшеницы бактерии оказались наименее, а грибы наиболее устойчивыми к действию гамма- и рентгеновского излучений [4].

Подавляющее действие на развитие бактерий оказывает доза облучения порядка

10 кГр. Облучение этой дозой прекращало рост грибов рода *Aspergillus,* тогда как для прекращения роста *Penicillium* sp. требовалось облучение дозой 10–30 кГр [5].

В условиях действия ИИ можно ожидать как снижения, так и увеличения вирулентности и агрессивности патогенов. Это подтверждено результатами исследований влияния γ-излучения на патогенные свойства уредоспор стеблевой ржавчины – *Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* Erikss. et Henn. (раса 11), в которых отмечено увеличение всхожести и вирулентности уредоспор после их облучения в дозах 15–50 Гр [6, 7] и отсутствие зависимости спорообразующей способности патогена от дозы облучения [8, 9]. Развитие ответных реакций растений пшеницы, облучённых в дозах 15, 30 и 50 Гр при воздействии патогена, показало, что вирулентность уредоспор зависела от сроков заражения и облучения: при облучении в момент проникновения в ткани гриба *P. tritici* она возрастала до 40 раз, а при облучении через двое суток после заражения, напротив, снижалась в 1,5–7,0 раз [7, 9]. Несмотря на различия в абсолютных величинах, выявлена одинаковая направленность изменения восприимчивости растений 15 сортов яровой и озимой пшеницы, облучённой на фазе всходов в дозе 21 Гр, к возбудителю стеблевой ржавчины *P. tritici*: сорта, относящиеся к группе умеренно-восприимчивых, в основном не изменяли своей предрасположенности к инфекции. Совместное действие облучения и заражения растений пшеницы стеблевой ржавчиной в фазу колошения провоцировало потерю урожая зерна в зависимости от дозы облучения дополнительно до 50 % по сравнению с облучёнными, но незаражёнными патогеном растениями.

При изучении влияния γ-облучения на прорастание и жизнеспособность уредоспор возбудителя бурой ржавчины пшеницы *Puccinia recondita* было установлено, что дозы от 200 до 800 Гр стимулируют прорастание уредоспор, повышают их жизнеспособность и патогенность, уменьшение количества проросших спор начинается с дозы 1,0 кГр, а при дозе 2,5 кГр прорастание спор уменьшается в 2 раза [10].

Есть сведения, что ионизирующие излучения вызывают серьезные изменения в расовом составе патогенов.

Для многих грибов подавление прорастания спор происходит при более высоких дозах радиации, чем подавление роста мицелия. Чувствительность уредоспор *M. lini* и *Puccinia* spp. повышается при содержании в них влаги выше 45 % [11].

При изучении изменения под действием рентгеновского и гамма-облучения хламидоспор 3-х видов грибов (*Tilletia foetida, T. triticoides, T. nanifica*), паразитирующих на пшенице, и 3-х видов *Ustilago hordei, U. nuda, U. nigra*, паразитирующих на ячмене, было показано, что виды *Ustilago* оказались устойчивыми к действию излучений. Снижение прорастания хламидоспор наблюдалось только с дозы 100 Гр, однако процент прорастания оставался довольно высоким вплоть до дозы 1,25 кГр. Прорастание отмечалось даже при 7,0 кГр и полностью угнеталось лишь при дозе облучения 1,0 кГр. Наиболее устойчивым был гриб *U. nigra* [12].

У видов *Tilletia* наблюдалось заметное снижение процента облученных хламидоспор при дозе 100 Гр, при 1,25 кГр прорастание снижалось на 50 %, а при 5,0 кГр, за исключением наиболее устойчивого *T. nanifica*, прорастание совершенно прекращалось [12].

Базидиомицетный гриб *Cryptococcus neoformans* обладает высокой радиационной стойкостью и обнаружен в смертельных радиоактивных средах, таких как поврежденный ядерный реактор в Чернобыле. Чтобы выяснить механизмы, лежащие в основе фенотипа радиационной устойчивости *C. neoformans*, были идентифицировали и охарактеризованы гены, меняющие экспрессию при воздействии гамма-излучения с помощью транскриптомного анализа [13]. Обнаружено, что гены, вовлеченные в системы восстановления повреждений ДНК, активируются в ответ на гамма-излучение. В частности, делеция рекомбиназы RAD51 и двух ДНК-зависимых генов АТФазы, RAD54 и RDH54 увеличивала клеточную восприимчивость как к гамма-излучению, так и к агентам, повреждающим ДНК. Разнообразные гены реакции на окислительный стресс также были активированы. Среди них сульфиредоксин способствовал устойчивости к гамма-излучению независимо от

пероксиредоксина/тиоредоксина. Кроме того, обнаружено, что гены, вовлеченные в экспрессию молекулярного шаперона, системы убиквитинирования и аутофагию, были индуцированы, тогда как гены, вовлеченные в биосинтез белков и жирных кислот/стеринов, были подавлены. Авторы обнаружили ряд новых генов *C. neoformans*, экспрессия которых модулировалась воздействием гамма-излучения, а их делеция делала клетки восприимчивыми к воздействию гамма-излучения, а также к повреждениям ДНК. Среди этих генов обнаружено, что уникальный фактор транскрипции, содержащий основной домен лейциновой молнии, названный Bdr1, служил регулятором устойчивости *C. neoformans* к гамма-излучению путем контроля экспрессии генов репарации ДНК, а его экспрессия регулировалась эволюционно консервативной реакцией повреждения ДНК протеинкиназой Rad53. Взятые вместе нынешний транскриптомный и функциональный анализы способствуют пониманию уникального молекулярного механизма радиационно-стойкого гриба *C. neoformans*.

Влияние ионизирующего излучения на насекомых-вредителей

В настоящее время имеются данные о радиочувствительности нескольких десятков видов насекомых, относящихся к более чем семи отрядам. Ведущим фактором, определяющим жизнеспособность насекомых, является доза облучения. Величина абсолютной летальной дозы ($ЛД_{100}$) зависит от вида насекомых и стадии развития и изменяется в пределах от 30 до 3500 Гр. Данный показатель определен для отдельных представителей ряда отрядов насекомых как для имагинальных, так и для преимагинальных фаз онтогенеза [14–17].

Экспериментально установлено различие в радиочувствительности особей противоположного пола, а именно – у одних насекомых большей радиочувствительностью обладают самцы, у других видов – самки.

От радиочувствительности насекомых зависит величина стерилизующей дозы. Диапазон доз, вызывающих стерилизацию для большинства исследуемых видов насекомых, находится в пределах от 60 до 100 Гр [14]. При облучении насекомых (самок) субстерилизующими дозами наблюдается снижение плодовитости не только у особей, подвергшихся непосредственно облучению, но и у самок последующих поколений. Наряду с этим отмечается повышение смертности преимагинальных стадий, увеличение периода развития. Одновременно наблюдается сдвиг соотношения полов в дочернем поколении, как правило, в сторону самцов. Облучение субстерилизующими дозами нередко может оказать угнетающее действие на жизненные функции организма, вызывая снижение активности насекомых.

Ингибирующий эффект ионизирующих излучений на функциональную деятельность организма находится в прямой зависимости от дозы облучения. Даже незначительные дозы (порядка единиц Гр) способны вызвать морфологические изменения у насекомых, либо даже стерилизацию части популяции.

Анализ работ по влиянию ИИ на насекомых [1] позволил сформулировать основные положения по чувствительности насекомых-вредителей к действию радиации:

– Радиочувствительность насекомых меняется в процессе их развития. Наиболее чувствительны к ионизирующим излучениям эмбрионы ранних периодов развития и личинки; относительно резистентны к действию радиации куколки поздних возрастов. Большинство исследователей считают, что $ЛД_{100}$ варьирует в зависимости от стадийной разнокачественности к радиации той или иной фазы метаморфоза для эмбрионов в пределах 1–250 кГр, личинок – 20–150 кГр, куколок 20–250 кГр.

– Как и другие представители животного мира, насекомые дифференцированно реагируют на режим облучения и мощность дозы. По заключению большинства исследователей, фракционированное облучение дает меньший эффект, чем одномоментное применение дозы. С увеличением мощности дозы эффект усиливается. Однако при больших дозах мощность дозы мало влияет на характер радиационного эффекта.

– Облучение насекомых в условиях повышенного содержания кислорода усиливает радиационный эффект, а облучение в атмосфере водорода, азота, углекислоты, в

воздухе, содержащем малое количество кислорода, повышает их радиорезистентность.

– Изменение температурного режима в момент облучения в пределах от -20 до +50 ^{0}С не влияет на характер лучевого поражения насекомых. Выдерживание насекомых после облучения при низких температурах снижает радиационный эффект. Высокая температура ускоряет гибель облученных насекомых.

– На радиочувствительность насекомых оказывают влияние качественный состав потребляемой ими пищи и режим питания после облучения. Содержание насекомых на преимущественно углеводном рационе несколько повышает их устойчивость к радиации. Насекомые и клещи, находящиеся в голодном состоянии, оказываются более резистентными к действию радиации, чем особи, которые после облучения получают пищу.

Вред от насекомых-вредителей в агроценозах в условиях облучения сохраняется [18]. Радиочувствительность насекомых определяется разнообразием форм и биологических особенностей их развития и размножения. Различия проявляются как на уровне систематических таксонов, так и в зависимости от фазы развития насекомых. Насекомые-паразиты отличаются более высокой устойчивостью к облучению по сравнению с насекомыми-фитофагами, что обусловлено различиями в метаболизме, в частности, процессов аноксибиотического расщепления органических веществ, свойственных только ведущим паразитический образ жизни насекомым [19].

Одним из вредоносных и опасных для зерновых культур является клоп вредная черепашка (*Euryguster integriceps* Put.), поскольку вызываемые им повреждения приводят не только к потере урожайности, но и резкому ухудшению технологических и репродуктивных свойств семян. В модельном опыте [20] показатель выживаемости личинок клопов вредной черепашки, отродившихся из облучённых в дозах 0,5–50 Гр яиц, зависел как от фазы развития, на которой произошло воздействие, так и от дозы облучения. Доза 50 Гр оказалась гибельной для личинок всех возрастов. Через месяц после воздействия в дозе 0,5 Гр на 1 этапе органогенеза гибель личинок (% к числу отродившихся) составила около 47 %, на 2 и 3 этапах 100-процентную гибель личинок наблюдали при воздействии в дозе 20 Гр, а при облучении на 4 и 5 этапах – 30 и 50 Гр соответственно. При этом менялось соотношение полов молодых имаго (смещение в сторону увеличения числа самок). Установлено, что выживаемость личинок F1, отродившихся из яиц клопов вредной черепашки, отложенных облучёнными самками родительского поколения, также зависела от дозы облучения (отмечена как стимуляция, так и угнетение).

Полученные данные свидетельствуют о том, что возникающие после облучения эффекты у насекомых могут быть кратковременными, имеющими место в течение нескольких суток при переходе из одной фазы в другую, или длительными, сохраняющимися в течение одной (или нескольких) генераций. И в том, и в другом случаях эти изменения необходимо принимать во внимание при оценке продуктивности ценозов и определении состояния сельскохозяйственных растений [21].

Радиация повреждает клетки, вызывая в них ионизацию [22–24]. Вода, которая составляет большую часть клеточной массы, ионизируется и разлагается с образованием очень нестабильного окисляющего свободного радикала, такого как гидроксил и пергидроксил (HO_2-), и окисляющих соединений, таких как H_2O_2 и органические пероксиды. Наличие кислорода усиливает действие радиации, в то время как увеличение аноксии и присутствие таких восстанавливающих агентов, как цистеин, уменьшает летальные эффекты от радиации. Излучение мешает делению клеток. Это, в основном, связано с ингибирующим влиянием на синтез ДНК. Считается, что это происходит из-за повреждения матрицы ДНК или фермента Корнберга (ДНК-полимеразы). Репродуктивная способность клетки гораздо более чувствительна к радиации, чем ее другие функции, связанные с содержанием ДНК.

Основным фактором, определяющим чувствительность ткани к ионизирующему излучению, является способность клетки делиться и ее интенсивность. Поэтому ткани с

интенсивно делящимися клетками являются наиболее чувствительными.

Таким образом, устойчивость фитопатогенных микроорганизмов и насекомых-вредителей к действию ионизирующего излучения представляет собой сложное явление, широко варьирующее у представителей различных систематических групп и зависящее от стадии их развития, функционального состояния и условий культивирования, дозы и мощности излучения.

Литература

1. Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности / Под ред. *Г.В. Козьмина, С.А. Гераськина, Н.И. Санжаровой*. Обнинск: ВНИИРАЭ, 2015. 400 с.

2. *Sanin S.S., Nasarova L.N., Ibragimov T.Z., Sokolova E.A*. The epidemiological situation on cereal crop in European Russia // J. Russ. Phytopath. Soc. 2000. V. 1. P. 1–9.

3. *Sommer N*. The effect of ionizing radiation on fungi // Techn. Repts. Ser. Int. Atom. Energy Agency, 1973. N. 149. P. 73–79.

4. *Подъяпольская О.П.* Действие различных доз ионизирующих излучений на микроорганизмы зерна // Труды ВИЗР. 1959. Т. 36. С. 84–104.

5. *Shathele M.S.* Effects of Gamma Irradiation on Fungal Growth and Associated Pathogens // Research J. Environmental Toxicology. 2009. V. 3. P. 94–100.

6. *Филипас А., Ульяненко Л*. Действие ионизирующих излучений на агробиоценозы. Радиобиологические последствия острого и хронического облучения основных компонентов //Palmarium Academic Publishing, 2012. 72 с.

7. *Лой Н.Н*. Влияние ионизирующего излучения на поражаемость растений пшеницы стеблевой ржавчиной. Автореф. дисс. на соиск. уч. ст. к.б.н. Обнинск, 1995. 23 с.

8. *Лой Н.Н., Юланов В.П.* Влияние ионизирующей радиации на спорулирующую активность стеблевой ржавчины пшеницы // Доклады РАСХН. 1997. № 2. С. 19–20.

9. *Филипас А.С., Лой Н.Н., Ульяненко Л.Н., Степанчикова Н.С.* Поражение сортов мягкой пшеницы стеблевой ржавчиной при раздельном и совместном облучении компонентов ценоза //Доклады РАСХН. 2008. № 6. С. 18–20.

10. *Зедгинидзе И.А., Зедгинидзе Н.Д.* Влияние гамма-облучения на энергию прорастания уредоспор возбудителя бурой ржавчины пшеницы *Puccinia recondite* // XXX Труды НИИ защиты растений. Тбилиси, МСХ Груз. ССР. 1979. С. 134–135.

11. *Виллисон Р.* Использование ионизирующей радиации для борьбы с болезнями растений // Сельское хозяйство за рубежом. Растениеводство. 1964. № 8. С. 55–58.

12. *Сэвулеску А., Бечереску Д.* Влияние жестких электромагнитных излучений на прорастание хламидоспор некоторых видов головневых // Rev. bid. (RPP). 1962. №7. С. 79–84.

13. *Jung K.W., Yang D.H., Kim M.K., Seo H.S., Lim S., Bahn Y-S*. Unraveling fungal radiation resistance regulatory networks through the genome-wide transcriptome and genetic analyses of *Cryptococcus neoformans*. MBio. 2016. V. 11. 29; 7(6).

14. *Калмыков П.Г.* Влияние ионизирующих излучений на насекомых. М.: Атомиздат, 1970. 144 с.

15. *Филипас А.С.* Агроценозы в условиях радиоактивного загрязнения: состояние и радиобиологические последствия. Дисс.…доктора биол. наук. Обнинск: ВНИИРАЭ, 2003. 214 с.

16. *Филипас А.С., Ульяненко Л.Н., Арышева С.П., Лой Н.Н., Маркина А.В.* Особенности развития популяций насекомых фитофагов в условиях действия ионизирующих излучений / В кн.: Труды регионального конкурса научных проектов в области естественных наук. Калуга, Издательский дом «Эйдос», 2005. Вып. 8. С. 287–292.

17. United Nations. Sources and Effects of Ionizing Radiation. United Nations Scientific Committee on the Atomic Radiation. Report to the General Assembly, with Scientific Annex. Annex E. Effects of Ionizing Radiation on Non-Human Biota. UN, New York, 2008. P. 221–313.

18. *Филипас А.С., Ульяненко Л.Н.* Влияние хронического облучения на развитие популяций насекомых //Радиоэкологические аспекты и проблемы защиты растений от болезней и вредителей на загрязнённой радионуклидами территории. Киев-Чернобыль, 2012. 187 с.

19. *Захваткин Ю.А*. Курс общей энтомологии. М.: Агропромиздат, 1986. 319 с.

20. *Филипас А.С., Ульяненко Л.Н., Лой Н.Н*. Изучение особенностей развития популяций насекомых-фитофагов, представителей различных таксономических групп, в условиях действия ионизирующих излучений / В Кн: Труды регионального конкурса научных проектов в области естественных наук. Калуга: Из-во АНО «Калужский научный центр», 2006. Вып. 10. С. 330–339.

21. *Ульяненко Л.Н., Удалова А.А.* Оценка состояния окружающей среды по реакции сельскохозяйственных растений на действие ионизирующих излучений // Радиация и риск. 2015. Т. 24. № 1. С. 118–132.

22. *Elgazzar A.H., Kazem N.* Biological Effects of

Ionizing Radiation / In: The Pathophysiologic Basis of Nuclear Medicine. 2006. P. 540–549.

23. *Parker J.A., Darby J.L.* Particle-associated coliform in secondary effluents: Shielding from ultraviolet light disinfection // Water Environ. Res. 1995. V. 67. P. 1065–1075.

24. *Sommer, C.H., Glenn B.* Variations in the radiation sensitivity of foodborne pathogens associated with complex ready-to-eat food products// Radiat. Phys. Chem. 2006. V. 75. P. 773–778.

Транспорт радиоактивных частиц и распределение поглощенных доз в желудочно-кишечном тракте свиней

Шаповалов С.Г.[1], Снегирев А.С.[1], Козьмин Г.В.[1], Расин И.М.[1], Бударков В.А.[2]

1 – ФГБНУ ВНИИ радиологии и агроэкологии
2 – ФГБНУ Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии, пос. Вольгинский

Представлены закономерности транспорта радиоактивных частиц и формирование поглощённых доз β-излучения в отделах желудочно-кишечного тракта свиней. Разработана камерная модель транспорта частиц в пищеварительном тракте животных. За основу математической модели приняты результаты радиобиологических экспериментов, выполненных на 14 подсвинках возрастом 2–2,5 месяца с массой 25–30 кг. Кинетические параметры камерной модели использованы для расчёта поглощенных доз β-излучения в поверхностном слое слизистой оболочки желудка, тонкого и толстого отделов кишечника после однократного поступления с кормом силикатных радиоактивных частиц, содержащих в своём составе продукты ядерного деления. Показано, что 90 % поглощенной дозы β-излучения в желудке формируется за 15 часов, в тонком и толстом кишечнике за 22 и 34 часов соответственно. Неравномерность распределения мощностей поглощённых доз в желудке достигает 20 раз. Максимальные уровни облучения локальных участков слизистой оболочки могут превышать среднее значение мощности поглощённой дозы более, чем в три раза. Закономерности формирования поглощённых доз β-излучения молодых продуктов ядерного деления предопределяют клиническую картину язвенного радиационного поражения пищеварительного тракта.

Радиоактивные частицы, отделы желудочно-кишечного тракта свиней, математическая модель транспорта, константы скорости транспорта, поглощенные дозы

Прогнозирование исхода радиационного поражения сельскохозяйственных животных при загрязнении окружающей среды и кормов «горячими» радиоактивными частицами (РЧ) является важной задачей радиоэкологии и ветеринарной радиобиологии. Постановка таких задач обусловлена необходимостью оценки влияния на организм человека, сельскохозяйственных животных и биоту радиоактивных выпадений в виде частиц разной растворимости, образованных в результате ядерных испытаний, мирных ядерных взрывов, радиационных аварий, а также вследствие эксплуатации ядерно-энергетических установок [1–3]. В частности, характерной особенностью крупных радиационных аварий на ЧАЭС (Украина) и Фукусима-1 (Япония) является наличие в радиоактивных выпадениях высокоактивных труднорастворимых частиц облученного ядерного топлива [2, 4]. В составе выпадений после аварии на АЭС «Фукусима-1» (Япония) наряду с топливными частицами присутствовали силикатные радиоактивные частицы, образованные вследствие взрыва водорода и оплавления бетонных конструкций [4].

В настоящее время большинство публикаций, затрагивающих область сельскохозяйственной радиоэкологии, касается вопросов поведения радиоактивных выпадений в растворимой форме и миграции радионуклидов в пищевых цепочках сельскохозяйственных животных [5,6]. Современная профильная литература располагает значительным запасом накопленного материала по вопросам защиты человека и сельскохозяйственных животных от ионизирующих излучений [7], наряду с этим, сведения о радиационных поражениях отделов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) радиоактивными частицами практически не имеют освещения

в общедоступной современной литературе. Большинство авторов сходятся во мнении о том, что растворимые продукты ядерного деления распределяются в содержимом ЖКТ строго равномерно [8]. Иначе ведут себя оплавленные радиоактивные частицы, которые, попадая с кормом в ЖКТ, распределяются неравномерно. При этом возможно наличие участков в ЖКТ, где дозовые нагрузки могут превышать средние значения в несколько раз [9] и являются причиной очагового язвенного поражения слизистой оболочки.

В связи с вышеперечисленным, целью данной работы стал анализ закономерностей транспорта радиоактивных частиц в желудочно-кишечном тракте свиней и формирования поглощённых доз в результате β-облучения слизистой оболочки пищеварительного тракта животных. Актуальность работы также обусловлена схожестью строения и ферментативного профиля пищеварительного тракта свиней и человека [10]. Отмеченное обстоятельство даёт основание для процедуры экстраполяции радиобиологических эффектов, обусловленных воздействием горячих радиоактивных частиц, применительно к желудочно-кишечному тракту человека.

Материалы и методы

В качестве исходных данных были использованы результаты экспериментов, выполненных на базе уникального радиологического комплекса ФИЦВиМ, созданного в конце 60-ых гг. прошлого столетия под научным руководством профессора И.А. Чистякова. Санитарным паспортом на технологические системы комплекса регламентирована приёмка до 1,11 ТБк/год (30 Ки/год) молодых продуктов ядерного деления, их расфасовка, дистанционная доставка в кормушки животных и на конечном этапе – бездымная утилизация органических радиоактивных материалов.

Экспериментальные исследования проводили на 14 подсвинках возрастом 2–2,5 месяца и массой от 25 до 30 кг, благополучных по инфекционным и инвазионным заболеваниям. Перед началом опыта животных в течение 2–3 недель приучали к полному поеданию корма, в который предполагалось вносить силикатные оплавленные радиоактивные частицы (ОРЧ) «урановой» модели [11]. Для получения радиоактивных частиц «урановой» модели, разработанной А.А. Тер-Сааковым и В.Д. Куринным, силикатные ОРЧ с размерами 80–160 мкм, на поверхность которых наносились соли ^{235}U (уранил $UO_2(NO_3)26H_20$), активировались в потоке тепловых нейтронов. При этом осколки продуктов деления распределялись в поверхностном слое стеклосфер. Модель имитирует характеристики частиц локальных выпадений в период ядерных испытаний. Радиобиологические эффекты частиц «урановой» модели у сельскохозяйственных животных могут быть использованы для прогноза радиологических последствий в животноводстве отдельных сценариев развития крупных радиационных аварий на ядерно-энергетических установках, например, в случае загрязнения природной среды силикатными частицами с произвольным радионуклидным составом и/или частицами облучённого топлива. Удельная активность модельных частиц на время их поступления в организм животных составляла 3,7 ГБк/г.

Специальные алюминиевые блочки с оплавленными радиоактивными частицами массой до 4 г в каждой кварцевой ампуле после транспортировки с ядерного реактора вскрывали в камере 2УКЗ с помощью манипуляторов, высыпали в кормушку, содержащую 100 г комбикорма, и сверху присыпали небольшим количеством корма. После транспортировки кормушки ее устанавливали в индивидуальной обменной клетке каждого животного, в которой животное находилось в период всего времени наблюдения. Потребление подсвинками ОРЧ контролировали измерением радиоактивности кормушки до и после скармливания.

Регулярно выполняли полный сбор выделений фекалий со взвешиванием и отбором средних проб для каждого животного. Для изучения динамики распределения частиц в пищеварительном тракте проводили убой через разные промежутки времени после однократного поступления частиц с кормом (табл. 1). При убое осуществляли анатомическую разделку ЖКТ животных по всем

его отделам с предварительной перевязкой каждого из них. Желудок, тонкий и толстый отделы кишечника раздельно взвешивались с содержимым и без него, а затем отбирались средние пробы содержимого и стенок отделов ЖКТ. Средняя масса содержимого рассматриваемых отделов ЖКТ, полученная на 14 свиньях составила: для желудка (m_1) – (1000±105) г, для тонкого кишечника (m_2) – (500±65) г, для толстого кишечника (m_3) – (940±130) г.

Радиометрию проб по β-излучению выполняли счетчиком Т-25-БФЛ на радиометрической установке «Волна» (Россия), а радиометрию по γ- и тормозному излучению β-частиц продуктов ядерного деления – с использованием сцинтилляционного счетчика УСС-1 (Россия), а также колодезной ионизационной камеры VAK-254 эталонного гамма-дозиметра VAJ-18 (Германия). Результаты радиометрического анализа позволили определить динамику изменения во времени содержания ОРЧ в желудке и в кишечнике пищеварительного тракта после однократного поступления радиоактивных частиц. Полученные данные о содержании ОРЧ в отделах ЖКТ в % от поступившего количества частиц (то есть без учета радиоактивного распада) представлены в таблице 1.

Таблица 1

Среднее содержание ОРЧ (% от поступившего количества) в отделах ЖКТ свиней в зависимости от времени после однократного поступления ОРЧ с кормом

Время убоя, час	Количество животных	Отделы ЖКТ		
		Желудок	Тонкий кишечник	Толстый кишечник
2	1	86,4 ± 17,3	2,4 ± 0,4	0,08 ± 0,01
4	3	77,4 ± 15,5	4,5 ± 0,8	6,4 ± 1,5
8	2	61,1 ± 12,2	13,0 ± 2,6	13,0 ± 3,3
12	2	47,2 ± 9,4	17,1 ± 3,7	23,6 ± 4,7
14	1	37,6 ± 7,5	9,1 ± 1,8	19,9 ± 3,9
18	2	3,1 ± 0,7	9,0 ± 1,2	46,2 ± 7,5
24	2	12,6 ± 3,7	4,4 ± 0,9	32,3 ± 4,9
34	1	2,7 ± 0,5	1,0 ± 0,2	21,3 ± 4,3

Анализ данных таблицы 1 проводили с помощью камерного анализа – общепринятого методического подхода для определения параметров транспорта в ЖКТ кормовых масс, радиоактивных материалов, а также оценки показателей метаболизма радионуклидов в организме животных [12]. На рисунке 1 показана камерная модель пищеварительного тракта свиней, использованная для описания динамики содержания радиоактивных частиц в отделах ЖКТ.

В модели используются следующие параметры транспорта, представленные на рисунке 1:

q_0 – количество ОРЧ, однократно поступившее с кормом в организм свиньи (100 %);

τ – время задержки выведения ОРЧ из желудка свиней, ч;

q_1, q_2, q_3 – содержание ОРЧ (% от поступившего количества) в отделах ЖКТ на момент времени t, ч;

V – содержание ОРЧ в резервуаре выведения (%) к моменту времени t;

k_1, k_2, k_3 – константы скорости выведения ОРЧ для каждого из отделов ЖКТ, $ч^{-1}$.

Расчеты выполнялись путем решения системы дифференциальных уравнений в аналитическом виде и применения численных методов расчета с помощью многофункциональной интерактивной вычислительной системы PTC Mathcad Prime 4.0.

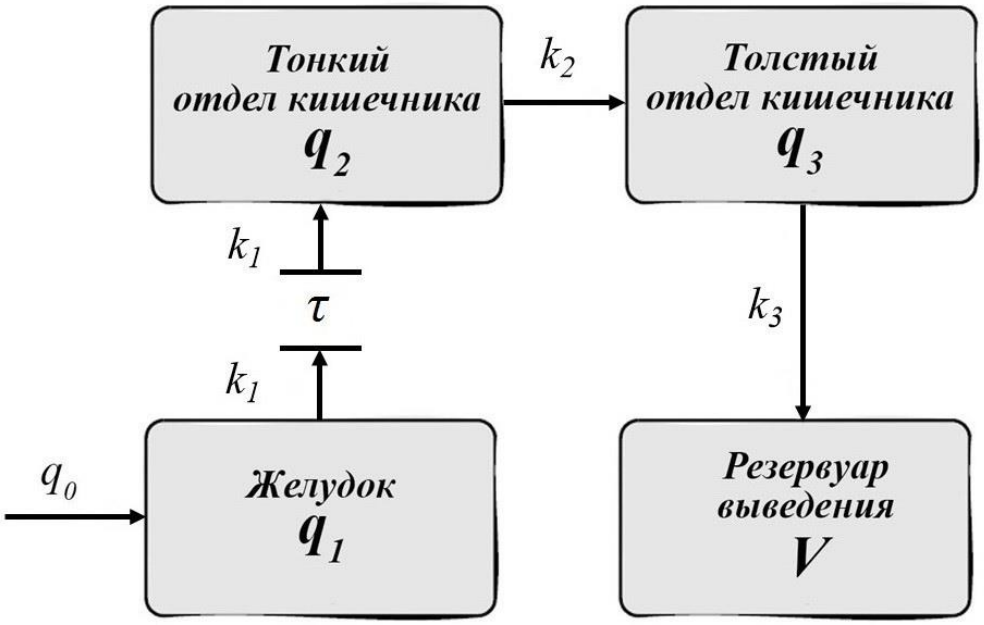


Рисунок 1. Камерная модель транспорта ОРЧ в ЖКТ свиней

Значения констант скорости транспорта ОРЧ определяли с использованием критериев адекватности результатов математического моделирования данным, полученным в результате эксперимента, путем комбинаторного перебора параметров вышеуказанной модели. В качестве первого критерия адекватности был выбран коэффициент детерминации (R^2), значения которого варьируются в пределах от 0 до 1. Наибольшая адекватность описания экспериментальных результатов достигается при приближении значения коэффициента детерминации к 1. Высокая степень корреляции с экспериментальными данными достигается при значения превышающих 0.75 [13]. В качестве второго критерия выступал коэффициент несовпадения Тейла (U) который при приближении к 0 иллюстрирует наибольшую адекватность соответствия модельных значений экспериментальным данным [13]. Таким образом, достижение максимального значения коэффициента детерминации и, в свою очередь, минимального значения коэффициента несовпадения Тейла одновременно для всех камерах математической модели должно демонстрировать наиболее адекватную корреляцию расчетных и эмпирических данных.

Расчет средней мощности дозы β-излучения $P_i(t)$ в i-ых отделах ЖКТ (i=1, 2, 3) проводили согласно выражению:

$$\overline{P_i}(t) = 2{,}88 \cdot 10^{-5} \cdot C_i(t-\tau) \cdot \overline{E_\beta}(t) \cdot \eta(t), \quad (1)$$

сГр/ч

где:

$2{,}88 \cdot 10^{-5}$ – коэффициент, учитывающий размерность и геометрию облучения. Принято, что облучение слизистой оболочки отделов ЖКТ происходит в 2π- геометрии;

$C_i(t-\tau)=q_i(t-\tau)/m_i$ – удельная массовая активность содержимого (Бк/г) рассматриваемого *(i)* отдела ЖКТ на время t, ч. τ – время задержки выведения ОРЧ из желудка свиней. При $t<\tau=2$ ч $q_1(t-\tau)= q_0$ (однократно поступившая в желудок активность), $q_2(t-\tau)= q_3(t-\tau)=0$.

$\overline{E_\beta}(t)$ – средняя энергия β-излучения, МэВ;

$\eta(t)$ – функция Вэй-Вигнера [11], учитывающая радиоактивный распад продуктов ядерного деления (ПЯД), отн. ед.:

$\eta(t)= [(t_0+t)/t_0]^{-n}$, где n=1,05±0,01, t_0 – возраст молодых продуктов ядерного деления (время, прошедшее после активации частиц на ядерном реакторе, как правило, составляющее в экспериментах от 10 до 15 ч [11].

Расчет динамики формирования

средней поглощенной дозы β-облучения слизистой оболочки в отделах ЖКТ свиней проводился согласно формуле:

$$\overline{D_i}(t) = \int_0^t P_i(t)dt, \text{ сГр} \quad (2)$$

Поглощенные дозы β-излучения на поверхности слизистой пищеварительного тракта животных измеряли с использованием термолюминесцентных детекторов на основе порошкообразного фтористого лития марки Dohna-lum LiF 200 Ti [14, 15]. Навески порошка массой 17 ± 5 мг помещали в квадратные пакетики площадью 55 ± 10 мм^2, изготовленные из лавсановой пленки толщиной 1,6 мг/см^2. Для исключения проникновения жидкой компоненты содержимого ЖКТ в порошкообразный люминофор равномерно распределенные детекторы помещали между двух слоев лавсановой пленки. Общая площадь каждого из наборов детекторов составляла от 40 см^2 и более, а полная толщина экранирующей пленки – 3,2 мг/ см^2.

Градуировку детекторов проводили на поверхности толстослойного источника. Эталонный источник готовили из тканеэквивалентной массы (творог массой 255 г), в которую вносили 5 г ОРЧ и тщательно перемешивали. Мощность поглощенной дозы β-излучения на поверхности эталонного источника определяли согласно выражению:

$$P(t) = 2{,}88 \cdot 10^{-5} \cdot C_0 \cdot \eta(t) \cdot E_\beta(t), \text{ сГр/ч} \quad (3)$$

где:

C_0 – удельная массовая активность эталонного источника, Бк/г через t_0=15 ч после облучения модельных частиц на реакторе в потоке тепловых нейтронов;

$E_\beta(t)$ – средняя энергия β-излучения частиц «урановой» модели (рис. 2), МэВ.

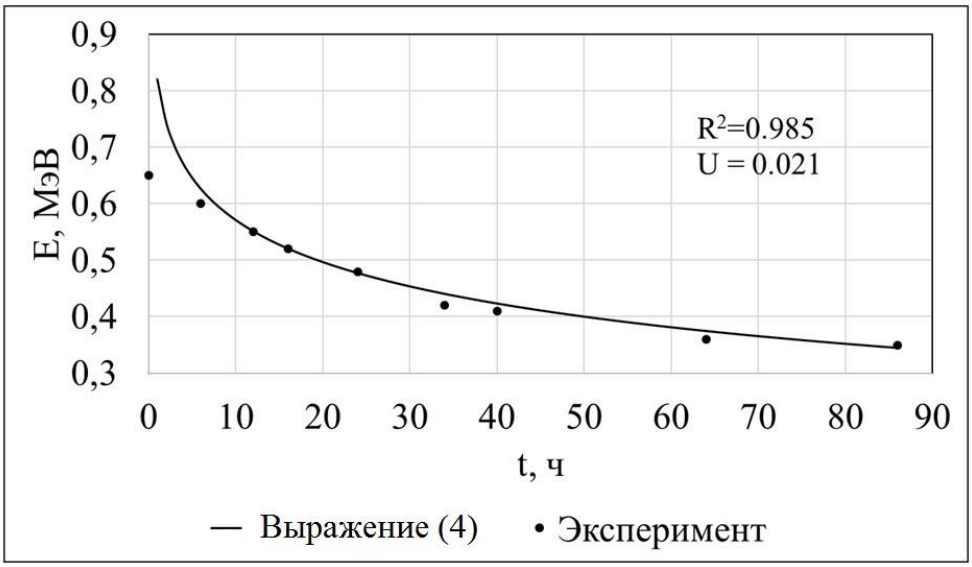


Рисунок 2. Зависимость энергии β-излучения ПЯД возрастом 10 ч от времени
• экспериментальные значения [11, 16], — приближение по формуле (4)

Как видно из рис. 2 при t ⩾ 4 ч зависимость $E_\beta(t)$ может быть представлена в виде:

$$E_\beta(t) = 0{,}82 + 10^{-4} \cdot t - 0{,}25 \cdot lg(t) \quad (4)$$

Изготовленные наборы детекторов размещали на поверхности эталонного источника, накрывали тканеэквивалентным блоком и экспонировали в холодильной камере. Измерение световыхода детекторов при термовысвечивании выполняли на установке VAM-30 (Германия). Результаты измерений по 49 детекторам показали, что максимальное и минимальное значения световыхода отличались друг от друга не более чем на 33 %, а дисперсия среднего значения составила 8,3 % [17]. Методические исследования показали, что эффективность регистрации поглощенных доз β-излучения отдельными частицами LiF одинакова для β-излучателей со средней энергией от 0,24 до 0,93 МэВ [16].

С учетом данного обстоятельства запасенная светосумма кривой термовысвечивания в порошкообразных детекторах будет прямо пропорциональна средней поглощенной в детекторах дозе. Отношение средней поглощенной дозы в детекторах к поглощенной дозе на поверхности эталонного источника составило k = 0,37 ± 0,05 и было использовано для экспериментальной оценки дозовой нагрузки β-излучения на слизистую ЖКТ.

Для исследования распределения поглощенной дозы β-излучения по поверхности слизистой оболочки желудка после убоя животного желудок немедленно замораживали жидким азотом, чтобы максимально избежать перераспределения ОРЧ в содержимом. После полного замораживания содержимого стенку желудка оттаивали, отслаивали от содержимого и между стенкой и замороженным содержимым размещали наборы детекторов. Экспонирование детекторов проводили в холодильной камере.

Измеренную среднюю поглощенную в детекторах дозу β-излучения представляли в виде:

$$D(t_2;t_3) = \int_{t_2}^{t_3} P(t_2)\cdot\frac{\eta(t)}{\eta(t_2)}\cdot\frac{E_\beta(t)}{E_\beta(t_2)}\cdot dt\ , \qquad (5)$$

где $D(t_2; t_3)$ – средняя поглощенная доза β-излучения, зарегистрированная детекторами за время экспонирования детекторов $t_э = t_3 - t_2$;

$P(t_2)$ – мощность средней поглощенной дозы в детекторе на момент их закладки t_2;

Начало отсчета всех временных интервалов проводится с момента однократного поступления в организм животных с кормом модельных ОРЧ через 10–15 ч охлаждения после активации частиц (возраст ПЯД).

Времена закладки детекторов и продолжительность экспонирования выбирали таким образом, чтобы изменением средней энергии β-излучения в период экспонирования можно было пренебречь, то есть $E_\beta(t)/E_\beta(t_2) \approx 1$. В этом случае мощность поглощенной дозы на поверхности стенки слизистой отдела ЖКТ может быть представлена в виде:

$$P_\Pi(t_2) = D(t_2;t_3)\cdot\frac{\eta(t_2)}{k\cdot F(t_2;t_3)}\ , \qquad (6)$$

где:

$$F(t_2;t_3) = \int_{t_2}^{t_3}\eta(t)dt \qquad (7)$$

При этом мощность поверхностной поглощенной дозы β-излучения на время убоя животного (t_1) после однократного поступления ОРЧ составит:

$$P_\Pi(t_1) = P_\Pi(t_2)\cdot\frac{\eta(t_1)}{\eta(t_2)}\cdot\frac{E_\beta(t_1)}{E_\beta(t_2)} \qquad (8)$$

Определяя таким образом мощности поглощенных доз β-излучения на поверхности стенки ЖКТ по измерениям j детекторов и разбивая полученные значения $P_{\Pi j}(t_1)$ на равные интервалы, находили средние взвешенные значения мощностей поверхностной поглощенной дозы $P_\Pi(t_1)$ β-облучения слизистой отделов ЖКТ:

$$P_\Pi(t_1) = \frac{\sum_1^m P_{\Pi k}(t_1)\cdot n_k}{\sum n_k}\ , \qquad (9)$$

где:

$P_{\Pi k}(t_1)$ – средние значения мощности поверхностной поглощенной дозы β-излучения для каждого k-ого интервала мощностей доз ($k=1...m$), к которому относятся показания n_k детекторов;

m – общее количество интервалов мощностей доз.

Результаты и обсуждение

В соответствии с камерной моделью ЖКТ (рис. 1) процесс изменения содержания радиоактивных частиц во всех отделах пищеварительного тракта свиней описывается системой дифференциальных уравнений:

$$\left.\begin{aligned}
\frac{dq_1(t)}{dt} &= -k_1\cdot q_1(t)\\
\frac{dq_2(t)}{dt} &= k_1\cdot q_1(t) - k_2\cdot q_2(t)\\
\frac{dq_3(t)}{dt} &= k_2\cdot q_2(t) - k_3\cdot q_3(t)\\
\frac{dV(t)}{dt} &= k_3\cdot q_3(t)
\end{aligned}\right\} \qquad (10)$$

Начальные условия:

$$q_1(0) = q_0 \quad (11)$$

$$q_2(0) = q_3(0) = V(0) = 0 \quad (12)$$

Наиболее близкое согласие расчётных и экспериментальных данных было получено при условии, что выведение ОРЧ из желудка начинается через τ=2 ч после введения. С учётом данного обстоятельства ниже представлены решения дифференциальных уравнений (10), характеризующих зависимости содержания ОРЧ в отделах пищеварительного тракта свиней от времени после однократного перорального поступления:

Для желудка:

$$q_1(t) = q_0 \cdot e^{-k_1(t-\tau)} \quad (13)$$

Для тонкого отдела кишечника:

$$q_2(t) = \frac{k_1 q_0 e^{-k_2(t-\tau)}}{k_1-k_2}\left[1 - e^{-(k_1-k_2)(t-\tau)}\right] \quad (14)$$

Для толстого отдела кишечника:

$$q_3(t) = k_1 k_2 q_0 \left[\frac{e^{-k_3(t-\tau)}}{(k_2-k_3)(k_1-k_3)} + \frac{1}{k_1-k_2} \cdot \left(\frac{e^{-k_1(t-\tau)}}{k_1-k_3} - \frac{e^{-k_2(t-\tau)}}{k_2-k_3}\right)\right] \quad (15)$$

Для депо сбора фекалий:

$$V(t) = q_0 - \frac{k_2 k_3 q_0 e^{-k_1(t-\tau)}}{(k_1-k_2)(k_1-k_3)} + \frac{k_1 k_3 q_0 e^{-k_2(t-\tau)}}{(k_1-k_2)(k_2-k_3)} - \frac{k_1 k_2 q_0 e^{-k_3(t-\tau)}}{(k_2-k_3)(k_1-k_3)} \quad (16)$$

Значения искомых констант скорости транспорта ОРЧ k_1=0.09 ч$^{-1}$; k_2=0.30 ч$^{-1}$ и k_3=0.075 ч$^{-1}$ удовлетворительно описывают изменение содержания ОРЧ в желудке (q_1), тонком отделе кишечника (q_2), и толстом отделе кишечника (q_3) (рис. 3).

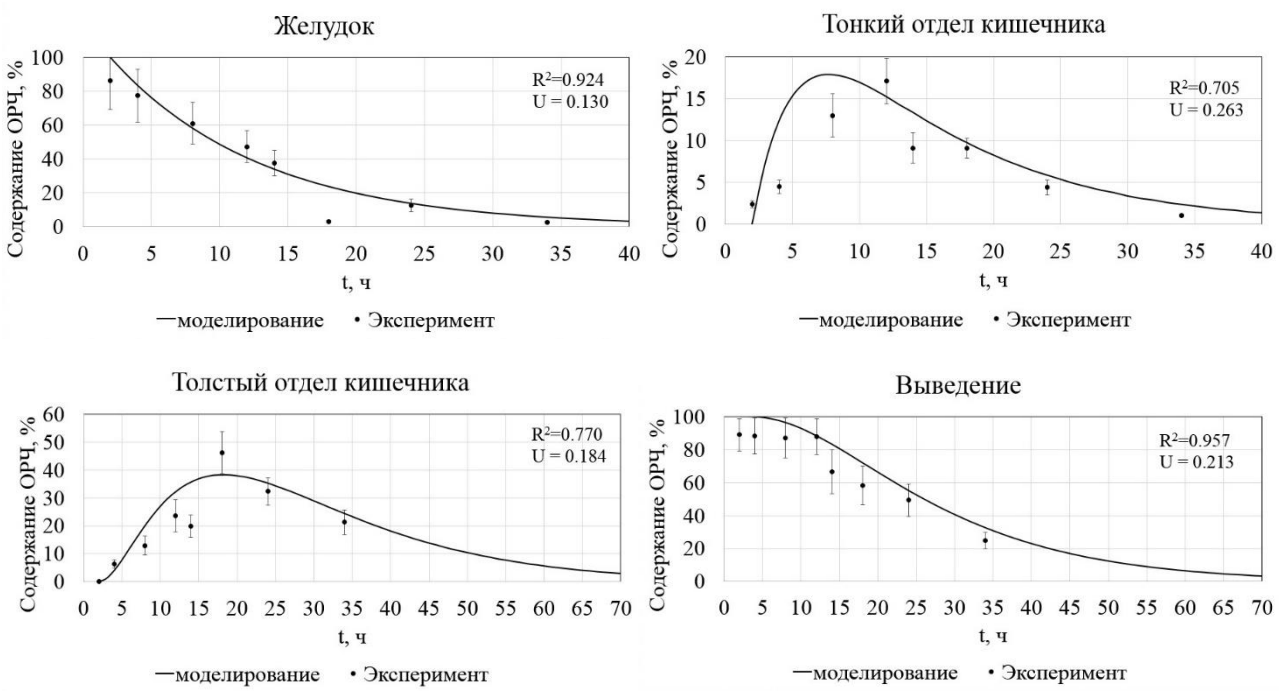


Рисунок. 3. Динамика содержания ОРЧ в ЖКТ свиней
(● эксперимент, — расчетная модель)

Из рисунка 3 видно удовлетворительное согласие экспериментальных и расчётных данных, о чём свидетельствуют полученные коэффициенты детерминации (R^2) и параметры критерия несовпадения Тейла (U). Период полувыведения радиоактивных частиц

из желудка подсвинков ($T_{1/2}$=0,693/k_1) составляет 7,7 ч, а среднее время пребывания (mean retention time MRT=τ+1/k_1) в желудке – 13,1 ч. Время выведения 50 % ОРЧ из организма подсвинков составляет 0,5 сут.

На рисунке 4 представлена динамика формирования средних поглощённых доз в рассматриваемых отделах ЖКТ после однократного поступления с кормом 3,7·10^9 Бк «урановых» ОРЧ возрастом 10 и 15 ч.

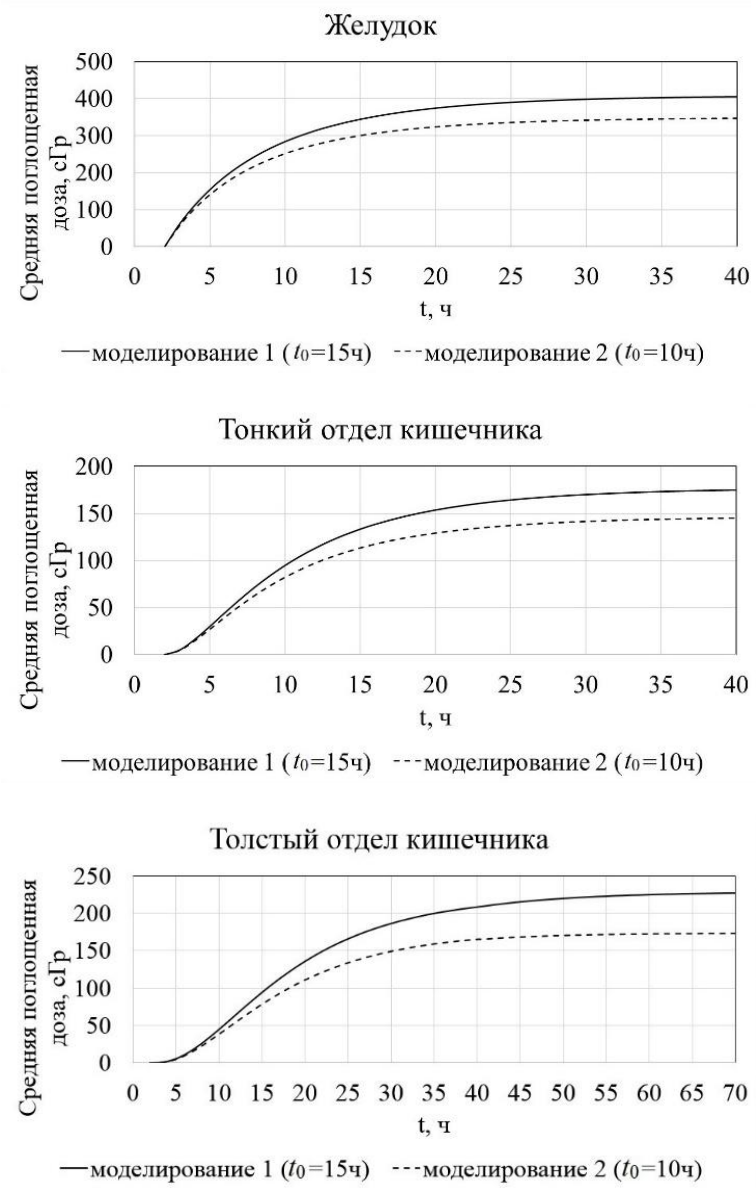


Рисунок.4. Динамика формирования средних поглощённых доз после однократного поступления с кормом 3,7·10^9 Бк «урановых» ОРЧ

Из рисунка 4 видно, что при поступлении «урановых» ОРЧ 90 % поглощенной дозы в желудке формируется в течение ~15 ч после перорального поступления ОРЧ, а в тонком и толстом отделах кишечника на протяжении ~22 и ~34 ч соответственно. Различие поглощённых доз при пероральном поступлении равных по величине активностей ПЯД, но разного возраста (от 10 до 15 ч) не превышает 20 %. Отметим, что вариации возраста ПЯД в экспериментальных исследованиях в основном были обусловлены транспортными возможностями при перевозке радиоактивного материала после облучения на реакторе (г. Москва) на экспериментальную базу ФИЦВиМ. Отделы ЖКТ свиней по величине сформированных доз после однократного введения ОРЧ можно расположить в

убывающий ряд: желудок – толстый отдел кишечника – тонкий отдел кишечника. У свиней как для жидких продуктов, так и для ОРЧ критическими отделами являются желудок и толстый отдел кишечника [9, 17].

Неравномерность распределения мощностей доз облучения слизистой ЖКТ свиней была определена с помощью «LiF» детекторов, помещенных под стенку предварительно замороженных отделов ЖКТ. Детекторы «LiF» размещались равномерно под стенкой желудка таким образом, что плотность их распределения составляла 1 детектор на 8 см^2 стенки желудка. В табл. 2 приведены данные по распределению мощностей поглощённых доз в приповерхностном слое слизистой оболочки желудка поросенка, убитого через 4 часа после перорального поступления ОРЧ.

Таблица 2

Распределение мощностей доз по стенке желудка подсвинка, получившего однократно с кормом 3.7·10^9 Бк «урановых» ОРЧ.

Δ P, сГр/ч	Количество детекторов	Облучаемая площадь в %
6–25	12	15,4
26–44	36	46,2
45–63	20	25,6
64–82	6	7,7
83–100	2	2,6
101–120	2	2,6

Мощность поглощённой дозы, усредненная по всем детекторам (по всей поверхности слизистой оболочки желудка), составила 37 сГр/ч, что удовлетворительно согласуется с результатом, полученным на основе камерной модели (39 сГр/ч) при условии гомогенного распределения ОРЧ в содержимом желудка и 2π- геометрии β-облучения слизистой оболочки. Из таблицы 2 видно, что среднее значение мощности дозы (37 сГр/ч) меньше максимальных величин в 3,2 раза. Неравномерность распределения мощностей поглощённых доз (P_{max}/P_{min}) в желудке достигает 20 раз. При этом основная площадь слизистой оболочки желудка облучается дозами близкими к среднему значению (~70 %) и ~13 % стенки желудка облучается максимальными дозами, где наиболее вероятно развитие язвенно-некротического поражения слизистой оболочки.

Заключение

Проведенные исследования распределения и транспорта оплавленных радиоактивных силикатных частиц диаметром 80–160 мкм в желудочно-кишечном тракте свиней [9] позволили разработать математическую камерную модель и оценить её биокинетические параметры. Результаты математического моделирования удовлетворительно согласуются с полученными экспериментальными данными. Период полувыведения радиоактивных частиц из желудка подсвинков составляет 7,7 ч, а среднее время пребывания – 11,1 ч. Отделы ЖКТ свиней по величине сформированных доз после однократного введения ОРЧ можно расположить в убывающий ряд: желудок – толстый отдел кишечника – тонкий отдел кишечника. У свиней как для жидких продуктов, так и для ОРЧ критическими отделами являются желудок и толстый отдел кишечника. 90 % поглощенной дозы β-излучения в желудке формируется за 15, в тонком и толстом кишечнике за 22 и 34 ч соответственно. Неравномерность распределения мощностей доз в желудке P_{max}/P_{min} достигает 20 раз, а среднее значение мощности поглощённой дозы меньше максимальных значений более, чем в три раза. Неравномерное облучение поверхности слизистой оболочки ЖКТ обусловливает картину поражения, характерную для радиационного язвенного гастрита. Язвенное поражение желудка и кишечника в областях формирования максимальных поглощённых доз,

гипоплазия лимфоидных органов и дистрофические процессы в паренхиматозных тканях имеют решающее значение в патогенезе и исходе лучевой болезни у свиней. Полученные результаты позволяют сделать следующие выводы:

А. Для оценки средней поглощённой дозы β-излучения ОРЧ на слизистую оболочку отделов ЖКТ может использоваться кинетическая камерная модель и 2π- геометрия β-облучения в предположении гомогенного распределения радиоактивных частиц в содержимом отдела ЖКТ.

В. Неравномерность β-облучения слизистой оболочки, обусловленная возможностью локализации ОРЧ на отдельных участках слизистой, определяется экспериментальными данными.

С. Сопоставление дозиметрической картины облучения слизистой желудка с патологоанатомической оценкой процесса радиационного образования язв в критическом органе ЖКТ – желудке позволяет соотнести наблюдаемые поражения с диапазонами поглощённых доз.

Литература

1. Radioactive particles in the Environment: Sources, Particle Characterization and Analytical Techniques. IAEA-TECDOC-1663. IAEA. Vienna. 2011. 77 P.

2. *Кашпаров В.А.* Радиологическая значимость топливной компоненты чернобыльских радиоактивных выпадений / В сб. «Проблемы чернобыльской зоны отчуждения». 1992. В. 9. С. 5–22.

3. *Чугуевский А.В., Сухоруков Ф.В., Мельгунов М.С.* и др. «Горячие» частицы реки Енисей: радиоизотопный состав, структура, поведение в естественных условиях // Доклады Академии наук. 2010. Т. 430. № 1. С. 102–104.

4. *Martin P., Satou, Y., Griffiths I. et al.* Analysis of External Surface Irregularities on Fukushima-Derived Fallout Particles // Frontiers in Energy Research. 2017. V. 5. P. 1–9.

5. *Алексахин Р. М.* Проблемы радиоэкологии: Эволюция идей. Итоги. М.: РАСХН, 2006. 880с.

6. Handbook of parameter values for the prediction of radionuclide transfer in terrestrial and freshwater environments. Vienna: IAEA, 2010. 194 p.

7. Радиационная медицина: руководство для врачей-исследователей и организаторов здравоохранения / под общ. ред. *Л.А. Ильина*. – М.: ИздАТ, 2001. – Т. II: Радиационные поражения человека / *В.М. Абдуллаева* [и др.]; науч. ред. *А.К. Гуськова, Г.Д. Селидовкин*. – 432 с.

8. Москалев Ю.И. и др. В кн. Радиоактивные изотопы и организм. М.: Медицина, 1969. С. 67–73.

9. *Сарапульцев И.А., Расин И.М., Козьмин Г.В.* Распределение поглощенных доз в желудочно-кишечном тракте свиней при поступлении с кормом оплавленных радиоактивных частиц / В сб.: Проблемы животноводства в зоне следа наземного ядерного взрыва. Под общ. ред. *Б.Н. Анненкова*. 1980. С. 203–210.

10. *Рыбакова А.В., Ковалева М.А. и др.* Карликовые свиньи как объект доклинических исследований // Международный вестник ветеринарии. – 2016. – № 3. С. 168–176.

11. *Куринный В.Д.* Моделирование радиоактивных частиц локальных выпадений наземных ядерных взрывов. Дисс. канд. физ.-мат. наук. М.: ВНИИСХР. 1977. 106 с.

12. The Methodology for Assessing the Radiological Consequences of Routine Releases of Radionuclides to the Environment Used in PC-CREAM 08. *Smith J.G., Simmonds J.R. (Eds).* HPA-RPD-058. Radiation Protection Division. – Chilton, Didcot, Oxfordshire 2009. 295 p.

13. *Одейчук А.Н.* Обобщенный критерий эффективности моделей прогнозирования временных рядов в информационных системах // Біоніка інтелекту. 2009. № 1 (70). С. 113–119.

14. *Козьмин Г.В., Спирин Е.В., Ткаченко В.В.* Дозиметрия β-излучения термолюминесцирующим фтористым литием // Радиобиология. 1978. Т. 18. В. 5. С. 785–788.

15. *Москвина Н.А., Батухтина О.Н., Шевченко Е.В. и др.* Применение термолюминесцентных детекторов для радиационно-гигиенического контроля // Медицинская физика. 2011. № 4. С. 64–69.

16. *Козьмин Г.В., Бударков В.А., Зенкин А.С. и др.* Радиационная технология моделирования сценария облучения животных при загрязнении пастбищных угодий «горячими» радиоактивными частицами / Сб. докл. научно-техн. конф. Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности. Обнинск: ВНИИРАЭ. 2018. С. 332–336.

17. Теоретические и экспериментальные разработки дозиметрических моделей сельскохозяйственных объектов при радиоактивном загрязнении территорий / *Пантелеев Л.И., Анненков Б.Н., Сарапульцев И.А., Козьмин Г.В. др.* Обнинск: ВНИИРАЭ. 1981. Т. 2. 180 с.

Последствия облучения щитовидной железы крупного рогатого скота

Кураченко Ю.А.[1], Денисова Э.Н.[1], Бударков В.А.[2], Снегирев А.С.[1], Козьмин Г.В.[1], Шаповалов С.Г.[1]

1 – ФГБНУ ВНИИ радиологии и агроэкологии
2 – ФГБНУ Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии, пос. Вольгинский

Работа направлена на повышение надёжности расчёта поглощённых доз в критических органах крупного рогатого скота при внутреннем облучении в ранний период радиационных аварий с выбросом радиоактивных изотопов йода. В расчётах использованы камерная модель метаболизма йода и прецизионные вычислительные технологии для моделирования как предметной области облучения (щитовидная железа), так и собственно транспорта излучений. Целью работы явилось определение согласованных значений критической дозы ^{131}I в щитовидной железе коров и телят, приводящей к серьёзной дисфункции железы и её последующему разрушению. В качестве главного теоретического результата получен коэффициент преобразования активности ^{131}I, распределённой равномерно по объёму щитовидной железы, в среднюю мощность дозы в железе (Bq → Gy/s). Основным практическим результатом является оценка нижней границы поглощённой дозы в щитовидной железе, которая в короткие сроки приводит к её разрушению при внутреннем облучении ^{131}I: ~ 300 Гр.

Радиационная авария, сельскохозяйственные животные, радиоактивный йод, щитовидная железа, камерная модель, перенос излучения, поглощённая доза

Радиационные аварии на ядерных установках (АЭС, атомных химических заводах, исследовательских реакторах) обычно сопровождаются выбросами в окружающую среду летучих и биологически опасных радионуклидов йода, что может привести к загрязнению больших площадей и вызвать облучение щитовидной железы (ЩЖ) у населения и млекопитающих.

Наряду с целями радиационной безопасности человека современные нормативные документы предполагают экоцентрический подход к радиационной защите [1]. Стандарты качества окружающей среды в подавляющем большинстве радиологических ситуаций соблюдаются при обеспечении радиационной безопасности человека. В то же время растения и животные при загрязнении окружающей среды радионуклидами могут подвергаться воздействию б**о**льших доз (по сравнению с дозами населения), знание которых даёт дополнительную информацию для оценки качества окружающей среды и принятия решений по сохранению природных экологических систем, генофонда растений и животных.

Из–за большого разнообразия живых организмов невозможно оценить дозы для каждого типа биоты, поэтому принято оценивать дозы для небольшого набора референтных видов. Эти виды рассматриваются как биологические объекты с определёнными базовыми экологическими и биологическими характеристиками. Референтными представителями биоты по радиоактивному загрязнению сельскохозяйственных экологических систем могут быть сельскохозяйственные животные. Основанием для отбора сельскохозяйственных животных в качестве референтных видов является наличие данных постоянного ветеринарного контроля показателей здоровья животных и особенностей изменения этих показателей вследствие облучения [2].

К настоящему времени изучены основные радиационные синдромы, проявление которых у животных можно ожидать при разных сценариях радиоактивного загрязнения. Установлены закономерности лучевой патологии ЩЖ при поступлении радиоактивных изотопов йода, получены данные о состоянии здоровья животных в зонах влияния радиационных аварий. В то же время вычислительная база и современное

программное обеспечение для количественного анализа динамики формирования радиобиологических эффектов недостаточно развиты.

Целью настоящего исследования является оценка критического радиационного воздействия, приводящего к радиационной деструкции ткани ЩЖ крупного рогатого скота (КРС), на основе a) камерной модели метаболизма ^{131}I и b) точных моделей морфологии ЩЖ, её состава и транспорта излучения в ней. При этом биокинетическая камерная модель должна в достаточной мере обеспечивать исходную информацию для решения задач дозиметрии внутреннего облучения животных и радиационно-гигиенической оценки продуктов животного происхождения.

Материалы и методика

Моделирование поступления ^{131}I в органы и ткани животных проводили с помощью камерного анализа – общепринятого методологического подхода для оценки транспортных параметров кормовых масс и радиоактивных материалов в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), а также особенностей метаболизма радионуклидов у животных [3]. Камерная модель метаболизма ^{131}I в организме крупного рогатого скота показана на рисунке 1. При построении математической модели были приняты во внимание результаты публикаций [4–6].

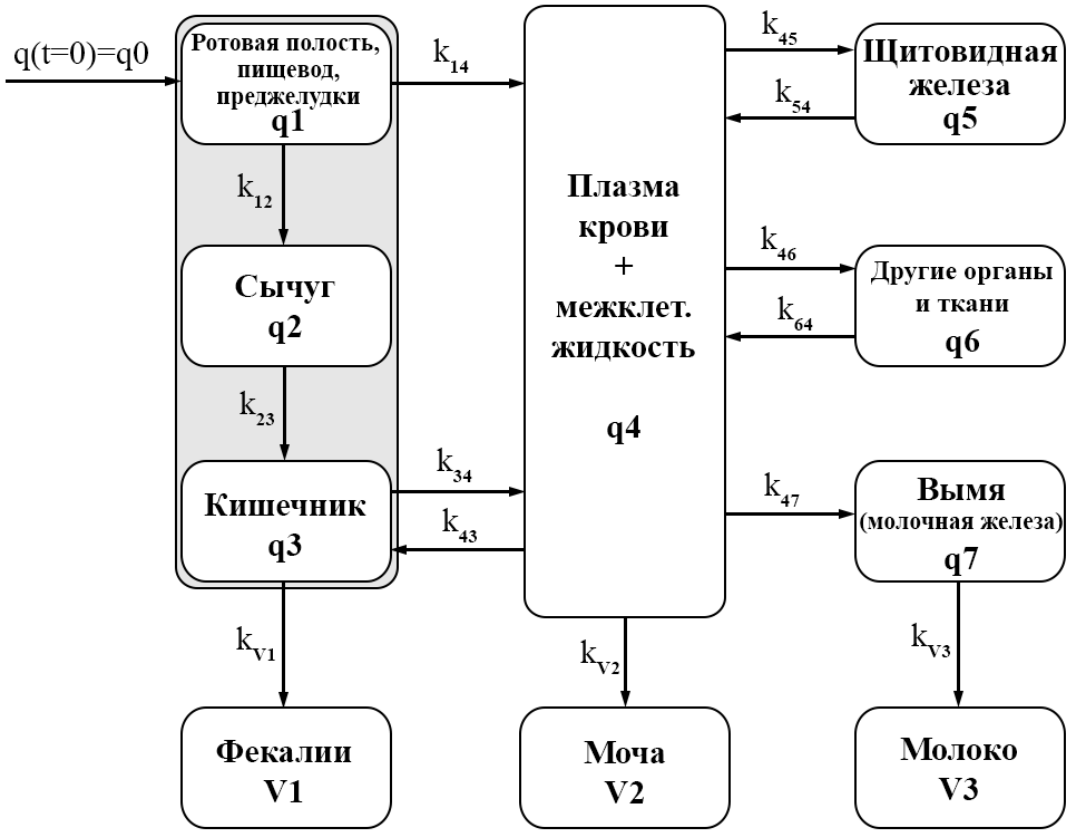


Рисунок 1. Камерная модель метаболизма ^{131}I в организме коров

В общем виде динамика йодной активности, полученной перорально, в произвольной камере q_i ($i = 1..., n$) при допущении одинаковой химической формы ^{131}I во всех камерах в течение всего времени наблюдения формулируется следующим образом:

$$\frac{dq_i}{dt} = -\lambda q_i + \sum_j k_{ji} q_j - \sum_j k_{ij} q_i + f(t) \cdot \theta_i, \quad (1)$$

где

q_i – активность ^{131}I в i-ой камере, МБк;

λ – постоянная радиоактивного распада

^{131}I, сут$^{-1}$;

k_{ij} (k_{ji}) – постоянные скорости транспорта ^{131}I для камерной модели, сут^{1};

$$\theta_i = \begin{cases} 1, & i = 1 \\ 0, & i > 0 \end{cases}$$

$f(t)$ – функция скорости поступления ^{131}I из внешней среды в барьерный орган (ЖКТ).

При однократном пероральном потреблении корма, содержащего ^{131}I, его поступление в барьерный орган устанавливают начальным условием:

q_1 (t = 0) = q_0.

Экспериментальные данные [6] получены на 3-х клинически здоровых коровах в возрасте 4–5 лет, массой 380–520 кг и удоем 6,5–9,5 л в сутки. Рацион коров состоял из различных кормов (грубых, сочных и концентрированных) и по общей пищевой ценности и содержанию перевариваемого белка соответствовал зоотехническим нормам. Каждая корова получила перорально 185 МБк активности ^{131}I, смешанной с травой. Для этого 21 кг свежескошенной травы разделяли на три равные части, поверхность травы загрязняли водным раствором Na^{131}I (pH 7,2) с помощью разбрызгивателя, а затем скармливали животным в течение 30–40 минут. После приема ^{131}I через 2 и 6 ч в первые сутки, через 11–14 ч в последующие 6 суток, а затем через 24–25 ч в течение 8 суток одновременно у коров отбирали пробы крови, молока, мочи и фекалий для проведения радиометрического анализа. Тогда же содержание ^{131}I в ЩЖ определяли *in vivo*.

Для измерения активности образцов авторы экспериментального исследования [6] использовали одноканальный сцинтилляционный гамма-спектрометр с кристаллом NaI(Tl) размером 80x70 мм^2, погрешность измерения при этом составила 10–15 %. Прижизненную оценку содержания ^{131}I в ЩЖ проводили сцинтилляционным детектором с кристаллом NaI(Tl) размером 40x40 мм^2. Погрешность этих измерений ±40 %.

В настоящей работе значения параметров метаболизма ^{131}I у коров получены из корреляции расчётных данных с эмпирическими, соответствующими достижению максимума коэффициентов детерминации во всех камерах одновременно, при изменении параметров транспорта и, соответственно, динамики содержания ^{131}I.

Значения требуемых биокинетических параметров, допускаемых камерной моделью, оценивались с использованием граничного значения коэффициента детерминации (R^2) – не менее 0,75 во всех камерах [7] после однократного приёма ^{131}I с кормом.

Расчёты проводились с использованием решений системы дифференциальных уравнений методами многофункциональной интерактивной вычислительной системы PTC Mathcad Prime 4.0. Для расчета поглощённых доз в ЩЖ коров использовали полученную в [8] динамику содержания ^{131}I в ЩЖ.

Камерная модель метаболизма йода была адаптирована для анализа экспериментальных данных [9], полученных на телятах. Для оценки деструктивного влияния ^{131}I на ЩЖ сельскохозяйственных животных при радиационных авариях использованы экспериментальные данные по молодняку крупного рогатого скота [9]. Эксперимент [9] был выбран в качестве «бенчмарка» на основании полноты и точности описания условий эксперимента и корректности дозиметрических данных. Оценку динамики содержания ^{131}I в ЩЖ телят проводили с использованием выше представленной камерной модели, но без камеры, ассоциированной с выменем (рис. 1), и с максимальными параметрами метаболизма, более свойственными молодому животному [8]. В экспериментальном исследовании [9] телята 3-месячного возраста с массой тела ~ 60 кг получали ^{131}I с двумя литрами молока ежедневно в течение 6 дней: в первые сутки 185 МБк, активность последующих порций снижалась в соответствии с периодом полураспада ^{131}I. На 11-е сутки наблюдений отмечено резкое снижение мощности дозы γ-излучения в области ЩЖ [9], возможно, за счет лучевой деструкции паренхиматозной ткани ЩЖ и выхода из неё ^{131}I в кровоток. Также нельзя исключить возможность радиационно-химического разложения тироксина в ткани ЩЖ, что нуждается в экспериментальной оценке.

Расчет характеристик поля излучения ^{131}I проводили с помощью кода MCNP5 [10].

Морфология ЩЖ, плотность ткани, масса и характерные размеры взяты из [11–13].

Современное состояние вычислительных технологий переноса излучения позволяет точно моделировать как предметную область, так и функционалы поля излучения. Выражение «точное моделирование» означает, что мы можем в полной мере использовать наши знания в построенных нами моделях. Такой подход на практике приводит к значительному сужению коридора погрешности моделирования объектов предметной области и процессов переноса излучения.

ЩЖ КРС моделировали двумерным осесимметричным телом, состоящим из девяти сегментов, которые получают осевыми и радиальными цилиндрическими сечениями. Эти сегменты симметрично расположены на трахее и имеют разный наружный диаметр и высоту. Симметричные сегменты соединяются попарно, образуя четыре излучающих тела. Пятый источник имитирует перешеек. Такой подход позволяет учитывать неравномерность распределения активности радионуклида в объёме щитовидной железы. Известно [14], что радиоактивный йод в тиреоидной ткани депонируется избирательно в коллоиде фолликулов и степень радиационного поражения ЩЖ зависит от неравномерности облучения (распределения поглощённой дозы в объёме ЩЖ) и её функционально-морфологического состояния. В рамках настоящей работы неравномерность распределения ^{131}I не учитывали, так как эта задача требует отдельного рассмотрения.

На рисунке 2 представлены участки ЩЖ, которые покрывают трахею и состоят из цилиндрических слоев, моделирующих форму тела ЩЖ для коровы и теленка. Размеры и масса ЩЖ коровы были взяты из [12]: для коровы массой ~500 кг усреднённые значения составляют 20.0 см^3 и 20.6 г соответственно. Для телят 3-месячного возраста с массой тела 60 кг, фигурирующих в эксперименте [9], согласно [11] средний объём и масса ЩЖ составляют 11.6 см^3 и 12.0 г. Ткань ЩЖ плотностью ~1.03 г/см^3 кроме четырёх основных элементов, включает следующие: Na, P, S, Cl, K и I [13] (см. табл. 1). В расчётах предполагалось, что активность йода равномерно распределена по объему ЩЖ.

№	Размеры ЩЖ			
	Внешний радиус, см		Высота, см	
	Коровы	Телята	Коровы	Телята
1	3.15	2.15	1.50	1.50
2	3.40	2.30	2.00	2.00
3	3.55	2.40	2.20	2.20
4	3.20	2.15	1.50	1.50
5	2.70	1.65	1.00	0.50

R=2.4 см (коровы); R=1.4 см (телята)

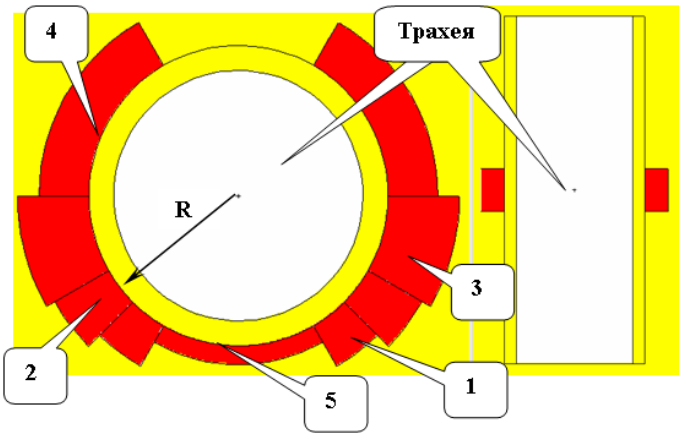


Рисунок 2. Радиальное (слева) и осевое сечение расчётной модели ЩЖ
(не в масштабе; получено визуализацией входного файла кода MCNP5)
Таблица содержит размеры цилиндрических слоёв ЩЖ

Таблица 1

Элементный состав ЩЖ КРС (масс. %)

H	C	N	O	Na	P	S	Cl	K	I	Итого
10,4	11,9	2,4	74,5	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	100

Результаты и обсуждение

Биокинетические параметры камерной модели метаболизма ^{131}I в организме коров (рис. 1), полученные с использованием экспериментальных данных [6] представлены в таблице 2. Эти параметры позволили описать динамику изменения активности ^{131}I в ЩЖ (рис. 3) и в коровьем молоке (рис. 4).

Таблица 2

Биокинетические параметры транспорта ^{131}I в организме коров, сут$^{-1}$

k_{12}	k_{14}	k_{23}	k_{34}	k_{43}	k_{45}	k_{54}
1	0,5	24	4	0.1	0,9	0,4
k_{46}	k_{64}	k_{47}	k_{v1}	k_{v2}	k_{v3}	–
1	0,1	0,5	2,5	1,5	2	–

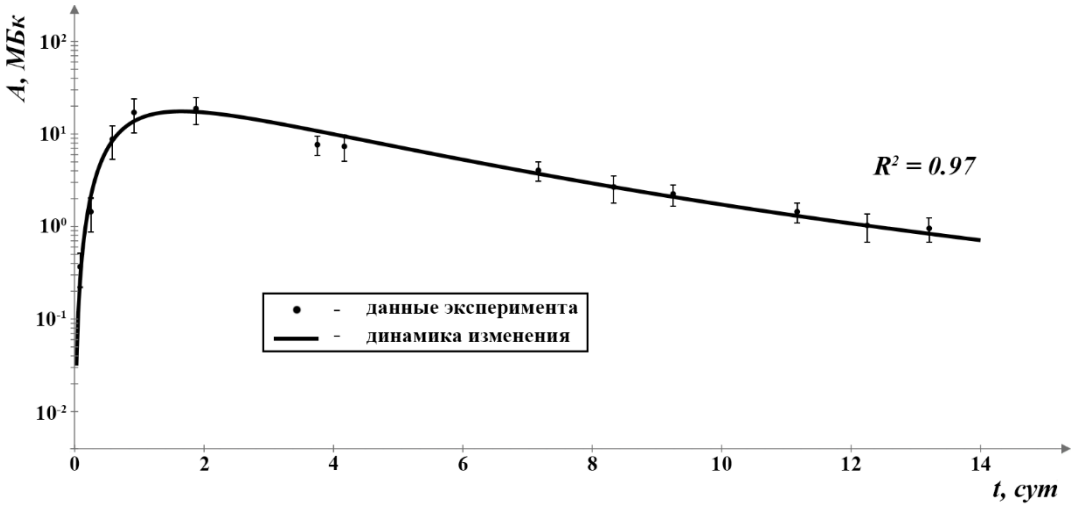


Рисунок 3. Динамика активности ^{131}I в ЩЖ коров после однократного поступления радионуклида с кормом

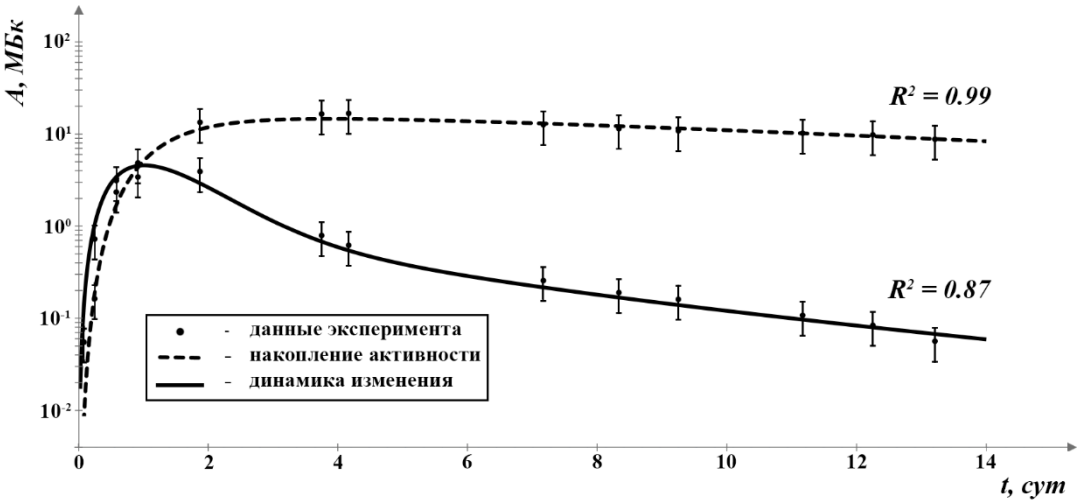


Рисунок 4. Динамика активности ^{131}I в молоке коров после однократного поступления радионуклида с кормом

Полученные значения коэффициентов детерминации (R^2) позволяют сделать вывод об удовлетворительном согласии расчётных и экспериментальных [6] данных. Динамика активности ^{131}I в ЩЖ коров после однократного поступления радионуклида (185 МБк) с кормом (рис. 3) была использована для расчёта накопления поглощённой дозы в ЩЖ коров (рис. 5).

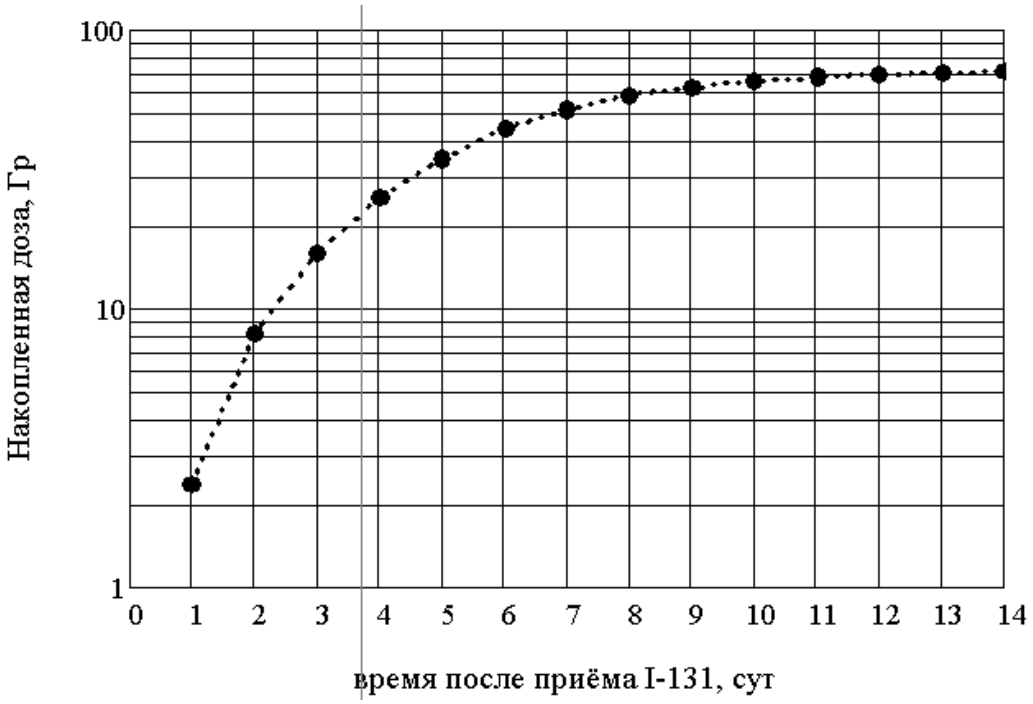


Рисунок 5. Накопление дозы в ЩЖ коров при однократном поступлении радионуклида (185 МБк); через 14 дней накопленная доза ~ 71 Гр

Следует отметить, что динамика содержания ^{131}I в основном дозообразующем пищевом продукте – молоке (рис. 4) может быть использована для оценки популяционных доз населения, связанных с облучением ЩЖ, например, с помощью математических моделей [15].

Особое внимание уделено оценке критических значений поглощённых доз, вызывающих необратимую дисфункцию ЩЖ КРС, наблюдаемую в экспериментальных исследованиях [9, 16, 17].

Задача расчёта дозы формулировалась следующим образом:

1. Зависящая от времени активность ^{131}I в ЩЖ определяется с помощью камерной модели, адаптированной к организму телят.

2. С помощью кода MCNP5, предназначенного для расчёта переноса излучения методом Монте-Карло, получить усреднённую (по девяти сегментам) дозу в модельной ЩЖ с равномерным по объёму железы распределением активности ^{131}I.

Для расчёта суммарной дозы в ЩЖ задачи с β- и γ-источником в каждом из пяти тел (рис. 2) решались последовательно. На основании аддитивности функционалов поля излучения дозы, полученные от двух типов источников, суммировались с учётом массы/объёма сегментов. Два компонента, нормированных на 1 Бк источника: 1) мощность дозы от источника β-излучения и 2) мощность дозы от источника γ-излучения были суммированы для того, чтобы вычислить полную мощность дозы, которая должна быть умножена на текущую активность ^{131}I в ЩЖ. В результате была получена зависимость суммарной мощности дозы от времени. Интеграл этой зависимости по временному интервалу от начала эксперимента позволил рассчитать накопленную к конкретному моменту дозу.

Прецизионные расчёты транспорта излучений проведены для:

а) переноса β-излучения ^{131}I в ЩЖ, сопровождающегося вторичным излучением и

его дальнейшим переносом с учётом всех процессов, включая генерацию и перенос тормозного излучения, Оже-электронов и др.;

b) переноса собственного γ-излучения ^{131}I с учётом генерации и переноса рентгеновского, а также флуоресцентного излучения и т.д. Диссипация энергии контролировалась до 1 кэВ, расчёты продолжались до достижения интегральной (по энергии) дисперсии дозы < 0,1 %.

Расчётным путём показано, что в этих условиях вклад γ-излучения ^{131}I от собственного γ-источника (со всеми вторичными излучениями) в общую поглощённую дозу составляет ~ 20 %. Основным результатом расчётов является «коэффициент конверсии» активности ^{131}I (равномерно распределённой в ЩЖ) в среднюю мощность полной дозы в ЩЖ (для этих условий облучения): ~ $4{,}05 \cdot 10^{-12}$ Гр/с на 1 Бк для телят и ~ $2{,}34 \cdot 10^{-12}$ Гр/с на 1 Бк для коров.

Накопленная в ЩЖ доза у телят, после которой на 11 сутки наблюдалась деструкция ЩЖ, определялась с использованием динамики активности ^{131}I в ЩЖ. Решение системы дифференциальных уравнений, описывающих метаболизм йода согласно представленной камерной модели (рис. 1) с помощью многофункциональной интерактивной вычислительной системы Mathcad Prime 3.1 позволило получить изменение активности ^{131}I в ЩЖ после шести ежедневных разовых поступлений ^{131}I с молоком в ЖКТ телят. В результате была рассчитана динамика накопления поглощённой дозы в ЩЖ телят (рис. 6).

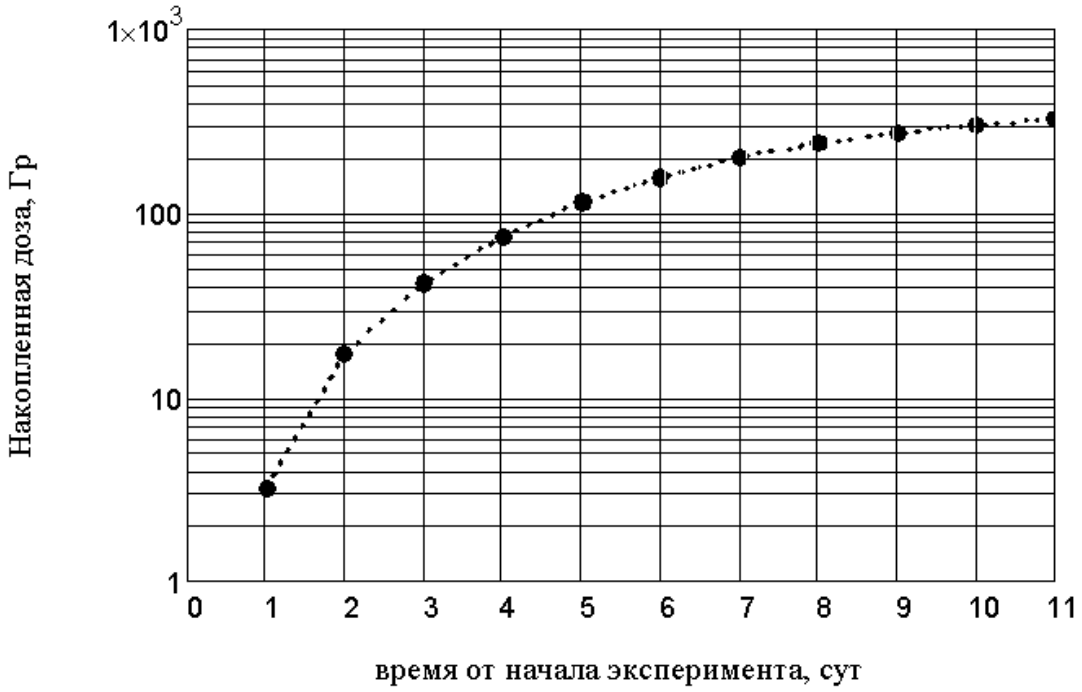


Рисунок 6. Накопление дозы в ЩЖ телят, рассчитанное для эксперимента [9]; через 11 дней накопленная доза ~ 330 Гр

С использованием данных рисунка 6 несложно оценить величину дозы, накопленной в ЩЖ телят за период времени, после которого наблюдалось разрушение паренхиматозной ткани, которая составила ~ 330 Гр.

Интересно сопоставить полученный результат с реальной ситуацией, сложившейся в острый период радиационной аварии на Чернобыльской АЭС. У кормящих коров Хойникского и Брагинского районов Гомельской области (Республика Беларусь) после аварии на Чернобыльской АЭС в мае 1986 г. концентрация продуктов ядерного деления в ЩЖ была на 3–4 порядка выше, чем в других органах и тканях (100–700 кБк/г). Основным источником радиационной опасности в течение первого месяца после аварии на ЧАЭС являлись изотопы йода. Их содержание в

смеси продуктов выброса составляло от 20 до 60 %. По данным гамма-спектрометрии, содержание 131I в пробах органов и тканей коров через 5–12 сут после выпадений составляло 65–90 %, а ^{134,137}Cs – 8–30 % суммарной активности. Средние поглощённые дозы в ЩЖ КРС из хозяйств Хойникского и Брагинского районов составили (65,2±22,9) и (164,9±34,6) Гр соответственно [16–18].

При вскрытии забитых животных с максимальными дозами облучения ЩЖ отмечались признаки нарушения структуры ЩЖ, которые для наиболее загрязнённых хозяйств Брагинского и Хойникского районов Гомельской области Республики Беларусь в динамике проявлялись следующим образом:

– в течение первого месяца в ЩЖ наблюдались резкие расстройства гемодинамики, гиперемия, отёк стромы, полнокровие капилляров межфолликулярной ткани, кровоизлияния в интерстициальную ткань и полость фолликулов;

– в последующие 1,5–2 мес. изменялся объём ЩЖ, наблюдались некродистрофические изменения эпителия фолликулов, пикноз ядер, гибель и слущивание эпителиальных клеток, появление тяжей соединительной ткани;

– при внешнем осмотре спустя 5 мес. после аварийного выброса отмечалось уменьшение ЩЖ в объёме, уплотнение и слоистость на разрезе. При гистологическом исследовании устанавливали фиброз органа;

– спустя 8 мес. отмечали атрофию ЩЖ и образование на её месте тяжей соединительной ткани.

В последующие сроки морфологические изменения в ЩЖ по степени выраженности были вариабельны у животных разных хозяйств и районов и зависели от плотности радиоактивного загрязнения местности и времени, прошедшего от начала аварии.

Результаты, полученные нами, соответствуют более «жёсткой» ситуации, обусловленной более высокими значениями активности перорально поступившего 131I и формированием высоких уровней облучения ЩЖ. Если же обратиться к литературным данным, в частности, к интересной и оригинальной для своего времени (1988 г.) работе [19], результаты которой цитируются и используются до сих пор то на с. 15-16 этой работы можно обнаружить, что: «Умеренное повреждение щитовидной железы овец или крупного рогатого скота приводит лишь к незначительным и временным нарушениям их общего здоровья». По данным Morris J.A. [19], никаких эффектов дозы в 300 Гр, полученной при облучении щитовидной железы с мощностью поглощённой дозы 15 Гр/сут, у КРС не наблюдается. Для дозы 700 Гр с мощностью поглощённой дозы 30 Гр/сут происходит «незначительная гиперплазия фолликулов», и только при дозах 2000–3000 Гр (мощность дозы 100–150 Гр/сут) наблюдаются: «обширный некроз ЩЖ, слизистый отёк, снижение удоя при отсутствии гематологических изменений и нарушений фертильности ([19], с. 16). Авторы экспериментальной работы [9] оценили дозу разрушения ЩЖ на 11 день эксперимента в 850 Гр (напомним, наш расчёт для этого эксперимента в настоящей работе даёт 330 Гр). По-видимому, оценки в работах [9, 19] являются завышенными, равно как и утверждение о том, что «незначительная гиперплазия фолликулов» при 700 Гр [19] маловероятна. В качестве основания данного утверждения отметим, что «выжигание», т. е. разрушение структуры остатков удалённой ЩЖ радиойодом при терапии рака ЩЖ проводят при облучении с поглощённой дозой ~300 Гр: «Абляция остаточной тиреоидной ткани достигается при поглощенной дозе около 300 Гр» ([21], с. 44). Ту же величину 300 Гр находим в зарубежных источниках (напр., в [22, 23]).

По всей видимости, нижней границе дозы, вызывающей быстрое разрушение паренхиматозной ткани ЩЖ телят, соответствует полученное в настоящей работе значение поглощённой дозы ~330 Гр.

Заключение

В работе описан методический подход к оценке средних поглощённых доз внутреннего облучения органов и тканей организма сельскохозяйственных животных после перорального поступления радионуклидов на примере потребления крупным рогатым скотом кормов, загрязнённых ^{131}I. Расчётная методика основана на применении камерных биокинетических моделей метаболизма

радионуклидов, реализованных с помощью многофункциональной интерактивной вычислительной системы PTC Mathcad Prime 4.0, и прецизионного моделирования методом Монте-Карло процессов передачи энергии биологическим тканям ионизирующими излучениями с использованием современного вычислительного кода MCNP5. Важным теоретическим результатом настоящей работы является коэффициент преобразования активности ^{131}I при гомогенном распределении йода в объёме щитовидной железы в среднюю мощность поглощённой дозы в железе (Бк → Gy/s).

Представленный анализ формирования поглощённых доз в организме телят позволяет оценить нижнюю границу средней поглощённой дозы, вызывающей быстрое катастрофическое разрушение паренхиматозной ткани ЩЖ и локализованного в ней источника излучения 131I. Прижизненная дозиметрия телят в области ЩЖ убедительно показывает этот процесс: в течение суток после 11–12 дней наблюдений мощность дозы резко уменьшается более чем в 5 раз. К этому времени в ЩЖ по нашим расчётам накоплена поглощённая доза ~ 330 Гр.

Следует отметить, что разрушение паренхиматозной ткани ЩЖ КРС в зоне влияния Чернобыльской аварии отмечалось также при более низких средних поглощённых дозах (~150 Гр), но в течение более длительного времени (~3–5 мес). Указанные обстоятельства дают важную информацию для оценки состояния здоровья животных в условиях радиоактивного загрязнения окружающей среды продуктами ядерного деления.

Полученные результаты не противоречат дозиметрическим данным, характеризующим радиобиологические последствия радиационного поражения ЩЖ (≈300 Гр) у человека [21] и овец [15, 16].

Литература

1. ICRP Publication 103. The 2007 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection Ann. ICRP 37. V. 37. № 2–4. 330 pp.

2. *Бударков В.А.* Обоснование выбора крупного рогатого скота как одного из референтных организмов в системе защиты окружающей среды от радиации // Рад. биол. Радиоэкол. 2009. Т. 49. № 2. С. 179–185.

3. *France J., Kebreab E.* Mathematical Modelling in Animal Nutrition. Centre for Nutrition Modelling University of Guelph, Canada. Wallingford: Biddles Ltd, King's Lynn. 2008. 588 pp.

4. *Crout N.M.J., Voigt G.* Modeling the Dynamics of Radioiodine in Dairy Cows // J. of Dairy Sci. 1996. V. 79. № 2. P. 254–259.

5. *Smith J.G., Simmonds J.R.* (Editors) The Methodology for Assessing the Radiological Consequences of Routine Releases of Radionuclides to the Environment Used in PC-CREAM 08. HPA-RPD-058. Radiation Protection Division. Chilton, Didcot, Oxfordshire 2009. 295 pp.

6. *Сироткин А.Н., Панченко И.Я., Тюменев Л.Н. и др.* Сравнительное поведение ^{131}I у коров при различных источниках поступления его в организм / В кн.: Биологическое действие внешних и внутренних источников радиации. М: Медицина, 1972. С. 72–77.

7. Одейчук А.Н. Обобщенный критерий эффективности моделей прогнозирования временных рядов в информационных системах // Біоніка інтелекту. 2009. № 1 (70). С. 113–119.

8. *Корнеев Н.А., Сироткин А.Н.* Основы радиоэкологии сельскохозяйственных животных. М.: Энергоатомиздат, 1987. 207 с.

9. *Спирин Е.В., Лазарев Н.М., Сарапульцев И.А.* Формирование дозы облучения щитовидной железы телят при поступлении ^{131}I с кормом // Докл. РАСХН. 2004. № 4. С. 54–55.

10. Authors: X-5 Monte Carlo Team. MCNP – A General Monte Carlo N-Particle Transport Code, Version 5. Volume I: Overview and Theory // LA-UR-03-1987. 2003. 484 pp.

11. *Suuroja T., Järveots T., Lepp E.* Age-related morphological changes of thyroid gland in calves // Veterinarija ir zootechnika. 2003. V. 23 (45). P. 55–59.

12. *Peksa Z., Trávníček J., Dušová H. et al.* Morphological and histometric parameters of the thyroid gland in slaughter cattle //J. Agrobiology. 2011. № 28(1). P. 79–84.

13. ICRP Publication 89. 2002 Basic anatomical and physiological data for use in radiological protection: reference values. Published by Elsevier Science Ltd. Ann. ICRP 32. 2003. 277 pp.

14. *Василенко И.Я., Классовский Ю.А., Краснокутский В.М. и др.* Роль и значение функционально-морфологических особенностей тиреоидной ткани в разработке дозиметрической модели щитовидной железы при внутреннем облучении радиоактивными изотопами йода / В кн.: Распределение, кинетика обмена и

биологическое действие радиоактивных изотопов йода. Под ред. *Л.А. Ильина*, *Ю.А. Москалёва*. М.: МЕДИЦИНА, 1970. С. 143–152.

15. *Клёпов А.Н., Матусевич Е.С., Кураченко Ю.А.* Применение методов математического моделирования в ядерной медицине. Обнинск: ОГТУ АЭ, ООО ЭНИМЦ «Моделирующие системы», 2006. 206 с.

16. *Бударков В.А., Зенкин А.С., Архипов Н.И. и др.* Влияние йода-131 на овец в зависимости от содержания стабильного йода в рационе // Радиобиология. 1992. Т. 32. № 3. С. 451–458.

17. *Бударков В.А., Архипов Н.Н., Зенкин А. С. и др.* Влияние продуктов аварийного выброса Чернобыльской АЭС на щитовидную железу животных // Ветеринария. 1990. № 7. С. 60–63.

18. *Ястребков Ю.А., Бударков В.А., Василенко И.Я.* Оценка поглощённых доз у крупного рогатого скота в течение первого года после аварии на Чернобыльской АЭС // Рад. биол. Радиоэкол. 1995. Т. 35. № 6. С. 845–850.

19. *Morris J.A.* Exposure of animals and their products to radiation. Surveillance, monitoring and control of national and international trade. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 1988, 7(1), 11–23. https://www.oie.int/doc/ged/D8426.PDF

20. *Olobatoke R.Y., Mathuthu M.* Radionuclide exposure in animals and public health implications // Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. 2015. V. 39. P. 381–388.

21. *Гарбузов П.И., Дроздовский Б.Я., Родичев А.А. и др.* Радиойодтерапия рака щитовидной железы// Практическая онкология Т. 8, No 1. 2007. https://rosoncoweb.ru/library/journals/practical_oncology/arh029/07.pdf

22. Treating Thyroid Cancer using I-131 Maximum Tolerable Dose Method. http://www.hpschapters.org/northcarolina/fall2007/I-131%20Dosimetry%20NCCHPS.pdf

23. A Toxicological Profile for Iodine. Agency for Toxic Substances and Disease Registry Division of Toxicology. USA. Atlanta, Georgia. 2004. 580 pp.

Состояние системы Ca^{2+}-обмена в эритроцитах периферической крови овец при воздействии ионизирующего излучения

Кобялко В.О., Мирзоев Э.Б.

ФГБНУ ВНИИ радиологии и агроэкологии

Состояние системы Ca^{2+}-обмена (интенсивность Ca^{2+}-обмена, пассивная проницаемость плазматической мембраны, концентрация ионизированного Ca^{2+} в цитоплазме) исследовали в эритроцитах периферической крови овец, облученных в дозах 1,2; 2,4 и 3,6 Гр. На первые сутки после воздействия отмечали увеличение пассивной проницаемости плазматической мембраны эритроцитов для ионов Ca^{2+}. Степень нарушения пассивной проницаемости мембраны эритроцитов для ионов Ca^{2+} прямо пропорционально зависела от дозы облучения овец. В то же время при воздействии ионизирующего излучения в дозе 1,2 Гр изменения интенсивности Ca^{2+}-обмена в эритроцитах периферической крови овец наблюдали на 7-е сутки исследования. С увеличением дозы облучения животных регистрировали более выраженный характер изменений.

γ-излучение, овцы, ионы Ca^{2+}, плазматическая мембрана эритроцитов, пассивная проницаемость

При воздействии ионизирующего излучения на сельскохозяйственных животных отмечают развитие патологических изменений в организме и потерю продуктивных качеств, обусловленных процессами гибели клеток и угнетением физиологической активности клеточных популяций в радиочувствительных органах, в первую очередь, в системе костномозгового кроветворения [1, 2]. При этом наиболее распространенным показателем, определяющим нарушение кроветворной функции организма при острой лучевой болезни сельскохозяйственных животных, является снижение количества лейкоцитов в периферической крови [3]. Регистрируемые нарушения в клетках облученного организма связывают с модификацией ключевых механизмов регуляции метаболизма. В этой связи особый интерес представляет система поддержания внутриклеточного Ca^{2+}-гомеостаза, так как ионы Ca^{2+} при физиологических концентрациях в цитоплазме выступают в роли одного из универсальных внутриклеточных регуляторов [4, 5], тогда как их избыток оказывает повреждающее действие и запускает процессы гибели клеток [6, 7]. Исходя из этого, оценка изменений Ca^{2+}-гомеостаза в клетках периферической крови на фоне контролируемых клинико-гематологических показателей сельскохозяйственных животных, подвергнутых воздействию ионизирующего излучения, представляет интересную исследовательскую задачу как в теоретическом, так и практическом плане.

Сравнительный анализ клеточных популяций периферической крови сельскохозяйственных животных, в частности овец, позволяет выделить эритроциты как простую модельную систему для исследования Ca^{2+}-гомеостаза. В пользу этого свидетельствуют данные об отсутствии в эритроцитах периферической крови основных компартментов локализации кальция и системы Na^{+}/Ca^{2+}-обмена. Следует отметить, что внутриклеточный Ca^{2+}-гомеостаз в эритроцитах периферической крови овец обеспечивается, главным образом, входом катиона через трансмембранные селективные Ca^{2+}-каналы и активным его удалением из цитоплазмы мембраносвязанной Ca^{2+}-Mg^{2+}-АТФазой [8]. При этом продолжительность жизни эритроцитов в периферической крови овец по сравнению с лейкоцитами почти на порядок выше. Преимуществом выбора эритроцитов периферической крови облученных овец в качестве модели является то, что в течение первых 15 суток после воздействия ионизирующего излучения популяция эритроцитов в периферической крови сохраняется, а лейкоцитов – полностью обновляется [1]. В связи с вышеизложенным целью работы стало исследование показателей системы Ca^{2+}-обмена в эритроцитах периферической крови

овец при воздействии ионизирующего излучения.

Материалы и методика

Эксперименты были проведены на 16 овцах породы «Прекос» в возрасте 1,5–2 года, живой массой (35 ± 1,1) кг. Содержание, кормление и уход за животными осуществляли в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». Овец содержали на стандартном рационе в условиях вивария ВНИИРАЭ. Кормили два раза в сутки при свободном доступе к воде. Рацион был сбалансирован по основным питательным веществам и включал 0,3 кг комбикорма и 1,7 кг сена разнотравного.

По результатам предварительного обследования овец по принципу аналогов были сформированы 4 группы по 4 головы в каждой. Первая группа включала интактных животных и служила контролем. Овец 2, 3 и 4 групп подвергали острому внешнему воздействию γ-излучения в дозах 1,2; 2,4 и 3,6 Гр, соответственно. Облучение проводили на установке Гуж-24 (источник излучения ^{137}Cs с энергией γ-квантов 0,67 МэВ). Мощность дозы γ-излучения составляла 1,5 Гр/час. Интенсивность и равномерность облучения контролировали с помощью клинического дозиметра типа 27012 и сферической ионизационной камеры АК-253. Неравномерность облучения не превышала 15 %.

Образцы крови отбирали в пробирки с цитратом натрия (конечная концентрация 0,38 %) из яремной вены овец до кормления, на 1-е, 3, 5-е, 7-е, 10-е, 15-е, 20-е и 30-е сутки исследования. Эритроциты, тромбоциты и лейкоциты осаждали при 2000 g, 15 мин. Плазму и слой клеток, содержащий тромбоциты и лейкоциты, забирали в отдельные пробирки, а эритроциты промывали 3 раза раствором **А** (150 ммоль/л NaCl в 5 ммоль/л фосфатном буфере, pH 7,4 при t=4 °C) при 2000 g, 5 мин и хранили на холоде для последующих исследований (гематокрит 96 %) [9].

Нагрузку эритроцитов овец ^{45}Ca и определение параметров состояния системы Ca^{2+}-обмена проводили по модифицированной нами методике для жвачных животных [10]. Эритроциты, предварительно нагруженные квином-2, помещали в раствор **В** (140 ммоль/л NaCl, 5 ммоль/л KCl, 1 ммоль/л $MgCl_2$, 0,5 ммоль/л $CaCl_2$, 10 ммоль/л глюкозы, 1 ммоль/л Na_2HPO_4 и 10 ммоль/л N-2-гидроксиэтилпиперазин-N'-2-этановой кислоты NaOH, pH 7,4) и осаждали при 2000 g, 5 мин. Осадок ресуспендировали и процедуру повторяли 2 раза. Отмытые эритроциты помещали в раствор **В** (конечный гематокрит 25 %), содержащий 74–148 кБк/мл $^{45}CaCl_2$, 1 ммоль/л $CaCl_2$ и инкубировали при 37 °C в течение 240 мин. Часть эритроцитов инкубировали с ингибитором Ca^{2+}-Mg^{2+}-АТФазы ортованадатом натрия (Na_3VO_4, 4 ммоль/л). Через определенные интервалы времени аликвоты клеток помещали в 2 мл раствора **А** с 0,1 ммоль/л ЭДТА и избавлялись от ^{45}Ca, осаждая клетки при 2000 g, 5 мин. Эту процедуру повторяли 2 раза, каждый раз удаляя надосадочную жидкость и ресуспендируя слой клеток. К полученной эритроцитарной суспензии добавляли 0,4 мл 0,25 % раствора тритона Х-100 и 0,5 мл 10 % уксусной кислоты. Образцы центрифугировали при 2500 g, 20 мин и 0,8 мл надосадочной жидкости помещали в 5 мл раствора Брея для измерения радиоактивности.

Расчет скорости пассивного входа и начальной скорости накопления ^{45}Ca проводили по формуле

$$V=A/a\cdot m\cdot t,$$

где A – величина счета активности за t время инкубации, имп/мин; a – приведенное значение активности (значение счета суммарной активности/концентрация $CaCl_2$ в среде), имп/(мин*ммоль); m – количество клеток в образце; t – время инкубации, мин. Значение суммарной активности определяли в равном объеме неотмытых от радиоизотопа клеток [13].

Концентрацию ионизированного Ca^{2+} в цитоплазме эритроцитов овец рассчитывали в условиях стационарного распределения Ca^{2+} через 120 мин инкубации по формуле:

$$[Ca^{2+}]_{in}=115\cdot A_1/(A_3-A_2-A_1)\ \text{нм},$$

где A_1 – активность ^{45}Ca в эритроцитах, предварительно нагруженных квином-2, через 120 мин инкубации; A_2 – активность ^{45}Ca в эритроцитах, инкубированных с 4 ммоль/л Na_3VO_4, через 120 мин инкубации; A_3 –

активность ^{45}Ca в эритроцитах, предварительно нагруженных квином-2, инкубированных с 4 ммоль/л Na_3VO_4, через 120 мин инкубации.

Радиоактивность образцов измеряли на жидкостно-сцинтилляционном счетчике Sl-4220 (“Intertechnique”, Франция).

Использовали реактивы фирм Merck и Serva.

Учитывая особенности системы поддержания Ca^{2+}-гомеостаза, начальная скорость накопления ^{45}Ca как результат пассивного входа катиона через плазматическую мембрану и его АТФ-зависимого удаления «Ca^{2+}-насосом» фактически характеризует интенсивность Ca^{2+}-обмена. При этом величина скорости входа $^{45}Ca^{2+}$ в эритроциты периферической крови овец, определяемая в присутствии ингибитора Ca^{2+}-Mg^{2+}-АТФазы (4 мМ Na_3VO_4), является критерием пассивной проницаемости плазматической мембраны. И, наконец, концентрация ионизированного Ca^{2+} в цитоплазме эритроцитов позволяет оценить степень нарушения внутриклеточного Ca^{2+}-гомеостаза.

Клиническое состояние овец оценивали общепринятыми методами. Учитывали общее состояние, реакцию на внешние раздражители, аппетит, температуру тела, частоту пульса и дыхания, функциональное состояние желудочно-кишечного тракта.

Экспериментальный материал был обработан методом вариационной статистики с использованием критерия t-Стьюдента. Различия значений считали достоверными при $p < 0,05$ [11].

Результаты

Показатели системы Ca^{2+}-обмена в эритроцитах периферической крови овец при воздействии ионизирующего излучения оценивали в разные сроки развития острой лучевой болезни. Клинические признаки острой лучевой болезни наиболее ярко были выражены у животных, облученных в дозах 2,4 и 3,6 Гр, а при воздействии в дозе 1,2 Гр практически отсутствовали. При воздействии ионизирующего излучения в дозе 3,6 Гр гибель овец наблюдали в период с 12 по 22-е сут ($ЛД_{100/20}$). Снижение дозы облучения (2,4 Гр) приводило к гибели 50% животных в период с 30 по 35-е сутки ($ЛД_{50/30}$) исследования.

Интенсивность Ca^{2+}-обмена у интактных животных в течение всего периода исследования варьировала в пределах от 0,091 до 0,109 мкмоль/л клеток • мин. (табл. 1). При воздействии ионизирующего излучения в эритроцитах периферической крови овец регистрировали увеличение интенсивности Ca^{2+}-обмена. Так, облучение животных в дозе 1,2 приводило к статистически значимому увеличению значений показателя относительно исходных данных на 7-е (2 раза), 10-е (2,4 раза), 15-е (2,2 раза), 20-е (1,6 раза) сутки исследования.

Таблица 1

Интенсивность Ca^{2+}-обмена в эритроцитах периферической крови овец при воздействии ионизирующего излучения, мкмоль/л клеток • мин.

Сроки исследования, сутки	Дозы облучения			
	Контроль	1,2 Гр	2,4 Гр	3,6 Гр
до облучения	0,100 ±0,013	0,100 ±0,03	0,103 ±0,008	0,105 ±0,007
1	0,104 ±0,007	0,115 ±0,006	0,150 ±0,009*	0,185 ±0,012*
3	0,109 ±0,008	0,120 ±0,009	0,190 ±0,012*	0,230 ±0,017*
5	0,095 ±0,015	0,120 ±0,008	0,165 ±0,013*	0,170 ±0,018*
7	0,097 ±0,009	0,200 ±0,015*	0,110 ±0,009	0,160 ±0,018*
10	0,102 ±0,012	0,240 ±0,012*	0,180 ±0,002*	0,150 ±0,018*
15	0,107 ±0,013	0,215 ±0,025*	0,140 ±0,018	0,130 ±0,012*
20	0,091 ±0,012	0,160 ±0,012*	0,150 ±0,031*	0,140 ±0,012*
30	0,103 ±0,019	0,130 ±0,019	0,165 ±0,021*	-

Здесь и далее- статистически значимо относительно контроля, P < 0,05*

С увеличением дозы воздействия статистически значимые различия значений интенсивности Ca^{2+}-обмена в эритроцитах периферической крови овец наблюдали практически во все сроки наблюдения. Максимальные значения показателя отмечали у животных, облученных в дозе 3,6 Гр.

Пассивная проницаемость плазматической мембраны эритроцитов периферической крови интактных овец в течение всего периода исследования варьировала в пределах от 0,21 до 0,23 мкмоль/л клеток • мин. (рис. 1). При воздействии ионизирующего излучения у овец регистрировали увеличение проницаемости плазматической мембраны эритроцитов для ионов Ca^{2+}. Так, облучение животных в дозе 1,2 Гр приводило к статистически значимому увеличению значений показателя относительно исходных данных на 1-е (22 %), 3-е (22 %), 10-е (52 %), 30-е (17 %) сутки исследования. С увеличением дозы воздействия ионизирующего излучения статистически значимые различия пассивной проницаемости плазматической мембраны эритроцитов наблюдали практически во все сроки наблюдения. Максимальные значения показателя отмечали у животных, облученных в дозе 3,6 Гр.

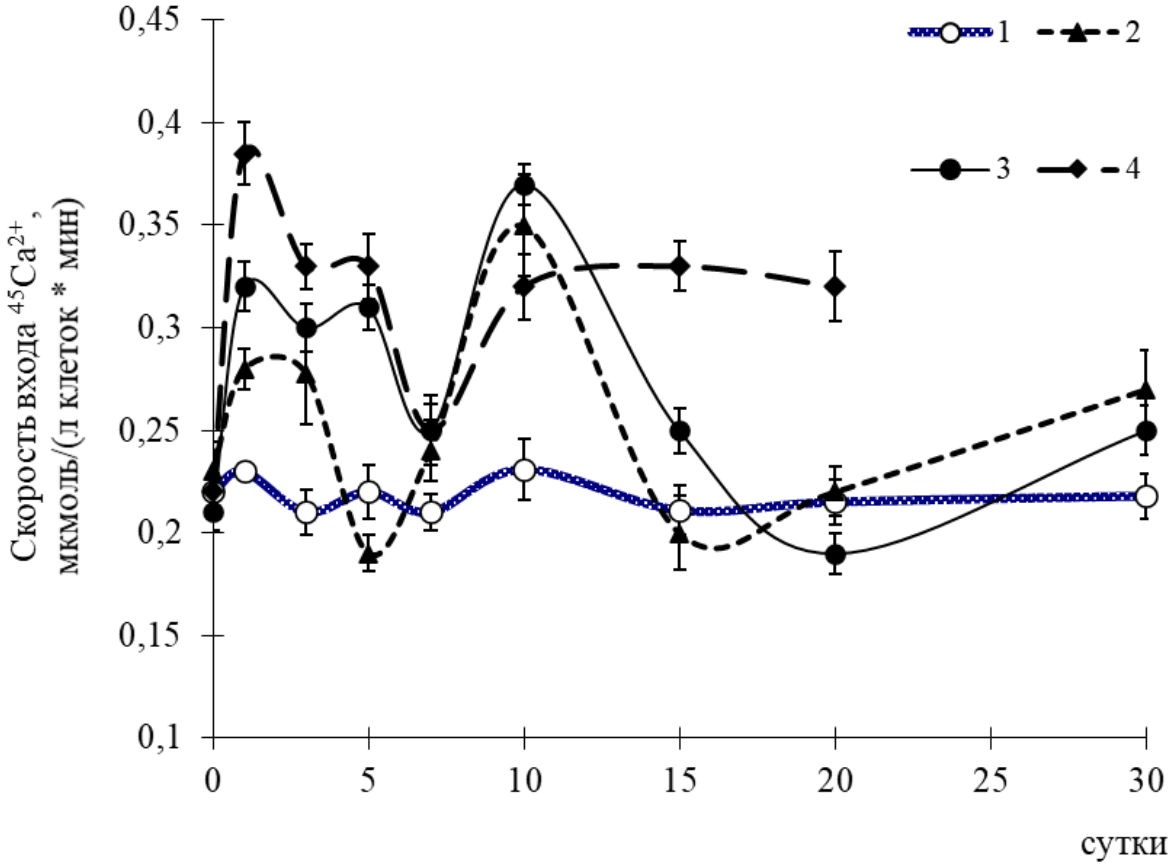


Рисунок 1. Пассивная проницаемость плазматической мембраны эритроцитов периферической крови овец при воздействии ионизирующего излучения
1 *– контроль;* ***2*** *– 1,2 Гр;* ***3*** *– 2,4 Гр;* ***4*** *– 3,6 Гр*

Дозовые зависимости пассивной проницаемости плазматической мембраны эритроцитов периферической крови овец для ионов Ca^{2+} на 1-е и 3 сутки после облучения представлены на рисунке 2.

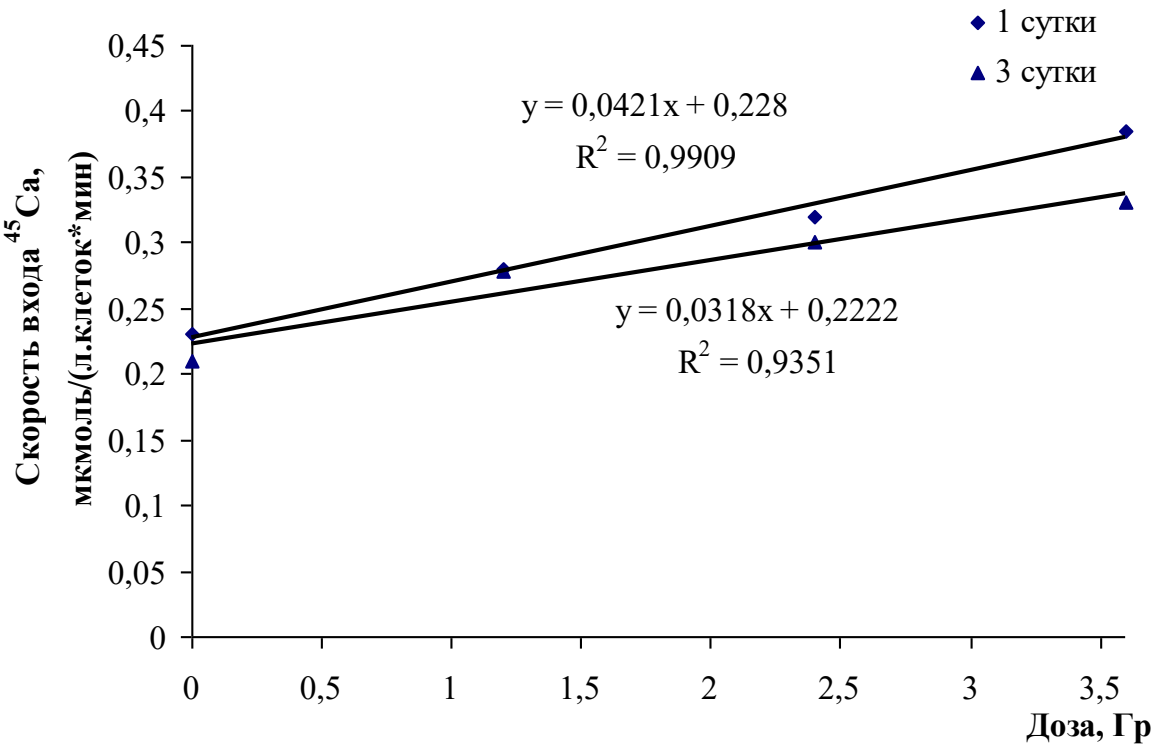


Рисунок 2. Зависимость пассивной проницаемости эритроцитов для ионов Ca^{2+} от дозы облучения овец

Концентрация ионизированного Ca^{2+} в эритроцитах периферической крови интактных овец варьировала в течение всего срока исследования в пределах от 64,4 до 70,1 нмоль/л (рис. 3). При воздействии ионизирующего излучения в эритроцитах периферической крови овец концентрация ионизированного Ca^{2+} возрастала. Облучение овец в дозе 1,2 Гр приводило к увеличению значений показателя относительно исходных данных на 1-е (18 %), 3 (30 %), 7-е (85 %), 10-е (1,1 раза), 15-е (1,4 раза) и 20-е (87 %) сутки исследования. С увеличением дозы воздействия ионизирующего излучения статистически значимые различия концентрации ионизированного Ca^{2+} в цитоплазме эритроцитов наблюдали практически во все сроки наблюдения. Максимальные значения показателя отмечали у животных, облученных в дозе 3,6 Гр.

Анализ значений концентрации ионизированного Ca^{2+} в эритроцитах облученных овец позволяет на 1-3-е сутки исследования прогнозировать исход лучевой болезни (табл. 2). Как видно из представленных в таблице 2 данных, у овец, облученных в дозе 1,2 Гр, усредненный показатель концентрации ионизированного Ca^{2+} в цитоплазме эритроцитов возрастает на 12 %. В то же время, у овец, облученных в летальных дозах, отмечали почти 3–4 кратное увеличение этого показателя. При этом, после облучения овец в дозе 3,6 Гр наблюдали 100 % летальный исход, тогда как при дозе облучения 2,4 Гр часть животных выжила. Разделение этой группы на подгруппы выживших и погибших овец показало, что величина концентрации ионизированного Ca^{2+} в цитоплазме эритроцитов в подгруппе выживших животных была близка к значению для овец с дозой облучения 1,2 Гр, тогда как в подгруппе с летальным исходом практически не отличалась от значения этого показателя в эритроцитах животных, облученных в дозе 3,6 Гр.

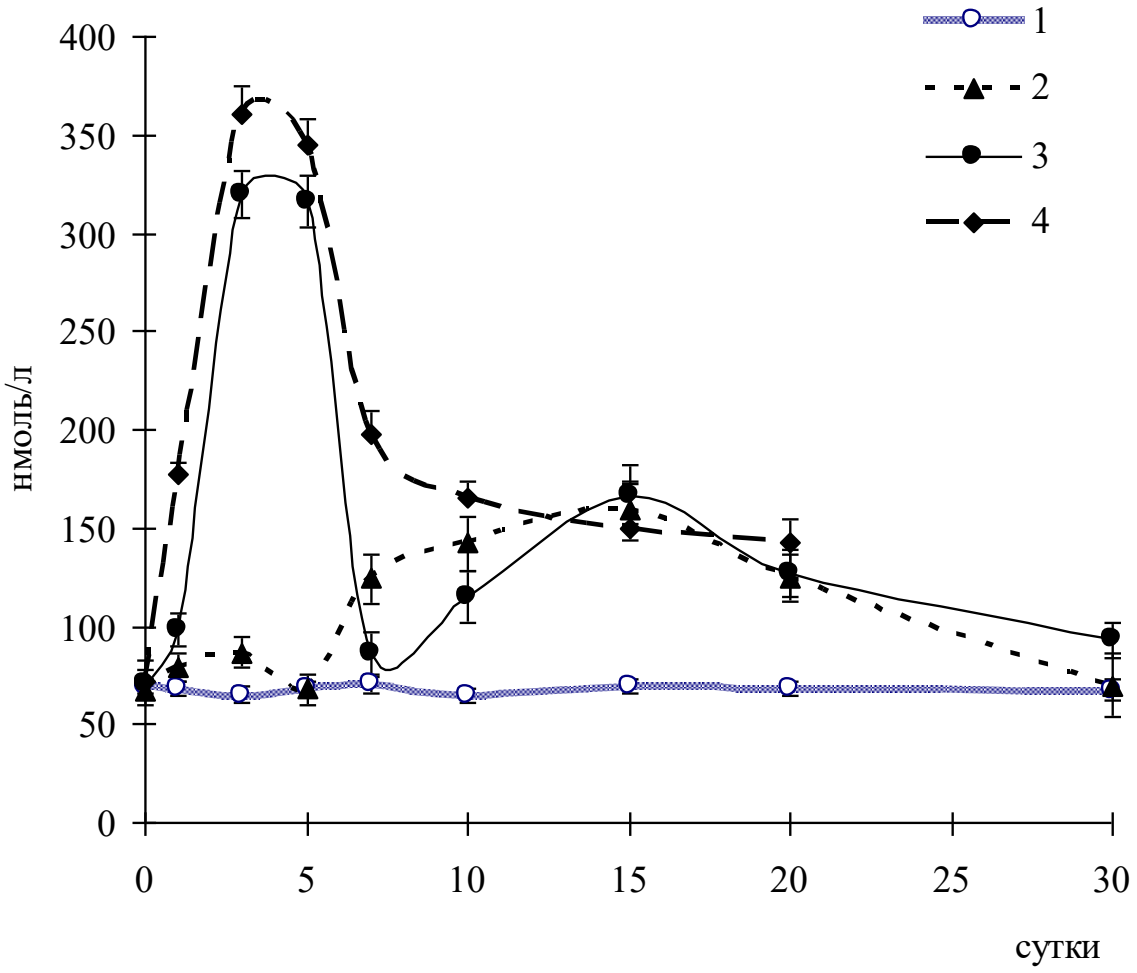


Рисунок 3. Концентрация ионизированного Ca^{2+} в эритроцитах облученных овец
1 *– контроль;* ***2*** *– 1,2 Гр;* ***3*** *– 2,4 Гр;* ***4*** *– 3,6 Гр*

Таблица 2

Усредненная величина концентрации ионизированного Ca^{2+} в цитоплазме эритроцитов облученных овец (измерение концентрации Ca^{2+} проводили на 1 и 3 сут и рассчитывали среднюю величину)

Доза облучения, Гр	Усредненная концентрация Ca^{2+}, %	Исход лучевой патологии
Контроль	100 ± 12	–
1,2	112 ± 5	Выжили
2,4	159 ± 28	Выжили
2,4^	225 ± 98	Выжили/погибли
2,4*	394 ± 26	Погибли
3,6*	438 ± 11	Погибли

Примечание:
^ – Объединенная группа выживших и погибших овец после облучения в дозе 2,4 Гр,
** – статистически значимо относительно контроля, $p < 0,05$*

Обсуждение

Оценка показателей состояния Ca^{2+}-гомеостаза в эритроцитах периферической крови интактных овец (контроль) не выявила существенных изменений в течение всего срока наблюдения (рис. 1, табл. 1). В то же время облучение овец приводило к существенным изменениям в функционировании системы Ca^{2+}-обмена эритроцитов. Так, пассивная проницаемость плазматической мембраны для ионов Ca^{2+} на 1-е и 3 сутки исследования статистически значимо возрастала, и эти изменения коррелировали с дозой облучения (r=0,995) (рис. 2). В последующие сроки наблюдали фазовый характер изменений с приближением к уровню контрольных значений на 20-е сутки исследования, но у животных, облученных в дозе 3,6 Гр, величина этого показателя не снижалась до момента их гибели, что может свидетельствовать о необратимости повреждения мембранных компонентов системы Ca^{2+}-обмена [14, 15]. Напротив, интенсивность Ca^{2+}-обмена статистически значимо возрастала только в случае доз облучения животных 2,4 и 3,6 Гр. С уменьшением дозы воздействия до 1,2 Гр изменения отсутствовали вплоть до 7 суток (табл. 1).

Характерно, что степень нарушения Ca^{2+}-гомеостаза в эритроцитах облученных животных (рис. 1) была так же максимальной при облучении в дозах 2,4 и 3,6 Гр на 3-е и 5-е сутки после воздействия (322 % и 395 %, соответственно). Снижение дозы облучения до 1,2 Гр приводило к тому, что первая фаза увеличения концентрации ионизированного Ca^{2+} в цитоплазме практически отсутствовала и не превышала 105–110 % исходных значений. Необходимо отметить тот факт, что в период, соответствующий разгару лучевой болезни животных, который мы регистрировали по клинико-гематологическим показателям, наблюдался второй пик увеличения интенсивности Ca^{2+}-обмена, начиная с 10 суток. Эти изменения сопровождались возрастанием концентрации ионизированного Ca^{2+} в цитоплазме и отсутствием зависимости от величины дозы воздействия ионизирующего излучения.

Следовательно, в эритроцитах облученных овец наблюдали повреждение системы Ca^{2+}-обмена, которое, в первую очередь, выражалось в увеличении пассивной проницаемости плазматической мембраны для ионов Ca^{2+} уже через сутки после воздействия. При облучении овец в дозе 1,2 Гр увеличение входа катиона компенсировалось активацией Ca^{2+}-Mg^{2+}-АТФазы и не приводило к необратимому накоплению ионизированного Ca^{2+} в цитоплазме. В то же время при воздействии ионизирующего излучения в дозах 2,4 и 3,6 Гр степень повреждения системы Ca^{2+}-обмена была столь высокой, что уже на 3 сутки исследования концентрация ионизированного Ca^{2+} в эритроцитах достигала таких величин (310–360 нмоль), которые, по данным ряда авторов, характерны для развития процесса клеточной гибели [8].

На основании полученных результатов можно выделить следующие основные моменты в развитии процессов нарушения интенсивности Ca^{2+}-обмена при действии ионизирующего излучения:

1) в первые сутки после облучения в эритроцитах происходит зависящее от дозы увеличение пассивной проницаемости мембран для ионов Ca^{2+};

2) состояние внутриклеточного Ca^{2+}-гомеостаза необратимо нарушается при летальных дозах в связи с тем, что система Ca^{2+}-обмена не способна справиться с ростом поступления ионов Ca^{2+} в клетки, концентрация которого растет, а возможности репарационных систем недостаточны;

3) при снижении дозы ионизирующего излучения изменения внутриклеточного Ca^{2+}-гомеостаза обратимы, но при всех дозах облучения наблюдается эффект вторичной модификации функционирования системы Ca^{2+}-обмена.

В настоящее время общепринято, что цитотоксические эффекты эндогенного Ca^{2+} преимущественно связаны с увеличением проницаемости плазматической мембраны для ионов Ca^{2+} и избыточным накоплением катиона в цитоплазме, особенно в митохондриях. При рассмотрении данных об увеличении концентрации ионизированного Ca^{2+} в цитоплазме клеток после облучения в процессе развития патологии в организме правомочен вопрос о потенциальной опасности такого изменения и способности клетки к

коррекции Ca^{2+}-гомеостаза. Действительно, при перегрузке цитоплазмы ионами Ca^{2+} клетки могут эффективно удалять его за счет активации двух мембранных белков, осуществляющих перенос Ca^{2+} против градиента концентраций (системы Ca^{2+}-Na^{+}-обмена и Ca^{2+}-Mg^{2+}-АТФазы). И именно активация Ca^{2+}-насоса в эритроцитах при облучении животных в сублетальных дозах (1,2 Гр) предотвращает накопление Ca^{2+} в цитоплазме. Следует отметить, что максимальная скорость активного транспорта Ca^{2+} почти в 200 раз превышает пассивную проницаемость плазматической мембраны [6], и на поддержание неравновесного распределения катионов между внеклеточной средой и цитоплазмой транспортные АТФазы расходуют до 40 % АТФ от общих потребностей клеток [12]. При этом воздействие ионизирующего излучения в летальных дозах приводит к резкому снижению внутриклеточного уровня АТФ в первые 7 суток исследования, особенно в радиочувствительных клетках [13]. Поэтому вторая фаза нарушения Ca^{2+}-гомеостаза, наблюдаемая нами в эти сроки в эритроцитах облученных овец при всех дозах ионизирующего излучения, вероятно, является отражением процесса истощения энергетических ресурсов клетки, что при больших дозах может привести к развитию необратимого нарушения Ca^{2+}-гомеостаза, а активация Ca^{2+}-зависимых ферментов деградации после первичного повышения концентрации ионизированного Ca^{2+} в цитоплазме облученных клеток инициировать вторичное повреждение мембраны и внутриклеточных органелл. Следствием этого для эритроцитов может являться утеря клетками способности к адекватной реакции на внеклеточные стимулы, механизм действия которых связан с использованием ионов Ca^{2+} в качестве внутриклеточного посредника, а для радиочувствительных клеток (лимфоцитов) инициация механизма гибели, который как предполагается, связан с Ca^{2+}-перегрузкой митохондрий.

Таким образом, модификацию показателей системы Ca^{2+}-обмена можно рассматривать в качестве одного из центральных звеньев повреждающего действия ионизирующего излучения как на клетки, так и на организм в целом, а степень нарушения Ca^{2+}-обмена в начальный период после облучения предопределяет характер развития лучевой патологии. Полученные результаты дополняют и расширяют существующие представления о Ca^{2+} зависимых механизмах действия ионизирующего излучения. Определение состояния системы Ca^{2+}-обмена в эритроцитах периферической крови (пассивная проницаемость плазматической мембраны для ионов Ca^{2+}, концентрация ионизированного Ca^{2+}) можно предложить в качестве дополнительного критерия оценки степени тяжести и исхода лучевой патологии организма.

Выводы

1. При действии ионизирующего излучения в дозах 1,2; 2,4 и 3,6 Гр в эритроцитах периферической крови овец регистрировали изменения показателей системы Ca^{2+}-обмена (интенсивность Ca^{2+}-обмена, пассивная проницаемость плазматической мембраны, концентрация ионизированного Ca^{2+} в цитоплазме). Наиболее выраженные изменения показателей системы Ca^{2+}-обмена наблюдали при облучении овец в дозе 3,6 Гр.

2. Пассивная проницаемость плазматической мембраны эритроцитов периферической крови прямо пропорционально зависит от дозы облучения овец. Коэффициент корреляции на 1-е и 3 сутки исследования составляет 0,99.

3. Определение состояния системы Ca^{2+}-обмена в эритроцитах периферической крови овец (пассивная проницаемость плазматической мембраны эритроцитов, концентрация ионизированного Ca^{2+} в цитоплазме) при действии ионизирующего излучения позволяет оценить степень тяжести и исход лучевой патологии в первые сутки исследования.

Литература

1. *Кругликов Б.П.* Радиочувствительность сельскохозяйственных животных // Сельскохозяйственная биология. 1986. № 11. С. 91–96.

2. *Панченко И.Я., Сарапульцев И.А.* Биологическое действие внешнего облучения и инкорпорированных радионуклидов на организм животных / В кн.: Радиобиология и радиоэкология сельскохозяйственных животных. Под ред.

Б.Н. Анненкова, И.К. Дибобеса, Р.М. Алексахина. М.: Атомиздат, 1973. С. 45–69.

3. *Sasser L.B., Bell M.C., Cross F.H.* Haematologic response of sheep and cattle to whole-body gamma irradiation and gastrointestinal and skin beta irradiation // Amer. J. Vet. Res. 1973. V. 34. N 2. P. 1555–1560.

4. *Bootman M.D., Lipp P., Berridge M.J.* The organization and functions of local Ca2+ signals // Journal of Cell Science. 2001. V. 114. P. 2213–2222.

5. *Rizzuto R., Pozzan T.* Microdomains of Intracellular Ca2+: Molecular Determinants and Functional Consequences // Physiol. Rev. 2006. V. 86(1). P. 369–408.

6. *Berridge M.J., Bootman M.D., Lipp P.* Calcium – a life and death signal // Nature. 1998. V. 395. P. 645–648.

7. *Farber J.L.* The role of calcium in cell death // Life Sci. 1986. V. 29 (113). P. 289–295.

8. *Покудин Н.Н., Орлов С.Н.* Транспорт Ca^{2+} в эритроцитах человека: исследования на клетках, нагруженных высокоселективным хелатором кальция // Биологические мембраны. 1986. Т. 3. № 2. С. 108–117.

9. *Сунгуров А.Ю.* Разделение и анализ клеток физическими методами / Итоги науки и техники. ВИНИТИ. Серия «Цитология». 1985. Т. 4. С. 145.

10. *Кобялко В.О., Шевченко А.С.* Об особенностях Ca2+-обмена в эритроцитах жвачных // Сельскохозяйственная биология. 1998. № 8. С. 21–25.

11. *Минцер О.П., Угаров Б.Н., Власов В.В.* Методы обработки медицинской информации. К.: Выща школа, 1991. 271 с.

12. *Gunter T.E., Gunter K.K., Sheu S-S., Gavin C.E.* Mitochondrial calcium transport: physiological and pathological relevance // Am. J. Physiol. 1994. V. 267. P. 313–399.

13. *Романцев Е.Ф., Блохина В.Д., Жуханова З.Н. и др.* Молекулярные механизмы лучевой болезни. М.: Медицина, 1984. 208 с.

Активность системы цАМФ в лимфоцитах овец после внешнего γ-облучения

Шевченко Т.С.

ФГБНУ ВНИИ радиологии и агроэкологии

Представлены результаты исследования активности системы циклического аденозин-3,5-монофосфата (цАМФ) в лимфоцитах, выделенных из периферической крови овец, подвергнутых внешнему γ-облучению в дозе 4 Гр. Изучали активности базальной и стимулированной простагландином E_1 аденилатциклазы и фосфодиэстеразы с использованием метода тонкослойной хроматографии, определяли содержание цАМФ с помощью радиоиммунологических наборов с ^{125}J и рассчитывали коэффициент стимуляции аденилатциклазы в клетках крови облученных и необлученных овец. Показано, что с 1-х суток после внешнего γ-облучения на организм овец наблюдалось изменение всех показателей системы цАМФ в лимфоцитах. Было выявлено повышение активности базальной и стимулированной простагландином E_1 аденилатциклазы и фосфодиэстеразы, увеличение коэффициента стимуляции аденилатциклазы и снижение содержания цАМФ в начальный период лучевого поражения животных.

Внешнее γ-облучение, лимфоциты, базальная активность аденилатциклазы, стимулированная простагландином Е1 активность аденилатциклазы, активность фосфодиэстеразы, содержание цАМФ, коэффициент стимуляции аденилатциклазы, овцы

Центральная роль в регуляции клеточного метаболизма принадлежит сигнальным системам, которые активируются определенными сигнальными молекулами: гормонами, медиаторами, нейротрансмиттерами, называемыми также первичными мессенджерами [1–3]. Вторичными мессенджерами являются системы циклических аденозин- и гуанозинмонофосфата (цАМФ, цГМФ), Ca^{2+}-кальмодулиновая, инозитолфосфатная и диацилглицериновая [4–7]. Трансдукция сигнала от первичных мессенджеров в клетку опосредуется, к примеру, путем активации цАМФ-зависимой сигнальной системы через трансмембранный каскад: β-адренорецептор, G-белки и аденилатциклаза [8–9]. Система цАМФ вызывает типичные метаболические и функциональные сдвиги, меняя соответствующие функции клеток [10, 11]. Через цАМФ-зависимую систему трансмембранной передачи сигналов происходит регуляция метаболизма, пролиферации и дифференцировки клеток, экспрессии генов; она также играет важную роль в кроветворении, клеточном иммунитете, вирусной инфекции, регуляции апоптоза и других процессах [12–18]. Выявлено участие внутриклеточных мессенджерных систем в поддержании нормального гемостаза и функционирования тромбоцитов [19], получены экспериментальные доказательства участия цАМФ-зависимой сигнальной системы в изменении эластичности эритроцитарных мембран и деформируемости эритроцитов [20–22].

Известно, что воздействие ионизирующего излучения на организм млекопитающих приводит к изменению содержания в тканях и периферической крови катехоламинов, кортикостероидов, серотонина и других соединений, активирующих соответствующие сигнальные пути [23]. Отмечены пострадиационные нарушения активности ферментов системы цАМФ в различных клеточных популяциях лабораторных и сельскохозяйственных животных [24–31]. Воздействие внешнего γ-облучения на организм животных в дозах 2–10 Гр в первую очередь поражает систему кроветворения, в результате чего происходит снижение количества клеток костного мозга и периферической крови [23]. Поэтому возникает вопрос, влияет ли такое воздействие на функционирование цАМФ-зависимой сигнальной системы в радиочувствительных клетках периферической крови. Основная часть публикаций по данной проблеме связана с исследованиями организма лабораторных животных, однако по физиологическим особенностям они

значительно отличаются от сельско-хозяйственных.

Поэтому целью нашей работы стало исследование активности системы цАМФ в наиболее радиочувствительных клетках крови овец, подвергнутых внешнему γ-облучению. Изучали активности базальной и стимулированной простагландином E_1 аденилатциклазы, фосфодиэстеразы, определяли содержание цАМФ и коэффициент стимуляции аденилатциклазы в лимфоцитах, выделенных из крови облученных и необлученных овец.

Материалы и методика

Исследования проводили на 16 овцах цыгайской породы (бараны) живой массой (32,35 ± 0,08) кг, которых содержали в условиях вивария ВНИИРАЭ. Экспериментальные животные были получены из хозяйств Калужской области, имели ветеринарный сертификат и прошли 20-суточный карантин в виварии ВНИИРАЭ. Все работы с животными выполнялись в соответствии с ГОСТ 33215-2014 [32]. Рацион был сбалансирован по основным питательным веществам согласно нормам Всероссийского НИИ животноводства.

Определение клинического состояния подопытных животных проводили по показателям, принятым в клинической диагностике сельскохозяйственных животных: общий вид овец, поведение, реакцию на внешние раздражители, аппетит, температуру тела, частоту пульса и дыхания, функциональное состояние желудочно-кишечного тракта, динамику живой массы. Для оценки степени радиационного поражения использовали гематологические показатели: количество эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитов и лейкоцитарную формулу по стандартным методикам [33]. До начала эксперимента биологические и клинические показатели овец контрольной и опытной групп были равноценными. Условия содержания животных контрольной и опытной групп были идентичными.

Контролем служила группа из 8 овец. Опытную группу животных, состоящую из 8 голов, подвергали общему внешнему γ-облучению в дозе 4 Гр при мощности дозы 1 Гр/ч на установке «ГУЖ-24» (источник излучения ^{137}Cs с энергией γ-квантов 0,67 МэВ) (Россия). Контроль уровня дозы и равномерности облучения подопытных животных осуществляли дозиметром «VAJ-18» (Германия) со сферической ионизационной камерой «VAK-253» (Германия). Неравномерность γ-поля не превышала ±15 %.

Кровь животных отбирали из яремной вены до облучения и на 1-, 3-, 5-, 7-, 10- и 15-е сутки после воздействия. Антикоагулянтом служил цитрат натрия в конечной концентрации 0,38 %. Популяции лимфоцитов овец выделяли разработанным нами способом [34]. Изолированные клетки промывали два раза в растворе, содержащем NaCl; KCl; K_2HPO_4; $MgCl_2$; глюкозу и N-2-(гидроксиэтил) пиперазин N′-2-этансульфоновую кислоту (145; 5; 0,5; 1; 3 и 10 ммоль/л соответственно), pH 7,4. Подсчет количества клеток в полученных суспензиях проводили под микроскопом в камере Горяева. Жизнеспособность выделенных клеток, определяемая с помощью окрашивания 0,1 %-ным раствором трипанового синего, составляла 95 %. Перед проведением ферментной реакции аликвоту лимфоцитов лизировали в гипотонической среде 30 мин при 4 °С.

Данные определения активности основных ферментов системы цАМФ и содержания цАМФ в лимфоцитах всех 16 голов овец до начала эксперимента рассматривали как объединенный контроль (исходные данные).

Активность аденилатциклазы и фосфодиэстеразы в лизатах клеток определяли в соответствии с условиями, описанными ранее [35]. В качестве меченых субстратов ферментных реакций использовали [^{14}C]-АТФ и [^{3}H]-цАМФ («Amersham», Великобритания). Разделение продуктов ферментных реакций проводили методом тонкослойной хроматографии на пластинах «Силуфол УФ-254» (Чехия). Среда инкубации для анализа активности аденилатциклазы включала: АТФ; ГТФ; $MgSO_4$; этиленгликоль-ди/β-аминоэтиловый эфир/-N,N-уксусной кислоты (ЭГТА); креатинфосфат; трис-HCl (0,5: 0,1; 10; 2; 5; 50 ммоль/л соответственно), 40 ед/мл креатинкиназы; 37 КБк [^{14}C]-АТФ (pH 7,4; t=30 °С).

Гормон-стимулированную активность аденилатциклазы определяли в присутствии

10^{-5} моль/л простагландина E_1 по разнице ферментной активности с активатором и без него, а коэффициент стимуляции аденилатциклазы – по отношению величин стимулированной и базальной компонент активности фермента. Простагландин E_1 был выбран в качестве эффектора в связи с тем, что он стимулирует фермент, действуя на α-рецепторы аденилатциклазного комплекса в исследуемых типах клеток [36].

Для оценки активности фосфодиэстеразы использовали среду инкубации, содержащую: 5-АМФ; цАМФ; $MgCl_2$; HCl (3; 0,3; 15; 100 ммоль/л соответственно) и 2 КБк [^{3}H]-цАМФ (pH 8,0; t =37 °C).

Содержание цАМФ в исследуемых клетках крови измеряли при помощи радиоиммунологических наборов с ^{125}J (Chemapol, Чехия).

Подсчет радиоактивности всех образцов проводили на жидкостно-сцинтилляционном счетчике SL–4220 (Intertechnique, Франция).

Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента и пакета программ Microsoft Excel 2003. Различия между контрольными и опытными значениями считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Базальная активность аденилатциклазы – это активность синтезирующего цАМФ фермента в отсутствии стимулирующего или ингибирующего действия на клетку физиологически активных соединений [25]. Величина этого показателя в лимфоцитах необлученных овец составляла (2,82 ± 0,64) пмоль/мин × 10^6 клеток, что сравнимо с величиной базальной активности аденилатциклазы в лимфоцитах крупного рогатого скота (КРС), равной (2,0 ± 0,4) пмоль/мин × 10^6 клеток [28]. У контрольных животных активность аденилатциклазы и остальные исследованные параметры практически не менялись в течение всего эксперимента.

Внешнее γ-облучение приводило к повышению базальной активности аденилатциклазы в лимфоцитах животных с 1-х суток (табл. 1). В этот срок активность фермента в лимфоцитах облученных овец была в 1,73 раза выше, чем у необлученных. На 3-и и 5-е сутки значения базальной активности фермента в лимфоцитах увеличивались по сравнению с объединенным контролем в 2,15 и 4,32 раза соответственно. Повышенные значения параметра регистрировали и в последующие сроки: на 7-е сутки – в 2,22 раза, на 10-е сутки – в 2,94 раза, на 15-е сутки – в 3,26 раза по сравнению с исходными значениями.

Стимулированная активность аденилатциклазы в присутствии эффектора – простагландина E_1 в лимфоцитах необлученных животных составляла (2,49 ± 0,43) пмоль/мин × 10^6 клеток (табл. 1). На 1-е сутки после воздействия γ-излучения отмечали увеличение показателя в 2,95 раза, на 3-и и 5-е сутки - в 2,94 и 8,76 раза соответственно. Стимулированная активность фермента на 7-е сутки повышалась в 2,13 раза. Ее величина на 10-е и 15-е суткм была близкой к исходным данным. Следовательно, у овец с 1-х суток лучевого поражения средней степени тяжести была выявлена более высокая активность аденилатциклазы в лимфоцитах (как базальной, так и стимулированной простагландином E_1). Величина базальной активности фермента сохранялась повышенной на протяжении всего срока исследования, а стимулированной – с 1-х по 7-е сутки. Максимальные значения базальной и стимулированной активности аденилатциклазы в лимфоцитах регистрировали на 5-е сутки.

Коэффициент стимуляции аденилатциклазы лимфоцитов интактных овец был равен 0,77±0,03 отн. ед. (табл. 1). У облученных животных его величина статистически значимо возрастала на 1-е и 5-е сутки в 1,82 и 2,34 раза соответственно, на 7-е сутки – в 1,23 раза, а в последующие сроки возвращалась к исходным значениям.

Активность фосфодиэстеразы в лимфоцитах необлученных овец находилась на уровне (205 ± 20) нмоль/мин × 10^6 клеток (табл. 2). После воздействия γ-излучения активность фермента в лимфоцитах увеличивалась на 1-е, 3-и и 7-е сутки в 2,77, 2,96 и 2,4 раза по сравнению с исходными данными, соответственно. На 15-е сутки значение показателя соответствовало величине активности фосфодиэстеразы клеток необлученных

животных.

Таблица 1

Базальная и стимулированная активность и коэффициент стимуляции аденилатциклазы в лимфоцитах крови облученных овец

Сроки исследования относительно облучения, сут	Группа	Базальная активность аденилатциклазы (пмоль/мин/ 10^6 клеток)	Стимулированная активность аденилатциклазы (пмоль/мин/ 10^6 клеток)	Коэффициент стимуляции аденилатциклазы, отн. ед.
0	Объединенный контроль (исходные данные)	2,82 ± 0,64	2,49 ± 0,43	0,77 ± 0,03
1	Контроль	2,66 ± 0,48	2,53 ± 0,42	0,82 ± 0,07
	Опыт	4,88 ± 0,56*	7,35 ± 0,26*	1,4 ± 0,39*
3	Контроль	2,97 ± 0,55	2,34 ± 0,35	0,75 ± 0,12
	Опыт	6,05 ± 1,62	7,33 ± 0,11*	1,3 ± 0,5
5	Контроль	2,64 ± 0,52	2,33 ± 0,31	0.84 ± 0,04
	Опыт	12,17 ± 1,44*	21,8 ± 5,16*	1,8 ± 0,26*
7	Контроль	3,03 ± 0,44	2,47 ± 0,0,28	0,81 ± 0,09
	Опыт	6,25 ± 1,10*	5,31 ± 1,01*	0,95 ± 0,26
10	Контроль	2,92 ± 0,36	2,32 ± 0,44	0,86 ± 0,08
	Опыт	8,30 ± 1,90*	3,22	0,5 ± 0,1
15	Контроль	3,11 ± 0,45	2,45 ± 0,33	0,78 ± 0,06
	Опыт	8,20 ± 0,60*	2,12	0,75 ± 0,05

**отличие от контроля статистически значимо – $p < 0,05$*

Таблица 2

Активность фосфодиэстеразы и содержание цАМФ в лимфоцитах крови облученных овец

Сроки исследования относительно облучения, сут	Группа	Активность фосфодиэстеразы (нмоль/мин/10^6 клеток)	Содержание цАМФ (пмоль/10^6 клеток)
0	Объединенный контроль (исходные данные)	205 ± 20	13,3 ± 2,7
1	Контроль	211 ± 17	14,8 ± 0,8
	Опыт	568 ± 29*	4,9 ± 1,2* (12 ч)
3	Контроль	212 ± 13	15,1 ± 0,7
	Опыт	606 ± 18*	5,6 ± 1,0*
5	Контроль	–	–
	Опыт	–	–
7	Контроль	208 ± 14	14,6 ± 0,9
	Опыт	493 ± 63*	13,9 ± 5,2
10	Контроль	–	14,7 ± 1,2
	Опыт	–	16,9 ± 5,2
15	Контроль	203 ± 19	–
	Опыт	185 ± 38	–

**отличие от контроля статистически значимо – $p < 0,05$*

У экспериментальных овец до облучения содержание цАМФ в лимфоцитах составляло (13,3 ± 2,7) пмоль × 10^6 клеток (табл. 2). Через 12 ч после воздействия γ-излучения уровень цАМФ в этих клетках снижался в 2,71 раза, а на 3-и сутки – в 2,38 раза. На 7-е – 10-е сутки содержание цАМФ в лимфоцитах соответствовало исходным величинам.

Таким образом, с 1-х суток после внешнего воздействия на овец γ-излучения, в лимфоцитах, выделенных из периферической крови животных, наблюдалось выраженное изменение всех показателей системы цАМФ.

Обсуждение

Анализ представленных данных исследования активности системы цАМФ в лимфоцитах овец, подвергнутых общему внешнему воздействию γ-излучения, позволяет говорить о модификации всех составляющих этой сигнальной системы: базальной и стимулированной простагландином E_1 активности аденилатциклазы, активности фосфодиэстеразы, коэффициента стимуляции аденилатциклазы и содержания цАМФ уже с 1-х суток лучевого поражения животных.

Раннее пострадиационное увеличение базальной и стимулированной активности аденилатциклазы, обнаруженное в лимфоцитах, объясняется, по-видимому, следующим образом. Поскольку базальная активность аденилатциклазы связана с каталитической субъединицей фермента, а стимулированная – с регуляторной [25], очевидно, что воздействие γ-излучения влияет на функционирование обеих субъединиц ферментного комплекса. Активность аденилатциклазы в первую очередь зависит от конформации макромолекулы и ее взаимодействия с мембранными составляющими, поскольку фермент встроен в цитоплазматическую мембрану клетки [25]. Биологические мембраны рассматриваются в качестве одной из мишеней действия ионизирующей радиации на клетки [37, 38]. Поэтому кажется несомненным, что изменение активности аденилатциклазы после лучевого воздействия вызвано радиационно-индуцированным нарушением структурно-функционального состояния цитоплазматических мембран исследованных клеток.

В начальный период после облучения животных происходит повышение коэффициента стимуляции аденилатциклазы, что, наряду с увеличением стимулированной простагландином E_1 активности аденилатциклазы, свидетельствует об усилении эффективности передачи гормонального сигнала в лимфоцитарную клетку. Казалось бы, повышение активности цАМФ-синтезирующего фермента – аденилатциклазы и усиление эффективности передачи сигнала в лимфоцитарные клетки должны привести к увеличению концентрации цАМФ в лимфоцитах. Однако в первые трое суток после облучения животных отмечено снижение содержания цАМФ в лимфоцитах, а в дальнейшем, вплоть до 15-х суток наблюдения, характерным признаком было постоянство внутриклеточной концентрации цАМФ, соответствующей ее уровню у необлученных животных.

Это кажущееся противоречие объясняется, видимо, многократным усилением активности фосфодиэстеразы – фермента, гидролизующего цАМФ [39]. Фосфодиэстераза преимущественно локализована в цитоплазме клеток и в присутствии ионов Ca^{2+} активируется кальмодулином [40, 41]. Проведенные нами ранее исследования показали, что после облучения овец в лимфоцитах (и тимоцитах) резко возрастает проницаемость цитоплазматической мембраны для Ca^{2+} и увеличивается содержание общего и ионизированного Ca^{2+} [42, 43]. Поэтому снижение содержания цАМФ в лимфоцитах может быть объяснено повышенной активностью фосфодиэстеразы в результате Ca^{2+}-кальмодулиновой активации этого фермента.

Другой возможной причиной подобных изменений состояния системы цАМФ в лимфоцитах облученных овец может быть изменение морфологического состава лимфоидной популяции клеток крови, связанное с феноменом интерфазной гибели лимфоцитов [23].

Подтверждением такого предположения можно считать экспериментально установленную более высокую чувствительность к

воздействию γ-излучения В-лимфоцитов (D_0 = 1,2–1,8 Гр). В норме, при сроке жизни В-лимфоцитов 1––5 суток, их доля у лабораторных животных, крупного рогатого скота и телят составляет, соответственно, 20, 33 и 15 % от всей лимфоидной популяции [44, 45]. В крови здорового человека количество В-лимфоцитов достигает 10–12 % [46]. При действии γ-излучения на организм овец в исследуемой дозе к 3-м суткам (ко времени максимального опустошения пула лимфоцитов в кровеносном русле) число В-клеток в периферической крови значительно снижается [45-47].

Т-лимфоциты - более радиорезистентные клетки (для основной части Т-клеток D_0 = 2,0–2,5 Гр, а для 3–8 % популяции превышает 10 Гр) и срок их жизни составляет 200–300 сут [45]. Относительное содержание субпопуляции Т-лимфоцитов от всей лимфоидной популяции у лабораторных животных, крупного рогатого скота, телят и человека в норме составляет, приблизительно, 77, 64, 82 и 78 %, соответственно [44–46].

Очевидно, что после облучения овец в периферической крови животных происходит перераспределение субпопуляционного состава лимфоидной популяции: увеличивается доля Т-клеток из-за массовой гибели радиочувствительных В-лимфоцитов, а также изменяется субпопуляционный состав Т-лимфоцитов в сторону наиболее радиорезистентных клеток.

В связи с этим популяция лимфоцитов, циркулирующая в кровеносном русле после радиоиндуцированной убыли клеток, представлена, в основном, наиболее радиорезистентными Т-лимфоцитами, сохраняющимися в периферической крови длительное время и новыми, образующимися в костном мозге Т- и В-лимфоцитами, видимо, со вновь приобретенными клеточными рецепторами и поверхностными маркерами [48].

Поэтому можно полагать, что повышенная активность ферментов системы цАМФ в лимфоцитах связана не только с пострадиационной модификацией цитоплазматической мембраны, но в большей степени является характерной особенностью клеток, циркулирующих в периферической крови после гибели наиболее радиочувствительной части лимфоидной субпопуляции. Лимфоциты, находящиеся в кровеносном русле после лучевого воздействия, отличаются особыми качествами: они характеризуются не только повышенной активностью аденилатциклазы и фосфодиэстеразы, но также увеличенным содержанием Ca^{2+} [42] и внутриклеточного белка [49].

Иными словами, после воздействия γ-излучения в полулетальной дозе на организм овец в периферической крови животных циркулируют наиболее радиорезистентные лимфоциты, обладающие повышенным содержанием белка, кальция и большей функциональной активностью ферментов системы цАМФ. Очевидно, эта популяция клеток имеет и большую устойчивость к действию ионизирующего излучения.

Следовательно, при внешнем воздействии γ-излучения на организм овец обнаружены изменения активности ферментов системы цАМФ в наиболее радиочувствительных клетках периферической крови - лимфоцитах. В этих клетках с 1-х суток выявлено увеличение базальной и стимулированной простагландином E_1 активности фермента. Также в лимфоцитах были повышены активность фосфодиэстеразы и коэффициент стимуляции аденилатциклазы. Кроме того, в начальный период лучевой патологии отмечали уменьшение содержания внутриклеточного цАМФ. В дальнейших исследованиях (на 7–15-е сутки) содержание цАМФ в лимфоцитах возвращалось к исходному уровню, демонстрируя постоянство концентрации этого циклического нуклеотида.

Итак, при развитии лучевой патологии у овец, подвергнутых внешнему γ-облучению, с первых суток наблюдается изменение активности ферментов системы цАМФ и содержания цАМФ в лимфоцитах, выделенных из периферической крови животных. Можно предполагать, что радиационно-индуцированная модификация активности системы цАМФ в исследованных клетках в разные периоды после воздействия обусловлена разными механизмами. В начальный период лучевой патологии животных изменение активности этой сигнальной системы вызывается радиационным воздействием на мембраны клеток, находящихся в

периферической крови. В последующие сроки проявление этой модификации определяется преобладанием в периферической крови более устойчивой к лучевому повреждению субпопуляции лимфоцитов с повышенной активностью ферментов системы цАМФ и концентрацией цАМФ, соответствующей ее уровню у необлученных животных.

Таким образом, система цАМФ, с одной стороны, характеризуется повышенной реактивностью к внешнему воздействию γ-излучения на организм, что выражается в изменении всех ее показателей практически с первых часов после облучения. А с другой стороны, в клетках, сохраняющихся после облучения животных в периферической крови (после 3-х суток), обеспечивается стабильность пула цАМФ, являющегося важнейшим регулятором внутриклеточного метаболизма. Совокупность этих характеристик (а именно: высокой чувствительности к действию γ-излучения и обеспечение относительной стабильности пула цАМФ) позволяет считать, что в исследованный период лучевой патологии система цАМФ сохраняет способность к инициации и регуляции эффективности эндогенных защитных механизмов в организме животных на молекулярном и клеточном уровнях.

Литература

1. Innovative Discovery Tools for Signal Transduction Research. Cell Signaling Technology. Beverly, USA. 2003. 416 p.

2. *Смирнов А.Н.* Элементы эндокринной регуляции /под ред. В.А. Ткачука. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 352 с.

3. *Мушкамбаров Н.Н., Кузнецов Л.М.* Молекулярная биология. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2007. 536 с.

4. *Berridge M.J.* Inositol triphosphate and diacylglycerol: two interacting second messenger // Ann. Rev. Biochem. 1987. V. 54. P. 159–194.

5. *Berridge M.J., Lipp P., Bootman M.D.* The versality and universality of calcium signaling // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2000. № 1. P. 11–21.

6. *Nunomura W., Takakuwa Y.* Regulation of protein 4. 1R interactions with membrane proteins by Ca2+ and calmodulin // Front Biosci. 2006. № 11. P. 1522–1539.

7. *Ширшев С.В.* Роль белков EPAC в механизмах CAMP-зависимой иммунорегуляции // Биохимия. 2011. Т. 76. № 9. С. 1205–1224.

8. *Sprague R., Bowles E., Stumpf M. et al.* Rabbit erythrocytes possess adenilate cyclase type II that is activated by the heterotrimeric G proteins Gs and Gi. // Pharmacol. Rep. 2005. № 57. P. 222–228.

9. *Авдонин П.В., Кожевникова Л.М.* Регуляция экспрессии и функциональной активности аденилатциклазы // Биологические мембраны. 2007. Т. 24. № 1. С. 4–31.

10. *Francis S.H., Corbin J.D.* Cyclic nucleotide-dependent protein kinases: intracellular receptors for cAMP and cGMP action // Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 1999. V. 36. № 4. P. 275–328.

11. *Кулинский В.И., Колесниченко Л.С.* Молекулярные механизмы действия гормонов. Киназные системы. Системы с внутриклеточными рецепторами. Трансактивация СТС (Обзор) // Биохимия. 2005. Т. 70. № 5. С. 476–492.

12. *Орловская И.А., Козлов В.А., Топоркова Л.Б.* Внутриклеточные сигнальные системы в регуляции апоптоза эритроидных клеток // Иммунология. 2006. Т. 27. № 5. С. 312–316.

13. *Хаитов Р.М., Манько В.М, Ярилин А.А.* Внутриклеточные сигнальные пути, активирующие или ингибирующие функции клеток иммунной системы. 1. Молекулярные механизмы формирования активирующих сигнальный путей фагоцитов, опосредованных через Fc-и TLR-рецепторы // Успехи совр. биологии. 2005. Т. 125. № 4. С. 348–359.

14. *Хаитов Р.М., Манько В.М, Ярилин А.А.* Внутриклеточные сигнальные пути, активирующие или ингибирующие функции клеток иммунной системы. 2. Сигналпроводящие активирующие и ингибирующие рецепторы естественных клеток-киллеров // Успехи совр. биологии. 2005. Т. 125. № 5. С. 435–445.

15. *Хаитов Р.М., Манько В.М, Ярилин А.А.* Внутриклеточные сигнальные пути, активирующие или ингибирующие функции клеток иммунной системы. 3. Формирование и регуляция сигнальный путей, индуцируемых активацией антигенраспознающих рецепторных структур Т- и В-лимфоцитов // Успехи совр. биологии. 2005. Т. 125. № 6. С. 544–554.

16. *Хаитов Р.М., Манько В.М, Ярилин А.А.* Внутриклеточные сигнальные пути, активирующие или ингибирующие функции клеток иммунной системы. 4. Внутриклеточные сигнальные пути при апоптозе // Успехи совр. биологии. 2006. Т. 126. № 1. С. 3–9.

17. *Green D.R.* Overview: apoptotic signaling pathways in the immune system // Immunol. Rev. 2003. V. 193. P. 5–9.

18. *Whitefield J.F., Bounton A.L., Macmanus J.P. et*

al. The regulation of cell proliferation by calcium and cyclic AMP // Mol. Cell Biochem. 1979. V. 27. P. 155–179.

19. *Шатурный В.И., Шахиджанов С.С., Свешникова А.Н. и др.* Активаторы, рецепторы и пути внутриклеточной сигнализации в тромбоцитах крови // Биомедицинская химия. 2014. Т. 60. № 2. С. 182–200.

20. *Муравьев А.В., Кошелев В.Б., Фадюкова О.Е. и др.* Роль активации аденилатциклазной системы эритроцитов в изменении микрореологических свойств их мембран // Биол. мембраны: журнал мембранной и клеточной биологии. 2011. Т. 28. № 3. С. 174–180.

21. *Муравьев А.В., Михайлова С.Г., Тихомирова И.А.* Роль внутриклеточных сигнальных систем в изменениях микрореологических свойств эритроцитов // Биол. мембраны: журнал мембранной и клеточной биологии. 2014. Т. 31. № 4. С. 270–277.

22. *Minetti G., Low P.S.* Erythrocyte signal transduction pathways and activates adenylate cyclase in human erythrocyte membrane at physiological calcium plasma concentrations // Blood Cell. Mol. Diseas. 1997. V. 263. P. 223–228.

23. *Кудряшов. Ю.Б.* Радиационная биофизика (ионизирующие излучения). М.: Физматлит, 2004. 195 с.

24. *Соболев А.С.* Пострадиационные изменения в системе циклического АМФ органов и тканей, различающихся по радиопоражаемости / Проблемы природной и модифицированной радиочувствительности. М. 1983. С. 205–212.

25. *Соболев А.С.* Радиационная биохимия циклических нуклеотидов. М.: Энергоиздат, 1987. 100 с.

26. *Чубанов В.С., Рогов Ю.И., Конопля Е.Ф., Шолух М.В.* Функциональное взаимодействие компонентов аденилатциклазной системы печени крыс после пренатального воздействия γ-излучения // Радиац. биология. Радиоэкология. 1999. Т. 39. № 4. С. 394–398.

27. *Hunt W.A., Dulton T.K.* Synthesis and degradation of cyclic nucleotides in brain after a high dose of ionizing radiation // Radiat. Res. 1981. 85. № 3. P. 604–608.

28. *Шевченко Т.С., Коноплева И.В.* Активность аденилатциклазы в лимфоцитах и тромбоцитах облученного крупного рогатого скота // Сельскохоз. биология. 2011. № 2. С. 63–67.

29. *Шевченко Т.С., Коноплева И.В.* О внешнем воздействии γ-излучения на активность аденилатциклазы в клетках крови овец // Сельскохоз. биология. 2015. Т. 50. № 4. С. 495–502.

30. *Шевченко Т.С., Кобялко В.О.* Активность системы цАМФ в лимфоцитах и тромбоцитах овец при действии внешнего γ-излучения in vivo // Радиац. биология. Радиоэкология. 2015. Т. 55. № 4. С. 411–419.

31. Щукин В.М. Метаболизм циклических нуклеотидов в лимфоидных органах жвачных животных при внешнем и внутреннем радиационном воздействии. Автореферат дисс… канд. наук. М.: Гос. академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина, 2000. 18 с.

32. ГОСТ 33215-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организация процедур. М.: Стандартинформ. 2016. 14 с.

33. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных. Справочник. СПб: Изд-во «ЛЕМА», 2013. 116 с.

34. *Шевченко Т.С.* Выделение клеточных популяций из периферической крови сельскохозяйственных животных // Сельскохоз. биология. 2007. № 6. С. 123–126.

35. *Шевченко А.С.* Определение активности ферментов метаболизма циклического аденозинмонофосфата в клетках крови овец и лошадей // Сельскохоз. биология. 1988. № 6. С. 124–125.

36. *Чирков Ю.Ю., Бабин Н.Н., Соболев А.С.* Бета-адренергический механизм противолучевого действия изопротеренола на культуру клеток млекопитающих // Радиобиология. 1983. Т. 23. № 6. С. 819–822.

37. *Фоменко Б.С., Акоев И.Г.* Структурные изменения плазматической мембраны под действием ионизирующей радиации // Успехи совр. биологии. 1982. Т. 93. № 2. С. 183–195.

38. *Maeshima Y., Makino H.* Molecular mechanism of cell injury // Contrib. Nephrol. 2003. V. 139. P. 32–43.

39. *Creigton J.R., Asada N., Cooper D.M. et al.* Coordinate regulation of membrane cAMP by Ca2+-inhibited adenilyl cyclase and phosphodiesterase activities // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 2003. V. 284. P. 100–107.

40. *Cheung W.Y.* Calmodulin plays a pivotal role in cellular regulation // Science. 1980. V. 207. P. 19–29.

41. *Григорович Ю.А.* Кальмодулин-Ca2+-зависимый белковый активатор фосфодиэстеразы и других ферментативных систем // Успехи биол. химии. 1982. Т. 22. С. 76–99.

42. *Шевченко Т.С., Коноплева И.В.* Общее содержание кальция в лимфоцитах и тромбоцитах облученных овец // Сельскохоз. биология. 2008. № 4. С. 75–79.

43. *Шевченко А.С., Габай В.Л., Кобялко В.О. и др.* Увеличение проницаемости плазматической мембраны для Ca2+ при радиационно-индуцированном апоптозе тимоцитов // Радиац. биология. Радиоэкология. 1997. Т. 37. № 2. С. 220–227.

44. *Радченков В.П., Хлопонин В.С.* Т-лимфоциты крупного рогатого скота. Функции и маркерные молекулы // Сельскохоз. биология. 2005. № 2. С. 23–31.

45. *Ярилин А.А.* Действие ионизирующей радиации на лимфоциты (повреждающий и активизирующий эффекты) // Иммунология. 1988. № 5. С. 5–11.

46. *Селиванова Е.И., Замулаева И.А., Саенко А.С.* Влияние хронического облучения на распределение субпопуляций лимфоцитов крови у профессионалов-атомщиков // Радиац. биология. Радиоэкология. 2014. Т. 54. № 2. С. 153–161.

47. *Бударков В.А., Лазарев Н.М.* О видовой радиочувствительности Т- и В-лимфоцитов // Радиобиология. 1990. Т. 30. № 4. С. 532.

48. *Пелевина И.И., Алещенко А.В., Антощина М.М. и др.* Индивидуальная вариабельность иммунологических маркеров, радиочувствительности и оксидативного статуса у жителей Москвы // Радиац. биология. Радиоэкология. 2013. Т. 53. № 6. С. 567–574.

49. *Шевченко Т.С.* Влияние внешнего γ-излучения на общее содержание белка в лимфоцитах и тромбоцитах овец // Сельскохоз. биология. 2013. № 4. С. 115–120.

Действие радиации на микроорганизмы и чувствительность разных таксономических групп к облучению

Кобялко В.О., Пименов Е.П.

ФГБНУ ВНИИ радиологии и агроэкологии

В работе представлены данные о действии ионизирующего излучения на микроорганизмы и различиях в радиочувствительности их таксономических групп, которые лежат в основе применения радиационных технологий для антимикробной обработки сельскохозяйственного сырья и пищевой продукции. Рассмотрены процессы радиационного поражения молекулярных структур микробной клетки, механизмы защиты и репарации.

Ионизирующее излучение, облучение, клетка, свободные радикалы, механизмы, репарация ДНК, радиационная чувствительность /резистентность, микроорганизмы, прокариоты, эукариоты

Воздействие радиации на биологические объекты определяется взаимодействием ионизирующего излучения разных типов и энергии с молекулярными структурами, приводящим к их повреждению и реализующегося в конечных эффектах – от модификации функционирования внутриклеточных процессов до гибели целого организма (одно или многоклеточного) [1]. Способность противостоять такому воздействию, определяется адаптационными механизмами, сформированными в процессе биологической эволюции. При сходстве первичных физических и химических процессов, происходящих в любой живой клетке, индуцируемые биологические эффекты и степень их проявления обусловлены совокупностью защитно-восстановительных реакций конкретного отдельного организма. Этим, в конечном итоге, определяется вариабельность радиочувствительности в ряду живых существ [2, 3]. Микроорганизмы в этом ряду отличаются значительной резистентностью к воздействию ионизирующего излучения. В ее основе лежит высокий уровень эффективности механизмов репарации и реверсии биохимических повреждений, достигнутый в результате эволюции в агрессивной среде обитания, в которой присутствуют токсичные вещества, экстремальные температуры, резкие изменения pH, излучения различных видов [4]. Для противодействия радиационным повреждениям микроорганизмы задействуют обширный арсенал способов неспецифической защиты, а высокие темпы размножения позволяют не только справляться с нарушением численности популяции, но и закреплять полезные функциональные изменения на генетическом уровне [5]. Большое внимание уделяется различиям в радиорезистентности отдельных групп микроорганизмов в связи с использованием ионизирующего излучения в радиационных технологиях (РТ) для антимикробной обработки медицинской и пищевой продукции [6]. Учет радиочувствительности таких микроорганизмов позволяет определять оптимальные режимы облучения конкретных видов продукции в целях достижения стерильности или снижения микробиологического загрязнения до уровня, обеспечивающего ее безопасность и увеличение сроков годности. При этом для пищевой продукции острота этого вопроса возрастает в связи с необходимостью сохранения сенсорных и физико-химических показателей обрабатываемых продуктов. Многочисленные исследования позволили установить основные закономерности воздействия ионизирующего излучения на микроорганизмы и

механизмы обеспечения радиорезистентности разных таксономических групп. Обнаружены и продолжают изучаться факторы, модифицирующие чувствительность микроорганизмов к воздействию радиации. В настоящей статье изложены существующие представления о воздействии ионизирующего излучения на микроорганизмы и механизмах, определяющих радиочувствительность разных таксономических групп, которые лежат в основе применения РТ для антимикробной обработки сельскохозяйственного сырья и пищевой продукции.

Действие ионизирующего излучения на микробную клетку

Большинство микроорганизмов представляют собой одноклеточных прокариотов, у которых единственная молекула ДНК свернута в виде нуклеоида, а внутриклеточные мембранные структуры отсутствуют. Эукариоты, которые объединяют всех остальных представителей живых существ – от одноклеточных дрожжей до высокоорганизованных многоклеточных организмов, обладают отделенным от цитоплазмы ядром и целым набором органелл, выполняющих специфические функции. Эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи, лизосомы, митохондрии и пластиды растительных клеток представляют собой мембранные структуры, отсутствующие у прокариотов [7]. Эукариотические клетки отличаются от клеток прокариот размерами (палочковидные бактерии имеют длину до 5 мкм, а толщину около 1 мкм, а поперечный размер эукариотической клетки достигает десятков мкм). В то же время, прокариотические и эукариотические клетки обладают общими признаками: наличие плазматической мембраны, обладающей функцией активного переноса веществ из клетки и внутрь ее, рибосомальный синтез белка, процессы синтеза РНК и репликации ДНК, общие принципы биоэнергетических процессов [8]. В общем смысле прокариотические и эукариотические клетки – это ограниченные активной мембраной, упорядоченные структурированные системы биополимеров (белков, нуклеиновых кислот, липидов и жирных кислот) и их макромолекулярных комплексов, участвующих в единой совокупности метаболических и энергетических процессов, осуществляющих поддержание и воспроизведение всей системы в целом [9].

Ионизирующие излучения, в том числе и те, которые применяется в РТ, беспрепятственно проходят через молекулярные структуры любых микроорганизмов (прокариотов или эукариотов), вызывая в них цепь последовательных событий, реализующихся в конечных биологических эффектах [6]. Эти излучения с определенной вероятностью передают часть своей энергии отдельным молекулам, расположенным вдоль треков частиц или фотонов. Молекулы же, поглотившие энергию излучения, переходят в различные возбужденные состояния, часть из которых заканчивается ионизацией. Вероятность переноса энергии на молекулу не зависит от ее химической структуры, она определяется суммарной электронной плотностью, имеющей примерно равные значения для различных органических молекул и воды. В облученной клетке не существует структур, испытывающих преимущественное поглощение энергии. В возбужденное состояние могут переходить белки, углеводы, липиды и низкомолекулярные соединения, оказавшиеся на пути прохождения потока излучения.

Условно можно выделить четыре стадии действия ионизирующего излучения на клетки: физическая, физико-химическая, химическая и биологическая [10].

Первая стадия – физическая, в облученной клетке протекает так же, как в отдельных изолированных молекулах (10^{-16} – 10^{-14} с). Ее так же называют неспецифической стадией, она включает в себя процессы поглощения, перераспределения и диссипации энергии в клетке. В результате происходит возникновение ионизированных и возбужденных молекул, неравномерно распределенных вдоль треков ионизирующих частиц. Процессы, происходящие в клетке на этой стадии невозможно модифицировать – число первичных актов ионизации и возбуждения не зависит от состояния объекта, а определяется лишь свойствами вида излучения.

Вторая стадия – физико-химическая (10^{-13}–10^{-10} с) включает реакции внутримолекулярной миграции энергии и диффузии

радикалов, направленные на преодоление нестабильного состояния молекулярных структур клетки. Имеет место не только прямое действие на органические молекулы. Повреждения могут вызываться косвенным путем – диффундирующими гидратированными электронами, свободными радикалами. Первичные радикалы неустойчивы, и в результате последующих превращений образуются органические гидропероксиды и оксирадикалы органических молекул.

Третья стадия – химическая (10^{-7}–10^{-6} с), на которой происходит взаимодействие органических радикалов друг с другом и с окружающими молекулами с возникновением стойких изменений – разнообразных повреждений в структуре молекул. Происходит выравнивание продуктов радиолиза по объему. В полиненасыщенных липидах мембран происходят изменения, приводящие к нарушению ее структуры и функции. В белковых молекулах может произойти повреждение первичной и вторичной структур, определяющих специфическую конформацию макромолекул и, как следствие, инактивация ферментативной активности. В ДНК возникают одно- или двунитевые разрывы, разрушаются некоторые азотистые основания, возникают межмолекулярные сшивки.

Четвертая - биологическая стадия характеризуется нарушением важнейших для клетки функций: барьерных, матричных, энергетических, регуляторных. Нарушаются электрохимические и осмотические градиенты. Ферменты утрачивают локализацию, изменяют свои каталитические свойства и теряют специфичность. Структурные повреждения нуклеиновых кислот препятствуют дальнейшей репликации, а повреждения ядерной мембраны имеют глубокие последствия для генетического аппарата эукариотических микроорганизмов. Разнообразные и взаимосвязанные изменения на биологической стадии формируются в течение секунд, часов, суток, всего периода жизни клеток. Критическими для жизнедеятельности облученной клетки оказываются, в первую очередь, повреждения таких мишеней, как ДНК и биологические мембраны.

В основе повреждающего действия ионизирующего излучения на основные мишени клетки лежат два основных механизма [11].

Первый обусловлен повреждением молекулы-мишени в результате непосредственного взаимодействия излучения с этой молекулой, то есть в результате прямого действия излучения. Второй – повреждением молекулы-мишени в результате воздействия активных продуктов радиолиза. Они образуются из других молекул в результате непосредственного взаимодействия с излучением. Таким образом, в этом случае повреждение молекулы-мишени происходит в результате непрямого (косвенного) действия излучения. Изначально в качестве молекул-посредников при косвенном действии излучения рассматривались только молекулы воды, в результате радиолиза которых образуется ряд активных продуктов, способных производить повреждения многих макромолекул. Считается, что в клетках прокариот и эукариот косвенное действие радиации за счет радикалов воды достигает 80–90 % и является определяющим в процессах инактивации. Рассматривается вклад молекул липидов, которые также могут выступать в качестве инициаторов повреждений. Под действием излучения из них образуются активные радикальные продукты, дающие начало процессам свободнорадикального перекисного окисления липидов с последующим повреждением критических структур и биологически важных макромолекул. При облучении биологических объектов, содержащих воду, находящуюся частично в свободном состоянии, а частично входящую в состав органелл соответствующих биосистем, принято считать, что 50% поглощенной дозы в «средней» клетке приходится на воду, другие 50 % – на ее органеллы и растворенные вещества [3].

В результате воздействия ионизирующего излучения на микробную клетку – проили эукариотическую происходит повреждение молекулярных структур и наиболее чувствительных надмолекулярных образований. Изменяется активность ферментативных систем, повреждается молекула ДНК, нарушается функционирование цитоплазматической мембраны и процессы окислительного фосфорилирования. У эукариотических

микроорганизмов повреждаются дезоксирибонуклеиновые комплексы ядра (ДНК клеточного ядра в комплексе с щелочными белками, РНК и ферментами) и структуры митохондрий, отсутствующие у прокариотов [12]. Конечный эффект облучения является результатом не только первичного повреждения клеток, но и последующих процессов восстановления. Для микроорганизмов репарация повреждений молекулы ДНК один из наиболее важных процессов пострадиационного восстановления. При облучении возникают не только одиночные разрывы, но и «комплексные», при которых в молекуле ДНК рядом находится сразу несколько разорванных связей, которые существенно препятствуют репарации [13].

Двойные разрывы образуются как при случайном пространственном совпадении одиночных разрывов в противоположных нитях ДНК (вероятность которого возрастает с увеличением накопленной дозы редкоионизирующего излучения: гамма-, рентгеновское-, бета-), так и вследствие одномоментного повреждения обеих нитей при выделении в данном микрообъёме клетки большого количества энергии [6]. При действии плотноионизирющих излучений (протоны, другие ядра отдачи, α-частицы, нейтроны) число двойных разрывов на единицу дозы оказывается выше. Так как одиночные разрывы репарируются гораздо лучше, чем двойные, тяжесть поражения клетки с увеличением доли двойных разрывов возрастает, что и служит объяснением более высокой относительной биологической эффективности плотноионизирующих излучений [11]. Нарушение непрерывности молекулы ДНК в результате разрыва межатомных связей препятствует считыванию с неё генетической информации (если разрыв приходится на транскрибируемый участок генома), а также нормальной репликации ДНК и последующему распределению генетического материала между клетками. Атака ДНК высокоактивными радикалами приводит к модификации оснований. Присоединение радикала ОН к тимину превращает его в тимингликол [10]. Возникающие повреждения частично элиминируются с помощью систем ферментативной репарации.

У прокариотических микроорганизмов известны три независимые системы репарации повреждений ДНК. Одна из них представляет собой обратную фотохимическую реакцию, происходящую под действием видимого света и фотореактивирующего фермента (только пиримидиновые димеры); вторая — вырезание и замещение поврежденного участка ДНК до ее репликации, а третья — пострепликативную репарацию. Для защиты от неблагоприятного воздействия радиации микроорганизмы используют все три системы [4]. Но возможность их использования и активность различается у разных таксономических групп, отражаясь на способности переносить облучение разной интенсивности. Аналогичная ситуация отмечается для эукариотических микроорганизмов, но в этом случае, кроме репарации повреждений молекул ДНК, решается проблема восстановления функционирования мембранных структур. Сохранение неповрежденной генетической информации осуществляется в результате увеличения количества генетического материала (ди- полиплоидность у дрожжей).

Чувствительность микроорганизмов разных таксономических групп к воздействию ионизирующего излучения

Использование радиационных технологий для антимикробной обработки с целью достижения стерильности или снижения микробиологического загрязнения предполагает полную или частичную гибель максимального количества микроорганизмов в облучаемом объекте. Дозы облучения определяются возможностью инактивации конкретных микроорганизмов, характерных для обрабатываемого вида продукции [14]. Чувствительность разных видов микроорганизмов к радиационному воздействию и эффективность пострадиационного восстановления – важнейшие факторы установления величины дозы облучения и достижения конечного эффекта. Имеет смысл разделять понятия радиочувствительности и радиорезистентности микроорганизмов. Под радиочувствительностью следует понимать способность вещества клетки или какой-либо клеточной структуры взаимодействовать с

ионизирующим излучением, результатом чего будут физико-химические изменения вещества и биологические эффекты (задержка процесса деления, снижение способности размножаться, нарушение клеточного метаболизма, повреждение регуляторных механизмов, видимые морфологические изменения, гибель) [2]. На радиочувствительность микроорганизмов влияет множество факторов, зависящих от условий, при которых производится облучение, а также генетическая детерминированность самой клетки [6]. К числу факторов, изменяющих чувствительность клетки к радиации, относятся: температура, присутствие кислорода или других газов, состав и свойства среды, в которой производится облучение и т. д. Эти факторы можно менять до облучения, в процессе облучения и после него [15]. Ядро эукариотической или нуклеоид прокариотической клетки более чувствительны к ионизирующим излучениям, чем цитоплазма или клеточная стенка, а процессы фосфорилирования более чувствительны, чем процесс дыхания. Если бы репарационные процессы не компенсировали большинства внутриклеточных повреждений, вызываемых ионизирующими излучениями, то любое лучевое воздействие приводило бы к гибели [16] . Этого не происходит благодаря способности клеток восстанавливать радиационные повреждения, которую можно определить как радиорезистентность [17].

Средние летальные дозы облучения микроорганизмов (одноклеточных про- и эукариотических организмов) превышают значения для животных (многоклеточных эукариотических организмов) на 1–2 порядка. Если для последних они равны 3–5 Гр, то для бактерий 50–500 Гр и более. В ряде случаев бактерицидный эффект для культуры бактерий может быть достигнут только при облучении в дозах порядка 10–20 кГр [18]. За редким исключением LD_{50} для разных видов микроорганизмов значительно выше, чем многоклеточных эукариотических организмов животного и растительного происхождения (табл. 1). Более высокая радиационная устойчивость микроорганизмов (в основном одноклеточные прокариоты) по сравнению с животными и растениями (многоклеточные эукариоты) связана как с различиями на клеточном уровне, так и с особенностями строения и функционирования клеток в рамках единого многоклеточного организма.

Таблица 1

Полулетальные дозы для различных организмов

Объект	LD50, Гр
Вирусы	4500-7000
Бактерии	100-7500
Высшие растения	10-1500
Позвоночные	20-200

Во-первых – эукариотические клетки обладают более крупными размерами и большим числом мишеней для поражающего действия ионизирующего излучения. Увеличенный объем сложно организованного генетического материала, мембранных структур и локализованная в митохондриях система окислительного фосфорилирования повышает вероятность возникновения необратимых нарушений и гибели клеток.

Во-вторых, многоклеточные эукариотические организмы представляют собой совокупность иерархически связанных генетически идентичных клеток, организованных в различные структуры (ткани, органы), которые существенно отличаются по свойствам и функциям, а также по устойчивости к действию радиации. Функциональное предназначение разных типов клеток в организме накладывает отпечаток на их возможности самостоятельного существования, снижая их индивидуальную выживаемость, что оправдано с точки зрения нормального функционирования и выживания целостного организма, в котором постоянно запускаются механизмы программируемой гибели

поврежденных клеток (апоптоз) [10, 11]. Ионизирующее излучение, даже в очень незначительных дозах, поражает лимфоциты крови, что приводит к подавлению иммунной системы организма, а невозможность восстановить их количество по причине гибели пролиферирующих клеток костного мозга (в соответствии с законом Бергоньe-Трибондо) заканчивается гибелью организма от костномозгового синдрома лучевой болезни [11]. Жесткая дифференцировка клеточных систем в организме с четко обозначенными и разделенными функциями, которые у микроорганизмов осуществляются в одной клетке, определяют их высокую чувствительность к ионизирующему излучению. Если для многоклеточного организма гибель клеток одной системы приводит к последующей гибели всего организма, то для популяции микроорганизмов одного вида утеря части клеток не столь катастрофична. При этом между концентрацией микробов и летальной дозой облучения существует прямо пропорциональная зависимость: чем меньше плотность облучаемой взвеси, тем меньше величина дозы для достижения 100% бактерицидного эффекта [19]. На чувствительности микроорганизмов и клеток многоклеточных организмов к облучению в равной степени сказывается присутствие кислорода и влияние температуры. Но отдельные клетки многоклеточного организма находятся в условиях относительного постоянства внутренней среды организма, а клетки микроорганизмов - в кардинально различающихся и изменяющихся во времени условиях внешней среды. В результате наблюдается существенная вариабельность их чувствительности к ионизирующему излучению даже в пределах одной таксономической группы. Необходимо отметить, что процессы восстановления функционирования микроорганизмов, определяющие их радиорезистентность, связаны с процессами репарации повреждений генетического материала и биохимических нарушений каждой конкретной микробной клетки [20]. Для многоклеточных организмов к процессам, идущим на клеточном уровне, присоединяются нарушенные межклеточные взаимодействия и взаимосвязи тканей и органов, которые восстановить значительно сложнее, тем более в случае, когда облучение привело к элиминации большого числа клеток.

Огромное разнообразие экологических ниш, иногда чрезвычайно экстремальных, освоено микроорганизмами. Ими используются разнообразные биохимические процессы, направленные на использование самых разных субстратов и источников энергии. Эти процессы лежат в основе различных механизмов выживания [21]. Одним из факторов, с которыми микроорганизмы сталкиваются в окружающей среде, являются ионизирующие излучения. И они используют разные способы защиты, активируя системы репарации генома, а также механизмы неспецифического характера, имеющие прямое отношение к их обитанию в агрессивной внешней среде.

Среди прокариотических микроорганизмов выделяют микроорганизмы, принадлежащие к домену *Archaea* (Археи), которые обитают в наиболее экстремальных условиях. Их устойчивость к радиации высока, но вклад в формирование микробиологического загрязнения изделий и продуктов, используемых человеком, очень мала, а ареалы распространения узки и специфичны [7]. Прокариотические микроорганизмы, принадлежащие к домену *Bacteria* (истинные бактерии), характеризуются значительной вариабельностью устойчивости к ионизирующему излучению. Эти и разнообразные виды эукариотических микроскопических грибов представляют важнейшие цели бактерицидного применения ионизирующего излучения. На их устойчивость влияет множество факторов, которые связаны не только с биологическими особенностями облучаемых микроорганизмов, но и условиями облучения и средой, в которой оно осуществляется. Значительно варьирует чувствительность бактерий к радиации и внутри одного и того же вида, штамма и даже популяции бактериальных клеток [22]. По чувствительности к излучениям микроорганизмы можно распределить следующим образом в порядке убывания: бактерии, плесени, дрожжи, споры бактерий и, наконец, вирусы (табл. 2). Однако среди бактерий известны виды, гораздо более радиоустойчивые, чем споровые

формы или вирусы.

Таблица 2

Сравнительная чувствительность микроорганизмов к действию ионизирующего излучения [22]

Название микроорганизма (Условия)	Активность по Грамму/форма	Значение D_{10}, кГр
Acinetobacter calcoaceticus	– /вегетативная	0,28
Aeromonas hidrofilia	– /вегетативная	0,14
Arcobacter butzleri	– /вегетативная	0,27
Campylobacter jejuni (5 штаммов)	– /вегетативная	0,175–0,235
Enterobacter cloacoe	– /вегетативная	0,18
Escherichia coli	– /вегетативная	0,2
Moraxella phenyrlpyruvica	– /вегетативная	0,86
Moraxella osloensis	– /вегетативная	0,191
Pseudomonas putida	– /вегетативная	0,08
Pseudomonas aeruginosa	– /вегетативная	0,13
Salmonellae spp	– /вегетативная	0,621–0,800
Escherichia coli 0157:H7 (-20°C)	– /вегетативная	0,98
Escherichia coli 0157:H7 (4°C)	– /вегетативная	0,39
Klebsiella pneumoniae	– /вегетативная	0,183
Yersinia enterocolitica (25/30 °C)	– /вегетативная	0,195–0,3
Vibrio cholerae (-10 °C)	– /вегетативная	0,11
V. flavialis (-10 °C)	– /вегетативная	0,44
Listeria monocytogenes	+ /вегетативная	0,42–0,55
Listeria monocytogenes (-20°C)	+ /вегетативная	1,21
Listeria monocytogenes (5°C)	+ /вегетативная	0,45
Staphylococcus aureus	+ /вегетативная	0,16–0,51
Aspergillus flavus	Грибы/вегетативная	0,06
Aspergillus flavus	Грибы/споры	0,66
Penicillum sp	Грибы/вегетативная	0,44
Candida zeylanoides	Д/п грибы/вегетативная	0,56
Bacillus pumilus ATCC 27142	+ /споры	1,40
Bacillus cerius	+ /споры	1,485
Clostridium botulinum тип E	+ /споры	1,1–1,7
Clostridium botulinum тип E Beluga	+ /споры	0,8
Clostridium botulinum 62A	+ /споры	1,0
Clostridium botulinum тип A	+ /споры	2,79
Clostridium botulinum тип B	+ /споры	2,38
Clostridium botulinum тип F	+ /споры	2,5
Clostridium bifermentas	+ /споры	1,4
Clostridium bytiricum	+ /споры	1,5
Clostridium perfringens	+ /споры	1,2
Clostridium sporogenes	+ /споры	2,2
Clostridium sordllii (PA3679/S2)	+ /споры	1,5

Для оценки радиочувствительности отдельных групп микроорганизмов принято

оценивать значение величины дозы облучения (D_{10}), которая снижает количество микроорганизмов на 90 %. При этом учитываются условия и среда облучения, так как они существенно влияют на эффективность радиационной обработки.

Грамотрицательные бактерии, включая такие патогены, как *Salmonellae* spp и *Shigella* spp, несколько чувствительнее грамположительных *Listeria monocytogenes* и *Staphylococcus aureus* [23, 24]. Инактивация бактерий кишечной группы происходит при облучении в дозах от 0,240 до 1,68 кГр в зависимости от условий радиационной обработки [25]. Примером высокой радиационной устойчивости грамположительных бактерий могут служить *Sarcina* spp. Содержание пигментов у *S. aurautica* и *S. lutea* или их отсутствие у *S. ureal* незначительно влияет на бактерицидный эффект гамма-облучения. Возбудитель сибирской язвы *Bacillus anthracis* инактивируется полностью при дозах облучения 3–5 кГр, а бактерицидное действие на *Mycobactérium tuberculósis* обнаруживаетя при воздействии ионизирующего изучения в дозах более 7 кГр [22, 25, 26].

Бактериальные споры намного более устойчивы [22, 27]. Бактерицидный эффект радиации на споровые формы бактерий в подавляющем большинстве случаев проявляется при дозах облучения не ниже 10–20 кГр [28]. Необходимо отметить, что радиочувствительность спор разных бактерий варьирует в значительно меньшей степени, чем радиочувствительность разных видов бактерий, их не образующих [29]. Объяснение устойчивости спор к ионизирующему излучению обусловлено биологическими особенностями этой формы бактерий (грамположительных), предназначенной для преодоления неблагоприятных условий внешней среды [30]. Максимальное удаление воды из споры, снижающее воздействие радикалов, компактная структура молекулы ДНК, препятствующая расхождению образующихся разрывов и способствующая диссипации энергии, наконец, уменьшение геометрических размеров, снижающее объем мишени – причины увеличения радиационной устойчивости. При прорастании спор их чувствительность к действию ионизирующего излучения возрастает и сравнивается с вегетативными формами микроорганизмов, которые по радиочувствительности незначительно отличаются от не образующих споры видов бактерий.

В то же время, среди не образующих спор микроорганизмов известны такие, которые отличаются чрезвычайно высокой радиационной устойчивостью, в ряде случаев превышающей радиорезистентность самых устойчивых спор. Несмотря на то, что вегетативные формы бактерий наиболее чувствительны к ионизирующему излучению, среди неспорообразующих видов встречаются представители, которые для инактивации требуют очень высоких доз облучения. Чаще всего они встречаются среди кокков. Так, например, поверхности изделий медицинского назначения, а также воздух помещений, где эти изделия производятся, загрязнены сарцинами, которые отличаются высокой устойчивостью к ионизирующим излучениям. К коккам относится и хорошо известный *Micrococcus (Deinococcus) radiodurans*, изолированный из облученного в дозах выше 15 кГр говяжьего мяса [31].

Deinococcus radiodurans – грамположительная мезофильная аэробная непатогенная бактерия, не обладающая способностью к спорообразованию. Клетки *D. radiodurans* имеют кокковидную форму и часто образуют диады и тетрады. Колонии имеют розовую окраску. Культура *D. radiodurans* переносит облучение в 10 000 Гр без гибели клеток, т.е. оказывается в 30 раз устойчивее клеток *E. coli* и в 1000 раз – культуры клеток человека [32]. Так как главной мишенью для деструктивного воздействия стрессовых факторов и в особенности ионизирующего излучения считается молекула ДНК, исследования стрессоустойчивости *D. radiodurans* были в основном направлены на поиск уникальных механизмов ее защиты и репарации, обеспечивающих сохранение генома в повреждающих условиях. Работы последних лет показали, что в основе устойчивости клеток *D. radiodurans* прежде всего может лежать их способность защищать протеом от окислительного стресса, который является общим следствием различных повреждающих воздействий [33]. Все возможные защитные

механизмы, которые могут задействоваться для обеспечения радиационной устойчивости микроорганизмов, присутствуют и эффективно работают у *D. radiodurans*. К ним относятся: 1) особенности структуры клеточной стенки, 2) особенности устройства и упаковки генома, 3) эффективная работа систем репарации ДНК, 4) защита протеома от окислительного стресса, 5) активное удаление из клеток токсичных соединений, 6) особенности регуляции экспрессии генов в стрессовых условиях.

Для защиты и восстановления поврежденной ДНК *D. radiodurans* обладает полным набором основных систем репарации, присущих бактериям, а также некоторыми уникальными белками, их дополняющими. Несмотря на наличие некоторых особенностей систем репарации, основной причиной высокой эффективности репарационных процессов у *D. radiodurans*, по-видимому, является стрессоустойчивость протеома, в частности белков репарации. *D. radiodurans* имеет ряд приспособлений, призванных поддержать целостность протеома в условиях окислительного стресса, в т.ч. высокоэффективные ферментативные и протекторные антиоксидантные системы [34]. Помимо *D. radiodurans* в природе существует много неродственных радиоустойчивых видов бактерий в родах *Chroococcidiopsis*, *Methylobacterium*, *Rubrobacter* и др. [36]. В настоящее время наиболее правдоподобной гипотезой происхождения радиоустойчивости считается ее возникновение в качестве побочного эффекта приспособления клеток к условиям обезвоживания. Действительно, *D. radiodurans* встречается в природе повсеместно, а для целого ряда представителей этого рода естественными местообитаниями являются пустыни. Как при облучении, так и при обезвоживании клетки подвергаются окислительному стрессу, и именно способность переносить окислительный стресс, по-видимому, лежит в основе устойчивости к обоим типам воздействий. Вероятно, бактерии рода *Deinococcus* эволюционировали в направлении повышения устойчивости к обезвоживанию, совершенствуя механизмы, препятствующие образованию активных форм кислорода (АФК) и ликвидирующие последствия окисления макромолекул [37].

Плесени и дрожжеподобные грибки обладают промежуточной устойчивостью между вегетативными и споровыми формами бактерий (Табл. 3). Причиной относительной устойчивости аэробных плесеней к ионизирующему излучению является присутствие в мицелии естественных радиозащитных агентов (меланин), а так же ряда метаболитов (молочная кислота, уксусная кислота и спирт), которые обладают свойствами перехватывать активные ионы. Кроме того, некоторые из них так же, как и дрожжи, способны формировать споры [39].

Таблица 3

Дозы облучения, необходимые для полной инактивации некоторых видов микроорганизмов (прокариотов и эукариотов) обнаруживаемых в сельскохозяйственном сырье и пищевой продукции

Вид микроорганизмов	Доза (кГр)
Escherichia coli (Gram negative)	1,0–2.3
Salmonella spp. (Gram negative)	3,7–4,8
Staphylococcus aureus (Gram positive)	1,4–7
Плесени (эукариоты)	1,3–11
Дрожжеподобные грибки (эукариоты)	4–11
Bacillus subtilis (spores)	12–18
Clostridium botulinum (A) (spores)	19–37

Нитчатые грибы продуцируют многочисленные метаболиты (спирты, кислоты, ферменты, пигменты, полисахариды и стероиды), а также сложные соединения (эрготинин и антибиотики, включая пенициллин, нотатин, флавицин и фумигацин). Все

эти соединения вносят свой вклад в изменение эффективной дозы радиационной инактивации. Кроме того, внеклеточные грибковые компоненты (сульфидные соединения, пигменты, аминокислоты, белки и жирные кислоты) также отвечают за увеличение устойчивости грибов к облучению [40].

Большое значение в формировании радиационной устойчивости дрожжеподобных грибков играет полиплоидность, а также возможность переключения на бескислородный путь получения энергии за счет гликолиза, при поражении митохондрий и разобщении окислительного фосфорилирования, которые присутствуют в эукариотических клетках этих микроорганизмов [41]. Активно метаболизирующие дрожжи также продуцируют молочную и уксусную кислоты, а также спирт во внеклеточную среду, которые формируют дополнительный защитный эффект от образующихся при облучении свободных радикалов.

Таким образом, высокая устойчивость микроорганизмов к действию ионизирующего излучения опирается на механизмы, которые сформировались для обеспечения их обитания в агрессивной внешней среде. Различия между разными таксономическими группами определяются функционированием не одного определенного, а совокупностью нескольких способов защиты. При этом скорость и напряженность их включения, а также эффективность обусловлены как генетически определенными, так и вариабельными внешними факторами, которые могут изменять чувствительность микроорганизмов даже в пределах одного штамма. То, что в качестве наиболее весомого в плане формирования радиационной устойчивости рассматривается механизм защиты, связанный с преодолением избыточного накопления АФК, говорит о перспективности для развития РТ поиска модификаторов, снижающих эффективность такого механизма.

Заключение

Применение радиационных технологий для антимикробной обработки сельскохозяйственного сырья пищевой продукции основывается на фундаментальных представлениях о действии ионизирующего излучения на клеточные структуры. Различная чувствительность микроорганизмов к воздействию ионизирующего излучения требует определения режимов облучения в каждом конкретном случае, обусловленном конечной целью и необходимостью сохранить потребительские показатели обрабатываемой продукции. Понимание механизмов, обеспечивающих радиационную устойчивость микроорганизмов, и знание факторов, влияющих на процессы радиационного поражения клеток, позволяет корректировать величины доз радиационной нагрузки, достигая необходимого антибактериального эффекта. Опираясь на установленные величины доз бактерицидного действия ионизирующего излучения, генерируемого различными установками, можно конструировать процедуры радиационной обработки различных продуктов. Возможность модифицировать процессы радиационного поражения микроорганизмов в различных продуктах с помощью различных факторов и знаний об устойчивости тех или иных групп микроорганизмов, обнаруженных или предполагаемых в продукции, позволит наиболее успешно добиваться необходимого результата с оптимальной нагрузкой на объект и максимальным антибактериальным эффектом.

Литература

1. *Хансон К.П., Комар В.Е.* Молекулярные механизмы радиационной гибели клеток. М.: Энергоатомиздат,1985. 152 с.

2. *Кузин А.М., Каушанский Д.А.* Прикладная радиобиология. М.: Энергоиздат, 1981. 221 с.

3. Радиобиология / А.*А. Белов, В.А. Киршин, Н.П. Лысенко и др*. М.: Колос, 1999. 384 с.

4. *Moseley B.E.B., Gould G.W. Ed.* Ionizing Radiation: Action and Repair / In: Mechanisms of Action of Food Preservation Procedures. Elsevier Applied Science Publishing, New York, 1989. 43 p.

5. *Diehl J.F.* Safety of Irradiated Foods. Marcel Dekker, New York, 1995. P.173–223.

6. Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности / Под общ. ред. *Г.В. Козьмина, С.А. Гераськина, Н.И. Санжаровой.* Москва-Обнинск: ИНФОРМПОЛИГРАФ. 2015. 400 с.

7. *Лыков И.Н., Шестакова Г.А.* Биология и

экология микроорганизмов. Калуга. Издательство КГУ им. К.Э Циолковского, 2011. 400 с.

8. *Cossart P., Boquet P., Normark St., Rappuoli R.* Cellular Microbiology. ASM Press, 2004. 636 p.

9. *Гусев М.В.* Микробиология. М.: Издательский центр «Академия», 2003. 464 с.

10. *Кудряшов Ю.Б.* Радиационная биофизика (ионизирующие излучения). М.: ФИЗМАТЛИТ, 2004. 448 с.

11. *Ярмоненко С.П., Вайнсон А.Л.* Радиобиология человека и животных. М.: Высшая школа 2004. 549 с.

12. *Jay J.M.* Microbiological food safety. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 1992. V. 31. P.177–190.

13. *Gwin K., Battista J.R.* Ionizing radiationresistant microorganisms / In: Extremophiles: microbiology and biotechnology (*Anitori R.P.*, ed.), Caister Akademic Press, Norfolk, UK, 2012. P. 25–51.

14. *Санжарова Н.И., Гераськин С.А., Исамов Н.Н. и др.* Научные основы применения радиационных технологий в сельском хозяйстве. Обнинск: ВНИИСХРАЭ, 2013. 133 с. ISBN 978-5-903386-31-4.

15. *Ma K., Maxcy R.B.* Factors influencing radiation resistance of vegetative bacteria and spores associated with radappertization of meat // Journal of Food Science. 1981. 46(2). P. 612–616.

16. *Жестянников В.Д.* Репарация ДНК и ее биологическое значение. Л.: Наука, 1979. 285 с.

17. *Корогодин В.И.* Проблемы пострадиационного восстановления. М.: Атомиздат, 1966. 391 с.

18. *Farkas J.* Microbiological safety of irradiated foods // Int. J. Food Microbiol. 1989. No. 9. P. 1–15.

19. *Mossell D.A.A.* Irradiation: an effective mode of processing food for safety / In: Food Irradiation Processing. International Atomic Energy Agency, Vienna and Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 1985. P. 251–279.

20. *Monk J.D., Beuchat L.R., Doyle M.P.* Irradiation inactivation of foodborne microorganisms // J. Food Prot. 1995. V. 58. P. 197–208.

21. *Бухарин О.В., Гинцбург А.Л., Романова Ю.М., Эль-Регистан Г.И.* Механизмы выживания бактерий. М.: Медицина, 2005. 367 с.

22. *Джей Дж.М.* Современная пищевая микробиология / *Дж.М. Джей, М.Дж. Лёсснер, Д.А. Гольден*. М.: «Бином». Лаборатория знаний, 2012. 886 с.

23. *Mahmoud BSM.* Effects of X-ray radiation on *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* and *Shigella flexneri* inoculated on shredded iceberg lettuce // Food Microbiology. 2010. V. 27. P. 109–114.

24. *Lewis N.F., Alur M.D., Kumta U.S.* Radiation sensitivity of fish microflora // Ind. J. Exp. Biol. 1971. V. 9. P. 45–49.

25. *Thayer D.W., Boyd G.* Elimination of *Escherichia coli* 0157:H7 in meat by gamma irradiation // Appl. Environ. Microbiol. 1993. V. 59. P. 1030–1034.

26. *Alur M.D., Lewis N.F.* Influence of storage temperature on microflora of Indian mackerel (*Rastrelligerkanagurta*) // Fleischwirtsch. 1980. V. 60. P. 453–455.

27. *Lewis N.F., Alur M.D., Nadkarni A.R. et al.* Selective control of spoilage organisms in seafoods by gamma radiation / In: Food Irradiation. International Atomic Energy Agency, Vienna. 1973. P. 201–219.

28. *Laycock A., Regier L.W.* The effect of gamma irradiation on the microbial spoilage pattern on fish in relation to initial quality / In: Preservation of Fish by Irradiation. International Atomic Energy Agency, Vienna. 1970. P. 13–25.

29. *Diehl J.F.* Safety of Irradiated Foods. Marcel Dekker, New York. 1995. P. 173–223.

30. *Tallentire A.* Radiation resistance of spores. Journal of Applied Bacteriology. 1970. V. 35. P. 141–146.

31. *Anderson A.W., Nordan H.C., Cain R.F., Parrish G., Duggan D.* Studies on a radioresistant micrococcus. I. Isolation, morphology, cultural characteristics and resistance to radiation // Food Technol. 1956. V. 10. P. 575–577.

32. *Daly M.J., Ouyang L., Fuchs P., Minton K.W.* In vivo damage and recA_dependent repair of plasmid and chromosomal DNA in the radiation_resistant bacterium Deinococcus radiodurans. J. Bacteriol. 1994. V. 176. P. 3508–3517.

33. *Slade D., Radman M.* Oxidative stress resistance in Deinococcus radiodurans. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2011. V. 75. P. 133–191.

34. *Misra H.S., Rajpurohit Y.S., Kota S.* Physiological and molecular basis of extreme radioresistance in Deinococcus radiodurans. Curr. Sci. 2013. V. 104. P. 194–205.

35. *Pavlov A.K., Kalinin V.L., Konstantinov A.N. et al.* Was Earth ever infected by martian biota? Clues from radioresistant bacteria. Astrobiology. 2006. V. 6. P. 911–918.

36. *Cox M.M., Battista J.R.* Deinococcus radiodurans – the consummate survivor. Nat. Rev. Microbiol. 2005. V. 3. P. 882–892.

37. *Mattimore V., Battista J.R.* Radioresistance of Deinococcus radiodurans: functions necessary to survive ionizing radiation are also necessary to survive prolonged desiccation. J. Bacteriol. 1996. V. 178. P. 633–637.

38. *Salama A.M., Ali M.I., El-Kirdassy Z.H., Ali T.M.* A study on fungal radioresistance and radiosensitivity. Zentralbl Bakteriol Abt. II. 1977. V. 132. P. 1–13.

39. *Saleh Y.G., Mayo M.S., Ahearn D.G.* Notes: resistance of some common fungi to gamma irradiation. Applied and Environmental Microbiology. 1988. V. 54. P. 2134–2135.

40. *Blank G., Corrigan D.* Comparison of resistance of fungal spores to gamma and electron beam radiation. International Journal of Food Microbiology.1995. V. 26. P. 269–277.

41. *Корогодин В.И., Близнюк К.М., Капульцевич Ю.Г. и др.* Роль плоидности в радиочувствительности клеток (эксперименты на дрожжевых организмах разных видов и генотипов). Радиобиология. 1977. Т. 17. Вып. 5. С. 700–710.

Закономерности действия γ-излучения на микроорганизмы в разных видах растительного сырья

Морозова А.И., Павлов А.Н., Васильева Н.А., Пименов Е.П.

ФГБНУ ВНИИ радиологии и агроэкологии

Изучали возможность использования γ-излучения для обеззараживания сухих специй (перец черный молотый, мускатный орех и чесночный порошок) для снижения микробной нагрузки. Установлено, что дозовые зависимости инактивации одних и тех же групп микроорганизмов специфичны для каждого вида исследованных специй. Отмеченное обстоятельство обусловлено значительными различиями степени загрязнения исследуемых продуктов, видового состава различных групп микроорганизмов, обсеменяющих разные виды специй, а также свойствами субстрата исследованной растительной продукции.

γ-излучение, γ-установка ГУР-120, специи, перец черный молотый, мускатный орех, чесночный порошок, группы микроорганизмов.

По данным международной Продовольственной и сельскохозяйственной организации ФАО ООН ежегодно в мире пропадает вследствие порчи примерно треть всех произведенных продуктов питания (1,3 млрд тонн) [1]. Для решения этой проблемы на настоящем этапе развития мировой экономики усиливается интерес к использованию радиационных технологий.

Согласно прогнозу, в натуральном выражении объем рынка сухих специй и приправ в России в 2020 г. составит 58 700,7 тыс. кг [2]. В большинстве стран-экспортеров специй и приправ не соблюдаются санитарно-гигиенические нормы, что приводит к высокой степени загрязнения мезофильными, спорогенными и аспорогенными бактериями, фекальными колиформами. Обычно в необработанном сырье обнаруживается от одного до 100 миллионов колоний на грамм [3]. Для снижения микробного загрязнения многие производители применяют метод окуривания специй этиленоксидом и метилбромидом для уничтожения насекомых и бактерий. Однако эффективность такой обработки зависит от содержания в травах и пряностях влаги, которая для достижения оптимальных результатов должна составлять по крайней мере 10 %. Окуривание не уничтожает полностью многие виды плесени, а применение этого процесса представляет опасность для здоровья работников в результате образования хлоргидринов с возможным токсическим воздействием. Обработка окуриванием проводится в несколько этапов, в которые входят: повторная гидратация продуктов паром, предпочтительно в течение 24 часов; обработка фумигантом приблизительно в течение 16 часов; удаление остаточных паров фумиганта путем частого обдува продуктов воздухом (опасность повторного заражения); высушивание; и затем повторное измельчение спекшихся порошкообразных продуктов. В то время как γ-облучение представляет собой относительно простой процесс обработки, который не требует повторной упаковки продуктов [4].

Радиационный метод стерилизации обладает рядом преимуществ перед способом тепловой или химической стерилизации. Одно из главных преимуществ состоит в том, что он применим для обработки термолабильных веществ, а также веществ, упакованных в тару из бумаги, стекла и пластмасс. Кроме того, радиационная обработка по сравнению с химическими методами не вносит в продукт дополнительных веществ, которые могут быть вредны для здоровья человека.

Для облучения специй и пряностей на территории РФ утвержден межгосударственный стандарт ГОСТ 33271—2015 «Пряности сухие, травы и приправы овощные. Руководство по облучению в целях борьбы с патогенными и другими микроорганизмами», составленный на основе ASTM F1885-04 Standard guide for irradiation of dried spices, herbs and vegetable seasonings to control pathogens

and other microorganisms (Руководство по облучению сухих пряностей, трав и овощных приправ в целях борьбы с патогенными и другими микроорганизмами).

Целью нашего исследования была оценка использования γ-излучения для обеззараживания сухих специй (перец черный молотый, мускатный орех и чесночный порошок).

Материалы и методы

Облучение проводили на стационарной исследовательской γ-установке ГУР-120 с сухим способом защиты, состоящей из восьми блоков – облучателей, четыре напротив четырёх, заряженных источниками ГИК -7- 4, общей активностью Co^{60} $13{,}8 \cdot 10^{14}$.

Объектом исследований были сухие молотые специи (перец черный, мускатный орех и чесночный порошок). Дозовую зависимость гибели разных групп микроорганизмов, обсеменяющих специи, изучали в ряду доз 0 (контроль), 1, 3, 5, 7 и 10 кГр в диапазоне мощностей доз (300 ± 50) Гр/час.

Микробиологические учеты проводили до и после γ-облучения. Количество мезофильных аэробных и факультативных анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) определяли на мясопептонном агаре (МПА) после выращивания при 37 °С в течение 48 часов; численность бактерий группы кишечной палочки (БГКП), выращенных при той же температуре в течение 48 часов – на среде Эндо; число плесневых грибов и дрожжей учитывали на среде Сабуро после инкубации в течение 72 часов при 28 °С [5].

Результаты и обсуждение

При облучении сушеных молотых овощей и специй по разработанной во ВНИИРАЭ технологии микробиологические анализы показали, что уровень обсеменения исходного продукта микроорганизмами при посеве на агаризованные среды варьирует для КМАФАнМ от 10^4 до 10^7 колониеобразующих единиц (КОЕ) на грамм, для БГКП – от 10^2 до 10^5, для дрожжей – около 10^2 и плесневых грибов – от 10^2 до 10^4 (табл. 1). В составе мезофильных аэробных и факультативных анаэробных микроорганизмов преобладали спорообразующие бактерии *Bacillus subtilis* (в черном перце и мускатном орехе) и *Bacillus cereus* (в чесноке). Во всех изученных видах овощных приправ и пряностей присутствовали плесневые грибы родов *Penicillium* и *Aspergillus* и дрожжи рода *Rhodotorula*.

Обсемененность специй микроорганизмами зависит от условий выращивания растений, способов уборки урожая, методов сушки, переработки и хранения полученного сырья. Одна из причин высокого обсеменения сухих пищевых продуктов состоит в том, что численность микроорганизмов на грамм вещества увеличивается в процессе высушивания продукта. Поскольку термостойкость микроорганизмов различна, наиболее чувствительные к повышению температуры дрожжи и вегетативные клетки бактерий погибают в течение 10–15 мин во влажной среде при температуре около 60 °С. Среди плесневых грибов, осеменяющих сырье для производства специй и сушеных овощей, встречается много термостойких (*Aspergillus, Penicillium, Mucor*). В итоге в составе мезофильных аэробных и факультативных анаэробных микроорганизмов преобладают спорообразующие бактерии. Во всех изученных видах сырья отмечено присутствие плесневых грибов родов *Penicillium* и *Aspergillus* и дрожжей рода *Rhodotorula*. Вероятнее всего, дрожжи попали на продукты в результате вторичного загрязнения уже после сушки.

В целом, плесневые грибы и дрожжи устранялись дозами выше 5 кГр, в то время как для полной гибели спорообразующих бактерий были необходимы дозы выше 10 кГр. Однако, чтобы достичь уровней, соответствующих санитарным требованиям [6], для споровых бактерий и плесневых грибов достаточно дозы γ-облучения 5–7 кГр, а для дрожжей и БГКП – 3 кГр.

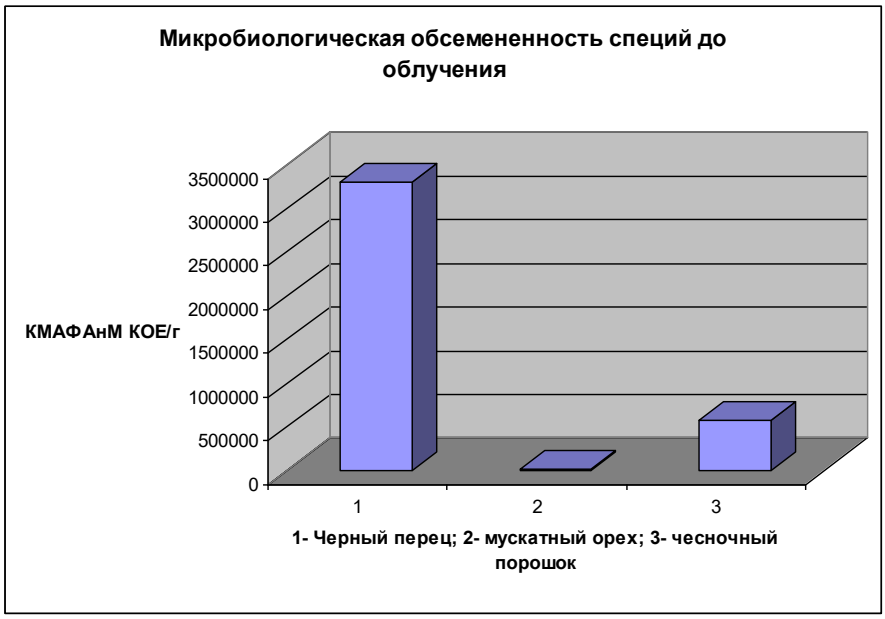
Таблица 1

Эффективность γ-облучения для подавления микроорганизмов, загрязняющих растительное сырье

Доза ИИ, кГр	Микробиологические показатели			
	Количество МАФАнМ, КОЕ/г	Количество плесневых грибов, КОЕ/г	Количество дрожжей, КОЕ/г	Количество БГКП, КОЕ/г
Перец черный молотый				
Контроль	$3{,}3\cdot10^{6}$	$4{,}5\cdot10^{3}$	$1{,}0\cdot10^{2}$	$5{,}2\cdot10^{4}$
1 кГр	$1{,}8\cdot10^{5}$	$2{,}3\cdot10^{3}$	$1{,}8\cdot10^{1}$	$8{,}9\cdot10^{2}$
3 кГр	$9{,}4\cdot10^{4}$	$5{,}3\cdot10^{2}$	$1{,}1\cdot10^{1}$	0
5 кГр	$2{,}7\cdot10^{4}$	$2{,}9\cdot10^{2}$	8	0
7 кГр	$1{,}2\cdot10^{2}$	0	0	0
10 кГр	$6{,}9\cdot10^{1}$	0	0	0
Мускатный орех молотый				
Контроль	$1{,}4\cdot10^{4}$	$4{,}3\cdot10^{2}$	$1{,}7\cdot10^{2}$	$1{,}7\cdot10^{4}$
1 кГр	$4{,}1\cdot10^{3}$	$1{,}4\cdot10^{1}$	$1{,}5\cdot10^{1}$	$3{,}2\cdot10^{2}$
3 кГр	$4{,}6\cdot10^{2}$	3	2	0
5 кГр	$3{,}2\cdot10^{2}$	0	0	0
7 кГр	$1{,}9\cdot10^{1}$	0	0	0
10 кГр	0	0	0	0
Сухой чеснок (порошок)				
Контроль	$5{,}7\cdot10^{5}$	$3{,}4\cdot10^{2}$	$1{,}5\cdot10^{2}$	$2{,}2\cdot10^{2}$
1 кГр	$2{,}0\cdot10^{4}$	$1{,}0\cdot10^{2}$	$1{,}3\cdot10^{1}$	$1{,}8\cdot10^{1}$
3 кГр	$7{,}3\cdot10^{2}$	$1{,}6\cdot10^{1}$	7	0
5 кГр	$6{,}6\cdot10^{1}$	0	0	0
7 кГр	9	0	0	0
10 кГр	0	0	0	0

Анализируя дозовые зависимости инактивации одних и тех же групп микроорганизмов, следует отметить, что эти зависимости специфичны для каждого вида исследованных специй. Это обусловлено значительными различиями степени загрязнения исследуемых продуктов (рис. 1), видового состава микроорганизмов, обсеменяющих разные виды специй, а также свойствами субстрата исследованной растительной продукции.

Полученные данные демонстрируют перспективность исследований, направленных на расширение рынка стерилизации сушеной продукции растительного происхождения, в частности, пряностей и специй. Также показана возможность использования исследовательских γ-установок небольшой мощности для снижения микробной нагрузки.



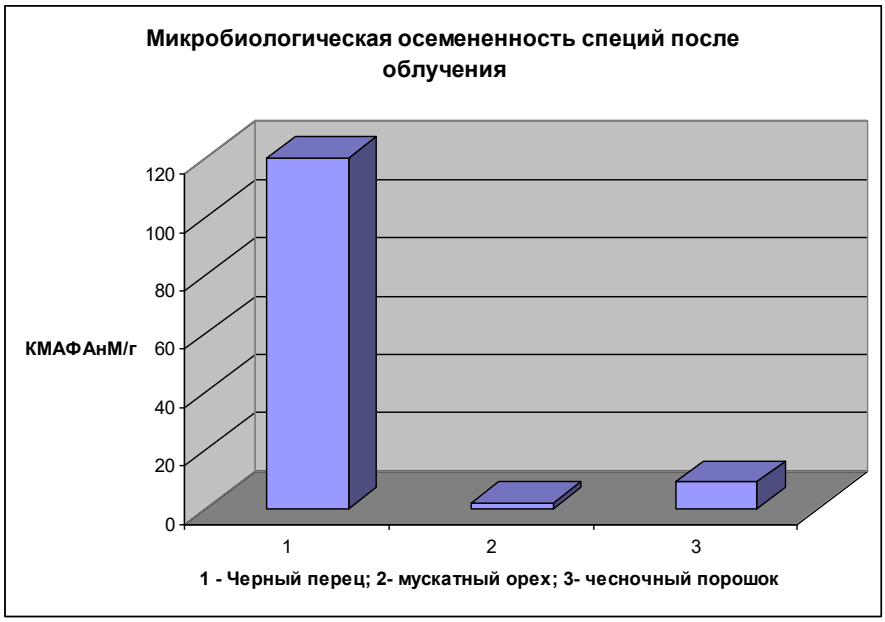


Рисунок 1. Сравнительная обсемененность специй микроорганизмами до и после действия γ-излучения

Литература

1. *Gustavsson J., Cedelberg C., Sonesson U. et al.* Global food losses and food waste: extent, causes and prevention. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Rome, 2011. 38 p.

2. Доступно по: https://www.prnews.ru/topic/analiz-rynka-priprav-specij-v-rossii

3. *Bendini A., Galina Toschi T., Lercker G.* Influence of gamma irradiation and microwaves on the linear unsaturated hydrocarbon fraction in spices // Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung. 1998. V. 207. P. 214–218.

4. *Санжарова Н.И., Гераськин С.А., Исамов Н.Н. и др.* Научные основы применения радиационных технологий в сельском хозяйстве. Обнинск: ВНИИСХРАЭ, 2013. 133 с.

5. *Лабинская А.С.* Микробиология с техникой микробиологических исследований. М.: Изд-во Медицина, 1978. 394 с.

6. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы СанПиН 2.3.2.1078 - 01. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. М., 2002. 317 с.

Влияние ионизирующего излучения на количество и видовой состав микроорганизмов в матрице пищевых продуктов животного происхождения

Полякова И.В., Кобялко В.О., Саруханов В.Я., Фролова Н.А., Губина О.А., Лауринавичюс К.С.

1 – ФГБНУ ВНИИ радиологии и агроэкологии
2 – ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина

Целью настоящего исследования было изучение качественного и количественного состава микроорганизмов в матрице пищевых продуктов животного происхождения под действием ионизирующего излучения. В качестве объектов для исследования были выбраны мясной фарш и рыбные пресервы. Показано, что облучение позволяет сократить общее количество микроорганизмов и продлить сроки хранения исследованных пищевых продуктов в 2–3 раза относительно контрольных образцов. Так как дрожжи являются более радиорезистентными, их количество быстро восстанавливается и на конец срока хранения определяет общую микробную обсемененность. Отмечено, что дрожжи рода *Candida* устойчивы к воздействию бензоата натрия, и комбинированное воздействие ионизирующего излучения и консерванта обеспечивает этим дрожжам конкурентное преимущество.

Ионизирующее излучение, пищевые продукты животного происхождения, общее количество микроорганизмов, видовой состав микроорганизмов, MALDI TOF масс-спектрометрия

Ежегодно в мире по данным Продовольственной и Сельскохозяйственной организации ООН (FAO) теряется примерно треть всех произведенных продуктов питания (1,3 млрд тонн) [1]. Одна из основных причин — это микробиологическая порча. Под микробиологической порчей понимают неконтролируемые и нежелательные изменения, которые происходят в продуктах или сырье под действием микроорганизмов и/или продуктов их жизнедеятельности. Порча быстро происходит в охлажденных продуктах животного происхождения – красном мясе, птице, рыбе, моллюсках и других продуктах, в которых создаются благоприятные условия для развития микроорганизмов (наличие необходимых питательных веществ и воды, близкие к нейтральному значению pH). Кроме того, низкие положительные температуры (+1 – +6 °C), при которых хранятся охлажденные продукты, не подавляют рост и развитие микроорганизмов, а лишь ограничивают их.

Видимые проявления порчи обусловлены в первую очередь сильным увеличением количества микроорганизмов (10^8 КОЕ/г и более), а также неконтролируемым размножением отдельных видов, например плесеней, которые образуют большие, иногда пигментированные колонии на поверхности продукта. Бактерии и дрожжи могут также образовывать видимые колонии на пищевых продуктах. Возможны и другие виды проявления порчи: образование газов, слизи (внеклеточных полисахаридных веществ), диффундирующих пигментов и ферментов, вызывающих размягчение, загнивание, появление посторонних запахов и привкусов в результате разложения отдельных компонентов пищевых продуктов.

Традиционно для снижения скорости порчи и продления срока хранения в охлажденные продукты добавляют консерванты и антиоксиданты (где это применимо в соответствии с ТР ТС 021/2011), используют вакуумную упаковку или упаковку в модифицированной газовой среде (МГС). Эти меры не предотвращают рост микроорганизмов и порчу, а только ограничивают их. Например, максимальный срок хранения охлажденного мясного фарша при температуре до +6 °C – не более 7 суток. Обеспечение такой длительности хранения осуществляется за счет применения герметичной упаковки или МГС,

содержащей различные соотношения кислорода, азота и углекислого газа. Причем добавление кислорода обусловлено только стремлением производителей сохранить красный цвет мяса и никак не влияет на продолжительность хранения и не снижает количество микроорганизмов. Тем не менее, в сфере производства, торговли и хранения подобных продуктов питания отмечается немало случаев несоответствия показателей качества санитарно-гигиеническим нормативам [2].

Для подавления микроорганизмов порчи в рыбные пресервы добавляют консерванты – бензоат натрия, сорбиновую и другие органические кислоты [3, 4]. Суммарные концентрации этих веществ ограничены, и существует тенденция к сокращению их использования. Так же в связи с высокой вариативностью микробиоты применение консервантов не всегда является эффективным, так как разные виды микроорганизмов отличаются разной чувствительностью к действию консервантов, а некоторые виды способны к их разложению [5].

Помимо процессов порчи в охлажденных продуктах питания создается благоприятная среда для развития и размножения патогенных микроорганизмов, таких как *Salmonella*, *Listeria*, *E. coli* и др. Следовательно, охлажденные продукты животного происхождения являются потенциально опасными для потребителя и имеют небольшие сроки безопасного хранения.

Обеспечение продовольственной безопасности Российской Федерации невозможно без внедрения инновационных технологий, обеспечивающих снижение потерь сельскохозяйственной и пищевой продукции при ее переработке, транспортировке и хранении. Среди наиболее перспективных рассматриваются радиационные технологии (РТ). Они могут быть использованы для повышения урожайности и улучшения качества продукции, увеличения сроков ее хранения и снижения потерь при хранении, уничтожения патогенной микрофлоры и насекомых-вредителей, селекции новых сортов и обеззараживания отходов животноводства [6–9]. По сравнению с обычными методами РТ менее энергозатратны и позволяют заменить или резко снизить использование пищевых консервантов и других химических препаратов [3].

Во всем мире радиационные технологии широко используют для обработки сельскохозяйственного сырья и пищевой продукции с целью обеспечения микробиологической безопасности и увеличения сроков хранения [10]. Использование рекомендованных режимов облучения не изменяет сенсорные и физико-химические показатели продукции [8], но они определены не для всех видов продукции.

Для многих классов продукции разработаны процедуры радиационной обработки, которые регламентируются отечественными [11, 12] и международными нормативными документами ФАО, ВОЗ и Европейского комитета по безопасности продуктов питания [13].

Разработка режимов радиационной обработки готовых упакованных продуктов питания и полуфабрикатов животного происхождения представляет значимую научно-практическую задачу. Микрофлора подобных продуктов может значительно варьировать как по видовому разнообразию, так и по количеству. Так как радиочувствительность микроорганизмов сильно различается, необходимо понимать, какие дозы ионизирующего излучения необходимы для их инактивации, и в то же время не приведут к ощутимым изменениям сенсорных характеристик продукта. Кроме того, в матрице пищевого продукта радиорезистентность микроорганизмов выше, чем в суспензии, в питательной среде или физиологическом растворе [5] Так же необходимо различать микроорганизмы, присутствующие в испорченных продуктах, и микроорганизмы, вызывающие порчу (иногда их называют микроорганизмами, вызывающими определенный вид порчи). Последние могут составлять лишь часть микрофлоры, поэтому органолептическая порча и количество микроорганизмов в продукте зачастую слабо связаны.

Большую проблему для охлажденных продуктов животного происхождения представляет такой патоген, как *Listeria monocytogenes*, который чрезвычайно устойчив к различным видам санитарной обработки и

способен размножатся при температурах 0–40 °С. Если микробиологическое загрязнение имело место, то устранить его в готовом упакованном продукте уже невозможно, также как и проконтролировать состояние всех изготовленных упаковок продуктов. Неблагополучная ситуация, связанная с распространением в пищевых продуктах листерии, подтверждается данными различных экспертных организаций [14–16].

Известно, что облучение в дозах до 3 кГр значительно уменьшает количество таких неспорообразующих патогенных и условно патогенных бактерий, которые относятся к родам *Campylobacter, Escherichia, Listeria, Salmonella, Staphylococcus, Yersinia*. Но только доза более 5 кГр обеспечивает гибель плесневых грибов. В то же время доза облучения, инактивирующая спорообразующую микрофлору (20-30 кГр), заведомо уничтожает все вегетативные формы микроорганизмов, но такая доза ухудшает сенсорные и физико-химические показатели продуктов [7].

Для радиационной обработки пищевых продуктов разрешено применять ионизирующее излучение со следующими характеристиками: электронное - с энергией не более 10 МэВ, гамма-излучение радиоизотопа ^{60}Co (E = 1,25 МэВ), гамма-излучение радиоизотопа ^{137}Cs (E = 0,66 МэВ) и тормозное излучение, генерируемое ускорителями с энергией квантов не более 5 МэВ [13]. Это связано с необходимостью свести к минимуму образование в продуктах радионуклидов наведенной активности и продуктов радиолиза, количество которых при дозах до 10 кГр не представляет токсической угрозы для здоровья потребителей [9]. Необходимо подчеркнуть, что глубина проникновения электрона в среде ограничена (в отличие от γ-излучения ^{60}Co и ^{137}Cs, а также тормозного излучения, генерируемого на ускорителях электронов) и тесно связана с его энергией. Одностороннее облучение эквивалентного по плотности воде продукта (большинство продуктов питания) толщиной 4 см может быть выполнено с использованием электронов с энергией 10 МэВ с коэффициентом неоднородности дозы приблизительно составляющим 1,3. Размеры потребительской упаковки большинства охлажденных продуктов животного происхождения (толщина до 3 см) позволяет проводить их радиационную обработку не только на γ-установках в больших палетах, но и на электронных ускорителях с энергией электронов более 5 МэВ.

В ранее проведенных исследованиях установили оптимальный диапазон доз облучения рыбных пресервов от 3 до 6 кГр на гамма-установке и на электронном ускорителе с энергией электронов 5 МэВ. В этом интервале значительно снижается уровень микробиологического загрязнения, обеспечивается максимальное сохранение сенсорных показателей рыбных пресервов и в 2–3 раза увеличивается срок хранения [17, 18].

В связи с вышесказанным целью настоящего исследования было изучение качественного и количественного состава микроорганизмов в матрице пищевых продуктов животного происхождения под действием ионизирующего излучения. В то же время, актуален вопрос о влиянии дополнительных агентов, таких как консервант и МГС, на эффективность антимикробного воздействия облучения, изменение видового состава микроорганизмов в облученной продукции и длительность срока ее безопасного хранения.

Материалы и методы

В качестве модели для проведения исследований были выбраны мясной фарш, упакованный в МГС и рыбные пресервы в масле. Герметично закрытые упаковки охлажденного свежеприготовленного фарша из говядины и свинины (ТУ 9214-011-10844897-06) в атмосфере МГС (75 % O_2 и 25 % CO_2) весом 0,45 кг (сроки хранения продукции – 7 сут при (5 ± 3) °С) были изготовлены в условиях реального производства. Образцы рыбных пресервов были изготовлены в условиях реального производства из размороженной сельди атлантической (*Clupea harengus*) и представляли собой герметично закрытые полипропиленовые ёмкости с кусочками филе в масляной заливке (растительное масло). В качестве консерванта применялся бензоат натрия, количество которого согласно ТУ не должно превышать 2000 мг/кг. В целях изучения влияния консервантов на сохранность облученного продукта были

приготовлены образцы, не содержащие бензоат натрия. Концентрация соли в мясе рыбы не более 6 %. Размеры упаковки: d=15 см, h=2 см, вес – 0,2 кг.

Упаковки мясного фарша облучали на γ-установке с мощностью дозы 1 Гр/с (НИИТФА, г. Москва) в контейнерах с термоэлементами при температуре до +6 °С. Интегральная поглощенная доза облучения образцов продукции составила 3,0 кГр. Часть продукции не облучалась и служила контролем.

Радиационную обработку рыбных пресервов выполняли на электронном ускорителе Центра антимикробной обработки растительного и животного сырья «Теклеор» (Калужская область, Россия). Энергия электронов составляла 9,5 МэВ, длительность импульса – 4 мксек, частота импульсов - 340 Гц, частота сканирования – 9,067 Гц, размер пучка – 16 мм, ширина сканирования - 60 см, скорость конвейера – 1,788 м/мин. Поглощенная доза на поверхности – 4 кГр. Образцы выкладывали на конвейер в коробках по 4 банки в ряд в 2 слоя. Равномерность облучения достигала 95 %. Полное время процесса обработки при 15 °С не превышало 15 мин. Контрольные (необлученные) и опытные образцы находились при этой температуре в равных условиях. До облучения и после него упаковки хранили в холодильнике при t = (5 ± 3) °С.

Транспортировку образцов осуществляли в термоконтейнерах при t = (5 ± 3) °С. Хранение рыбных пресервов и мясного фарша осуществляли в холодильнике при температуре (5 ± 3) °С. Радиационную обработку образцов рыбных пресервов осуществляли на 3 сутки после изготовления, а фарша – сразу после изготовления. Анализ показателей облученных и необлученных образцов начинали через 1 сутки после облучения.

Дозиметрия. Для определения поглощенной дозы (ПД) использовали радиохромные пленки СО/ПД – 1/10 Всероссийского научно-исследовательского института физико-технических и радиотехнических измерений (ВНИИФТРИ, г. Москва, РФ). Погрешности измерения ПД не превышали 10–12 % при доверительной вероятности 0,95. Интегральные ПД облучения фарша и рыбных пресервов составили 3,0 кГр и 4 кГр соответственно. Равномерность облучения достигала 95 %.

Микробиологический анализ. Из каждой банки рыбных пресервов и каждой упаковки фарша отбирали образцы весом 10 г. Их гомогенизировали в 90 мл стерильного физиологического раствора и выдерживали несколько минут при комнатной температуре. Для определения количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) из полученной суспензии готовили несколько последовательных десятикратных разведений и соответственно наносили на стерильные чашки Петри, содержащие стандартный мясо-пептонный агар (МПА), и инкубировали в термостате при температуре (35 ± 1) °С. Количество дрожжей и плесневых грибов определяли путем подсчета колоний микроорганизмов, выросших на среде Сабуро с добавлением молочной кислоты. Учет числа колоний проводили через сутки, 3–5 суток в связи с задержкой процессов прорастания колоний микроорганизмов после облучения. Определение видовой принадлежности микроорганизмов производили после посева на специальную модифицированную среду 5/5а (аминопептид – 60 мл, триптон – 5 г, экстракт дрожжей – 1 г, экстракт соевый – 30 мл, агар – 20 г, вода – до 1000 мл, pH – 7,2) после такой же процедуры (посев, инкубация при температуре (28 ± 1) °С). Эксперименты проведены в параллели, и на каждую временную точку было проанализировано по 3 образца. За допустимый предел микробного загрязнения принимали значение $2 \cdot 10^5$ КОЕ/г для рыбных пресервов в соответствии с (TR TS 040/2016) и $5 \cdot 10^6$ КОЕ/г для мясного фарша в соответствии с (ТР ТС 034/2013).

Видовой состав микроорганизмов определяли с помощь MALDI TOF масс-спектрометрии. Анализировали колонии микроорганизмов, снятых с агара, смешанных с 1 мкл матрицы HCCA (Bruker Daltonics ref: 0,1 г суспендировали в 250 мкл растворителя, состоящего из 2,5 % трифторуксусной кислоты в 50 % ацетонитрила), нанесенных на мишень из полированной нержавеющей стали (MTP 384) и высушенных на воздухе при комнатной температуре. Анализы проводили на

масс-спектрометре Autoflex speed (Bruker Daltonics, Германия), оснащенном лазером с длиной волны излучения 337 нм в линейной конфигурации и режиме регистрации положительных ионов. Ускоряющее напряжение, напряжение на сетке и время задержки ионов были установлены как 19 кВ, 76 % и 120 нс, соответственно. Диапазон регистрации масс на масс-спектрометре устанавливали от 2 000 до 20 000 Да. Внешняя калибровка прибора была выполнена с использованием стандарта «бактериальный тест» (BTS, # 255343, Bruker Daltoniks). Использовали программное обеспечение Flex Control 3.0 (Bruker Daltoniks), метод – MBT_FC, созданный для реализации программы BioTyper. Для визуального осмотра полученных масс-спектров использовали программу FlexAnalysis (версия 3.3) (Bruker Daltonics, Германия). Для идентификации микроорганизмов использовали программу BioTyper 3.0 (Bruker Daltonics, Germany), которая опиралась на базу, включающую спектры 5989 известных микроорганизмов [19].

Результаты и обсуждение

При облучении мясного фарша в дозе 3 кГр поверхность продукта немного темнела и ощущался запах окисленного жира. Это может быть связано с тем, что при высоких дозах облучения и большом количестве кислорода в данном виде упаковки (75 %) увеличивалась интенсивность окисления жиров. В процессе хранения сенсорные показатели мясного фарша имели тенденцию к восстановлению, тогда как в контрольных образцах обнаруживали явную порчу уже на 14 сутки, которая проявлялась в появлении гнилостного запаха и изменении цвета фарша с красно-розового на серо-зеленый.

Радиационная обработка мясного фарша приводила к снижению общего количества микроорганизмов в зависимости от дозы облучения (табл. 1). Показатель КМАФАнМ, согласно ТР ТС 021/2011 для этой продукции, не должен превышать $5{,}0 \cdot 10^6$ КОЕ/г. Через 7 сут после обработки в облученных образцах этот показатель еще больше снижался. Регистрируемое уменьшение количества микроорганизмов под действием ионизирующего излучения обусловлено различными механизмами гибели, реализация которых различается во времени [20]. Замедлялся и рост колоний, высеянных из облученных образцов, что отмечалось ранее [17]. На 30 сут антимикробный эффект облучения сохранялся, и количество микроорганизмов не превышало норматив.

Плесени в образцах не были обнаружены. Было выявлено зависящее от дозы снижение количества дрожжей (в мясном фарше не нормируется), причем в процессе хранения в образцах, облученных в дозе 6 кГр, количество дрожжей не увеличивается и находится ниже придела обнаружения (табл. 1).

Таблица 1

Общая микробная обсемененность (КМАФАнМ, КОЕ/г) и количество дрожжей (КОЕ/г) в образцах мясного фарша после радиационной обработки во время хранения.

	0	3 кГр
	1 сутки	
КМАФАнМ	$(8{,}4 \pm 1{,}3) \cdot 10^4$	$(4{,}0 \pm 0{,}6) \cdot 10^3$
Дрожжи	$(3{,}9 \pm 0{,}5) \cdot 10^3$	<10
	7 сутки	
КМАФАнМ	$(2{,}7 \pm 0{,}5) \cdot 10^4$	70 ± 20
Дрожжи	$(1{,}4 \pm 0{,}3) \cdot 10^4$	<10
	14 сутки	
КМАФАнМ	$(4{,}1 \pm 0{,}6) \cdot 10^6$	$(3{,}6 \pm 0{,}5) \cdot 10^2$
Дрожжи	$(1{,}2 \pm 0{,}7) \cdot 10^6$	$(3{,}2 \pm 0{,}9) \cdot 10^2$
	30 сутки	
КМАФАнМ	$(5{,}0 \pm 3.7) \cdot 10^3$	$(3{,}8 \pm 0{,}4) \cdot 10^3$
Дрожжи	$(2{,}0 \pm 0{,}8) \cdot 10^5$	$(1{,}1 \pm 0{,}4) \cdot 10^4$

В контрольных образцах количество дрожжей увеличивается в процессе хранения от $1{,}4 \cdot 10^3$ на первые сутки до $1{,}2 \cdot 10^6$ на 14 сутки. При дальнейшем хранении отмечали снижение количества дрожжевых клеток, что связано с межвидовой конкуренцией. Так как дрожжевые грибы являются более радиорезистентными, чем большинство не образующих спор бактерий, в облученных образцах уже на 14 сутки количество дрожжей практически равно КМАФАнМ. Превышение количеством дрожжей КМАФАнМ объясняется селективностью среды Сабуро, на которой дрожжи лучше растут, чем на МПА.

Определенные методом MALDI TOF масс-спектрометрии виды микроорганизмов в контрольных и облученных образцах охлажденного мясного фарша различались. В контроле на 7 сутки после облучения были обнаружены бактерии родов *Pseudomonas, Clostridium, Streptomyces, Lactobacillus, Acinetobacter* и другие, а также патоген *Listeria monocytogenes,* а в облученных образцах преобладали микроорганизмы родов *Clostridium, Lactobacillus* и *Aeromonas,* а патогены отсутствовали (рис. 1).

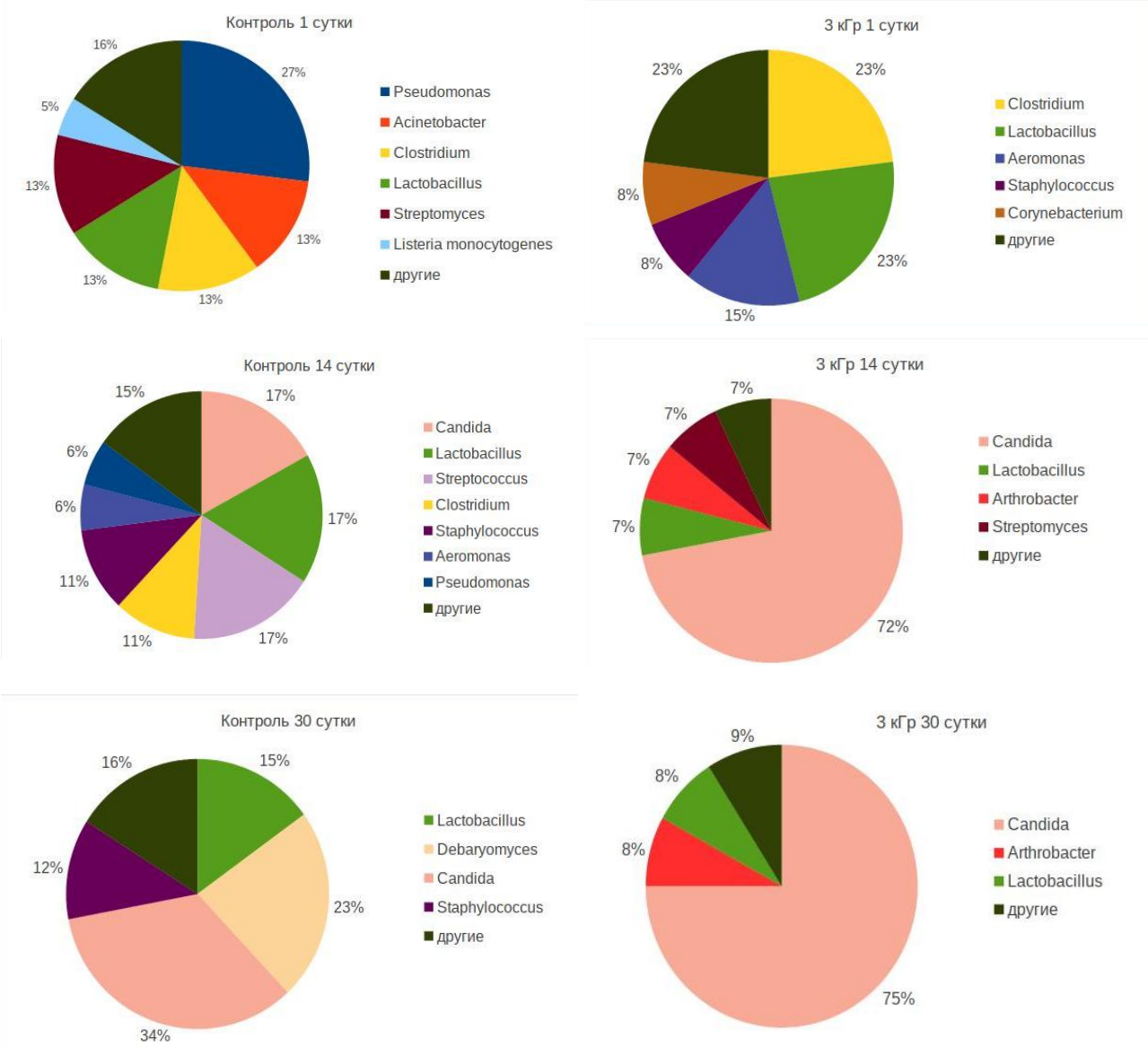


Рисунок 1. Смена микробного сообщества в контрольном и облученном мясном фарше в процессе хранения

В процессе хранения на 14 и 30 сутки в контрольных и облученных образцах фарша отмечалась смена микробного сообщества и увеличение доли дрожжевых грибов. Быстрое развитие дрожжей обусловлено межвидовой конкуренцией и наличием благоприятной среды (вследствие растворения углекислого газа в фарше и его подкисления). Для облученной продукции доля дрожжевых грибов составляет более 70 % от общего количества микроорганизмов. Это связано с большей радиорезистентностью дрожжей (обработка ионизирующим излучением обеспечивает дрожжам конкурентное преимущество). Отсутствие патогенов в других образцах объясняется как неравномерностью загрязнения исходного сырья, так и влиянием облучения.

Общее количество микроорганизмов (КМАФАнМ) в необлученных образцах рыбных пресервов показано в таблице 2. Через сутки после радиационной обработки во всех вариантах отмечали интенсивное развитие микрофлоры. Это связано с тем, что образцы рыбных пресервов были подвергнуты радиационной обработке только на 3 сутки после изготовления, что дало время для размножения микроорганизмов (особенно психрофильных, таких как *Psudomonas, Clostridium, Psychrobacter*). Максимальный уровень микробиологического загрязнения во все сроки исследования регистрировался в контрольных образцах без консерванта. В контрольных образцах с консервантом КМАФАнМ ниже, чем в образцах без консерванта, но на 20 сутки достигает уровня микробиологического загрязнения образцов без бензоата натрия.

В облученных образцах максимальное снижение КМАФАнМ отмечается в образцах, приготовленных без консерванта. В облученных образцах, приготовленных с использованием консерванта, показатель общей микробной обсемененности соответствовал нормативу во все сроки исследования.

Однако количество дрожжей соответствует нормативу только в облученных образцах с консервантом (табл. 3). Это свидетельствует о неэффективности применения консерванта или же его недостаточном количестве. Так же причиной может являться высокое исходное загрязнение продукта. В этом случае комбинированное действие ионизирующего излучения и консерванта объяснятся тем, что ионизирующее излучение подавляет основную массу микроорганизмов во всем объеме продукта, а консервант замедляет восстановление выжившей микробиоты.

Таблица 2

Общая микробная обсемененность (КМАФАнМ) рыбных пресервов, КОЕ/г

	Сроки исследования, сутки после облучения			
	1	10	20	30
Контроль без консерванта	$(8{,}93 \pm 3{,}86) \cdot 10^5$	$(4{,}67 \pm 1{,}93) \cdot 10^6$	$(4{,}00 \pm 3{,}81) \cdot 10^6$	$(1{,}62 \pm 0{,}17) \cdot 10^7$
Контроль с консервантом	$(5{,}00 \pm 1{,}13) \cdot 10^4$	$(2{,}60 \pm 0{,}58) \cdot 10^4$	$(5{,}20 \pm 0{,}78) \cdot 10^6$	$(4{,}03 \pm 0{,}53) \cdot 10^6$
4 кГр без консерванта	$(7{,}50 \pm 5{,}60) \cdot 10^3$	$(2{,}77 \pm 0{,}77) \cdot 10^3$	$(1{,}00 \pm 0{,}23) \cdot 10^6$	$(1{,}43 \pm 0{,}15) \cdot 10^6$
4 кГр с консервантом	менее 10	менее 10	$(7{,}93 \pm 5{,}41) \cdot 10^3$	$(6{,}40 \pm 1{,}85) \cdot 10^3$

Граничное значение: не более $2{,}00 \cdot 10^5$

Таблица 3

Количество дрожжей в рыбных пресервах, КОЕ/г

	Сроки исследования, сутки после облучения			
	1	10	20	30
Контроль без консерванта	$(1,67\pm0,62)\cdot10^5$	$(1,13\pm0,43)\cdot10^4$	$(3,07\pm0,65)\cdot10^4$	$(7,00\pm4,08)\cdot10^3$
Контроль с консервантом	$(1,00\pm1,96)\cdot10^4$	$(1,17\pm0,28)\cdot10^4$	$(9,73\pm3,11)\cdot10^4$	$(5,37\pm0,64)\cdot10^4$
4кГр без консерванта	$(1,33\pm1,31)\cdot10^4$	$(1,20\pm0,30)\cdot10^4$	$(2,63\pm0,28)\cdot10^4$	$(4,43\pm1,01)\cdot10^4$
4кГр с консервантом	менее 10	менее 10	$(1,00\pm1,13)\cdot10^2$	$(5,03\pm088)\cdot10^3$

Граничное значение: не более $1,00\cdot10^2$

После анализа спектров, полученных методом MALDI TOF масс-спектрометрии, были выделены преобладающие виды микроорганизмов для каждого из вариантов эксперимента. Результаты представлены на рисунке 2. Показано, что в облученных образцах доминируют микроорганизмы рода *Candida*, а в необлученных – рода *Lactobacillus*. Общее разнообразие в облученных образцах снижено по сравнению с контролем.

В процессе хранения (на 30 сутки после облучения) видовой состав микроорганизмов в рыбных пресервах изменяется, и во всех образцах, кроме облученного (4 кГр) с консервантом, начинают преобладать бактерии рода *Lactobacillus*. Так же в этих образцах встречаются микроорганизмы родов *Psychrobacter* и *Moraxella*, отвечающие за порчу, причем *Psychrobacter* и *Clostridium* чувствительны к действию консерванта. В необлученных образцах обнаружены микроорганизмы родов *Aeromonas* и *Kocuria*. Они так же могут вызывать порчу рыбной продукции, а некоторые представители этих родов являются патогенными для человека.

После радиационной обработки рыбных пресервов, содержащих консервант, их срок хранения при низких положительных температурах увеличивается в 2–3 раза. Это обеспечивается комбинированным эффектом консерванта и ионизирующего излучения, подавляющего основные микроорганизмы порчи. Так же показано, что при облучении рыбных пресервов, изготовленных без использования консерванта, количество микроорганизмов в них снижается до допустимого уровня и сохраняется в течение 10-15 суток, тогда как в необлученных образцах без консерванта показатель общей микробной обсемененности превышает граничное значение в начале эксперимента. Электронное излучение в дозе 4 кГр не оказывает значимого влияния на органолептические показатели облученных образцов. По результатам MALDI TOF масс-спектрометрии показано, что наличие консерванта не оказывает значимого влияния на разнообразие микроорганизмов, хотя снижает их количество. Тогда как ионизирующее излучение уменьшает количество видов микроорганизмов, подавляя наиболее радиочувствительные, в том числе микроорганизмы, отвечающие за порчу. Сохраняющиеся в образцах виды в основном относятся к дрожжеподобным грибам, что связано с их высокой радиорезистентностью. Кроме того, дрожжи рода *Candida* устойчивы к действию бензоата натрия.

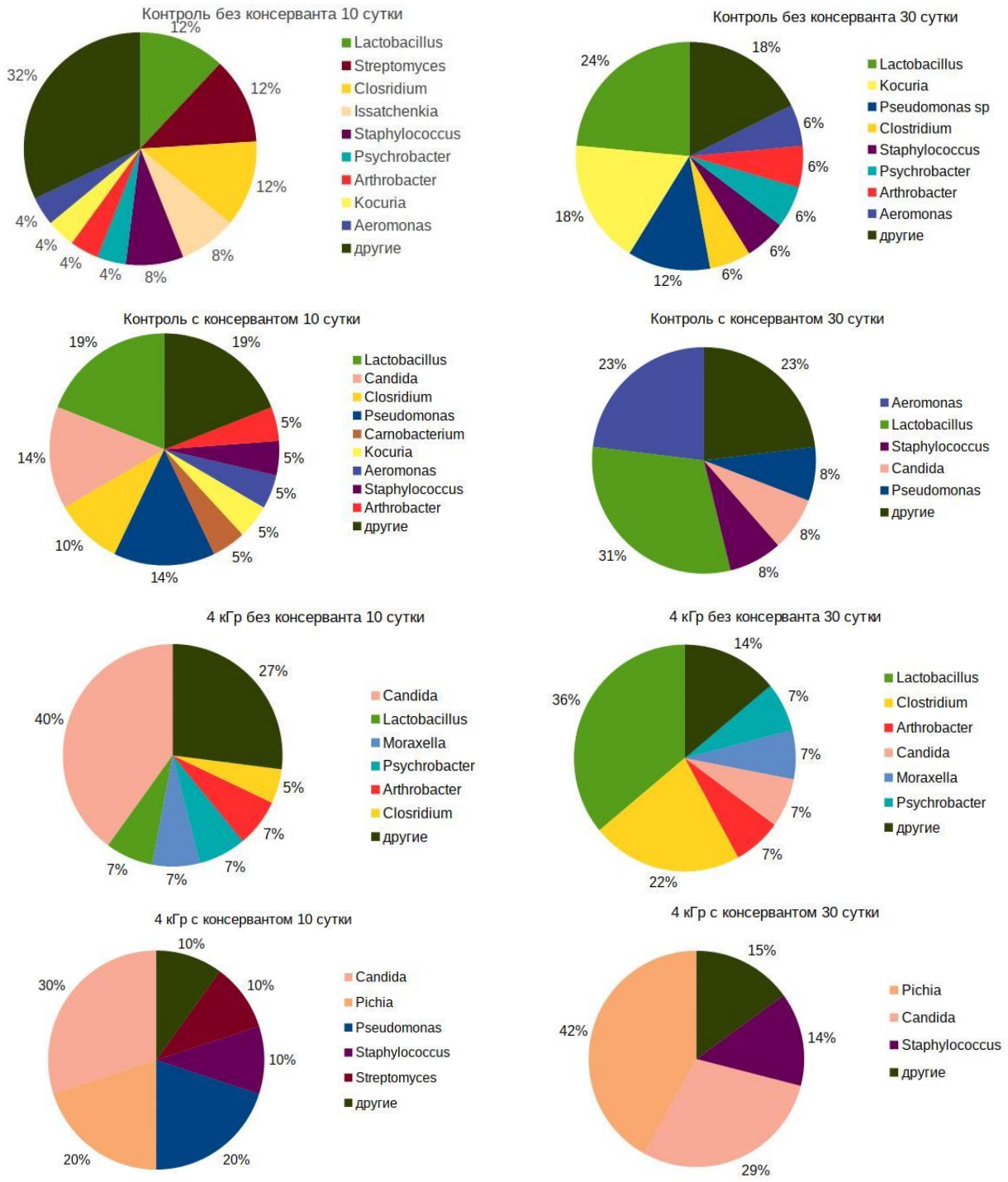


Рисунок 2. Преобладающие рода микроорганизмов в образцах рыбных пресервов в процессе хранения

Заключение

Настоящее исследование было посвящено изучению качественного и количественного состава микроорганизмов в продуктах животного происхождения после радиационной обработки. Это важно для понимания и предотвращения процесса порчи продукции и обеспечения микробиологической безопасности. Применение радиационных технологий в этой области имеет значительную перспективу.

Многие микроорганизмы, отвечающие за порчу продуктов животного происхождения, а также патогены, чувствительны к действию ионизирующего излучения в дозах 3–4 кГр, что позволяет решать задачу

увеличения срока хранения и микробиологической безопасности с помощью радиационных технологий.

Было оценено влияние МГС и бензоата натрия на видовой состав и общее количество микроорганизмов в облученной продукции и показано, что дрожжевые грибы рода *Candida* являются устойчивыми к действию ионизирующего излучения в дозах 3–4 кГр и консерванта, а МГС с высоким содержанием кислорода и углекислого газа даёт им преимущество в межвидовой конкуренции. Дрожжевые грибы рода *Candida* в облученных продуктах не нарушают сенсорных характеристик, даже если их количество превышает норматив, а основными микроорганизмами, вызывающими порчу, являются бактерии родов *Aeromonas, Pseudomonas* и *Lactobacillus*, а также дрожжевые грибы рода *Debaromyces*.

Литература

1. FAO. 2011. Global food losses and food waste — Extent, causes and prevention. Rome

2. *Лисицын А. Б., Семенова А.А, Цинпаев Н.А.* Исследование качества мясного сырья для производства сырокопченых колбас // Все о мясе. 2006. № 4. С. 7–10.

3. ТР ТС 029/2012 Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств. М.: Стандартинформ, 2012. 308 с.

4. *Chipley J.R., Davidson P.M., Sofos J.N., Branen A.L.* (Eds.) Sodium Benzoate and Benzoic Acid / In: Antimicrobials in Food. 3rd Edn., CRC Press, FL., 2005. p. 11–48.

5. Микробиологическая порча пищевых продуктов / *К. де В. Блекберн* (ред.). СПб.: Профессия, 2011. 784 с.

6. *Санжарова Н.И., Гераськин С.А., Исамов Н.Н. и др.* Научные основы применения радиационных технологий в сельском хозяйстве. Обнинск: ВНИИСХРАЭ, 2013. 133 с.

7. Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности / Под ред. *Г.В. Козьмина, С.А. Гераськина, Н.И. Санжаровой.* Москва-Обнинск: ИНФОРМПОЛИГРАФ, 2015. 400 с.

8. Irradiation of Food Commodities: Techniques, Applications, Detection, Legislation, Safety and Consumer Opinion / ed. Ioannis S. Arvanitoyannis. — Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo. Academic Press is an imprint of Elsevier, 2010. 710 p.

9. Food irradiation research and technology / Edited by *Christopher H. Sommers, Xuetong Fan*. Oxford: Blackwell Publishing Professional, 2006. 317 p.

10. *Kume T., Furuta M., Todorikis S. et al.* Status of food irradiation in the world // Radiation Physics and Chemistry. 2009. V. 73. P. 222–226.

11. Государственный стандарт ГОСТ ISO 14470-2014 «Радиационная обработка пищевых продуктов. Требования к разработке, валидации и повседневному контролю процесса облучения пищевых продуктов ионизирующим излучением». М.: Стандартинформ, 2015. 27 с.

12. ГОСТ Р ИСО/АСТМ 51204-2012 «Руководство по дозиметрии при обработке пищевых продуктов γ-излучением». М.: Стандартинформ, 2014. 19 с.

13. Кодекс Алиментариус. Облученные продукты питания. Совместная программа ФАО/ВОЗ по стандартам на пищевые продукты. М.: Весь Мир, 2007. 21 с.

14. ACMSF (Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food). (2009). Report on the increased incidence of listeriosis in the UK. Ad Hoc Group on Vulnerable Groups. (Accessed on March 28, 2011).

15. Anonymous. (2002). Public Health Dispatch: Outbreak of listeriosis – Northeastern United States, 2002. CDC-MMWR, 51: 950–951.

16. CFIA (Canadian Food Inspection Agency). (2010). Meat Hygiene Manual of Procedures Chapter 5. Sampling and Testing (Accessed on March 15, 2011).

17. *Полякова И.В., Кобялко В.О., Саруханов В.Я. и др.* Использование γ-излучения для холодной стерилизации многокомпонентных продуктов готовых к употреблению // Радиация и риск. 2015. № 4. С. 43—52.

18. *Полякова И.В., Кобялко В.О., Саруханов В.Я. и др.* Исследование эффективности холодной стерилизации рыбных пресервов электронным излучением в зависимости от дозиметрических параметров облучения // Радиация и риск. 2017. Том 26. № 2. С. 97–106.

19. *Демидов Е.А., Старостин К.В., Попик В.М., Пельтек С.Е.* Применение МАЛДИ времяпролетной масс-спектрометрии для идентификации микроорганизмов // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013. Том 17. № 4/1. С. 758-764.

20. *Корогодин В. И.* Феномен жизни / Избранные труды. Т. 1. М.: Наука, 2010. 440 с.

Изменение бактериального обсеменения специй при комбинированном действии высокой температуры и гамма – излучения

Васильева Н.А., Морозова А.И., Пименов Е.П.

ФГБНУ ВНИИ радиологии и агроэкологии

Изучали влияние температуры (80 °С – пастеризация и 100 °С - стерилизация) на количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ), подвергшихся действию ионизирующего излучения в процессе холодной пастеризации сублимированного чесночного порошка и базилика сушеного. Установлено, что ионизирующее излучение способствует снижению термостойкости микроорганизмов. Максимальный эффект наблюдался в облученных продуктах, подвергшихся затем термической обработке при 100 °С, где отмечено практически полное подавление роста микроорганизмов, в то время как в необлученной продукции не было существенного уменьшения количества микроорганизмов как при пастеризации, так и при кипячении.

Чесночный порошок, сушеный базилик, гамма-излучение, температура, пастеризация, стерилизация, количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ)

В состав большинства пищевых продуктов входят специи, пряности и сушеные овощи. В процессе заготовки, технологической обработки, фасовки и хранения специи обсеменяются микроорганизмами, в том числе термофильными и гнилостными бактериями, поэтому могут стать источником инфекций. Традиционные методы деконтаминации не подходят для них, так как использование высоких температур невозможно из-за низкой термостойкости компонентов, отвечающих за аромат, вкус, лекарственные и антиоксидантные свойства специй и растительного сырья. Ультрафиолетовое излучение неэффективно при дезактивации больших и закрытых объемов продукции [1]. Фумигация этиленом и пропиленоксидом нежелательна из-за их токсических, мутагенных и канцерогенных эффектов [2]. Поэтому гамма-облучение является лучшим и зачастую единственным способом для микробной дезактивации специй и трав без существенного изменения качества продукта [3]. С января 2017 года введен ГОСТ 33271-215 «Пряности сухие, травы и приправы овощные - руководство по облучению в целях борьбы с патогенными и другими микроорганизмами», которое регламентирует применение ионизирующего излучения для перечисленных продуктов.

Для хранения готовой пищевой продукции используются холодильники и холодильные камеры. Температура в них не опускается ниже +5 °С, что замедляет развитие микроорганизмов, но не останавливает их рост. Известно, что любой пищевой продукт является хорошей питательной средой для бактерий, поэтому используемые в процессе приготовления пищи специи и приправы могут внести значительный вклад в дополнительную обсемененность готовых к употреблению продуктов. Особенно это актуально для специй и приправ, таких как сублимированный лук и чеснок, кориандр, петрушка, которые могут содержать в себе почвенные частички. Лидером среди них является чесночный порошок, для которого отдельно в СанПиН 2.3.2.1078-01 прописано определение спорообразующей бактерии *Bacillus cereus*, являющейся представителем почвенной микрофлоры способной вызывать пищевые токсикоинфекции.

Чеснок является популярной овощной культурой у многих народов мира. Он обладает острым вкусом и специфическим пряным запахом. Базилик, также как и чеснок, входит в число пряно-ароматических культур. Сушить базилик рекомендуется при

температуре не выше 40 °С, так как тепловая обработка пряной зелени приводит к ослаблению их аромата. Это связано с изменением содержания и состава эфирных масел под воздействием гидротермической обработки [4]. Чеснок в основном подвергают сублимационной сушке. При сублимационной сушке, как наиболее щадящей и сохраняющей большую часть ароматических и вкусовых веществ, сохраняются практически все микроорганизмы, которые выдержали обработку в 0,2 %-ном растворе хлорамина в течение всего 2–3 мин. Именно такая предварительная обработка перед сушкой рекомендована для чеснока. Экспериментально установлено, что при обработке чеснока раствором бисульфита натрия происходит значительная потеря эфирных масел, поэтому сульфитация чеснока не рекомендуется. Другие пищевые продукты, такие как морковь или белые коренья, проходят многостадийную обработку, в которую входит: очищение паром в течение 40–50 с при давлении пара 0,3 МПа, 4 %-ным раствором каустической соды при температуре 80–85 °С в течение 3 мин; сульфитации в 0,2 %-ном растворе бисульфита натрия – 3 мин и лимонной кислоты концентрацией 0,15 %; бланшировании при температуре 95–98 °С – 3–5 мин, следовательно, менее загрязнены микроорганизмами [5].

Объекты и методы исследования

Для исследований отбирали образцы чесночного порошка сублимационной сушки производства КНР и базилика сушеного производства Египет. Образцы продуктов подвергали гамма-облучению на установке ГУР-120 Всероссийского научно-исследовательского института радиологии и агроэкологии.

Микробиологический контроль образцов чесночного порошка и базилика осуществляли до и сразу после гамма-облучения, а также после каждой термической обработки. В результате предварительного тестирования образцов специй на бактериальную обсемененность выявили большую разницу в количестве КМАФАнМ исследуемой продукции, для чесночного порошка - 18400000 КОЕ/г, базилика – 3550000 КОЕ/г, поэтому было принято решение подвергнуть продукцию разным дозам облучения для достижения безопасных уровней содержания микроорганизмов. Использованные дозы облучения:

- чесночный порошок – 10 кГр
- базилик – 6 кГр

Посевы культивировали в термостате ТС-80 при 30 °С в течение 48 часов, после чего производили подсчет всех видимых колоний. Полученные результаты обрабатывали статистически с помощью программы Microsoft Excel. Ошибка среднего арифметического не превышала 8 %.

Для изучения воздействия температуры на облученные микроорганизмы были поставлены модельные эксперименты. Чесночный порошок и сушеный базилик до и после облучения помещали в конические колбы, заливали физиологическим раствором в отношении 1:10, одну часть образцов пастеризовали при 80 °С в течение 20 мин на водяной бане, другую часть нагревали до 100 °С также в течение 20 мин. После каждого этапа термической обработки в пробах определяли содержание КМАФАнМ по схеме, приведенной выше. В качестве среды использовали ГРМ-агар (г. Оболенск).

Результаты и обсуждение

Для определения влияния ионизирующего излучения на выживаемость микроорганизмов от температуры было выбрано два режима термообработки:

– пастеризация при 80 °С в течение 20 минут;

– стерилизация при 100 °С в течение 20 мин.

На рисунках 1 и 2 представлены зависимости содержания микроорганизмов в образцах чесночного порошка и базилика сушеного от температуры до и после облучения. Анализ данных показал, что в необлученных продуктах количество микроорганизмов превышает допустимые СанПиН нормы, т.е. необходима дополнительная обработка для снижения общего загрязнения специй. После гамма-облучения образцов значения КМАФАнМ пришли в соответствие нормам СанПиН, т.е. перестали быть потенциально опасными для человека [6]. Тем не менее, каждый из образцов по-прежнему содержал остаточное количество

микроорганизмов, которые могли возобновить активный рост при попадании в благоприятные условия. Установлено, что при облучении дозой 6 кГр погибает большинство вегетативных клеток микроорганизмов, остаются жизнеспособными в основном споры, которые выдерживают дозы выше 20 кГр [6]. Именно их дальнейшее поведение вызывает особый интерес для последующих исследований.

На рисунке 1 показано, что в необлученном чесночном порошке количество микроорганизмов при пастеризации уменьшилось в 2 раза. При этом количество микроорганизмов до пастеризации превышало нормы более чем в 1500 раз. Это связано с тем, что продукт изначально был сильно загрязнен (в 50 раз превышал значения КМАФАнМ для базилика), а для него установлены более жесткие нормы по содержанию КМАФАнМ. При нагревании необлученного чесночного порошка в режиме стерилизации до 100 °С в течение 20 мин количество микроорганизмов в образце снижалось в 9 раз, но так и не достигло безопасного уровня. Таким образом, продукт оставался потенциально опасным, даже пройдя термическую обработку в режиме кипячения.

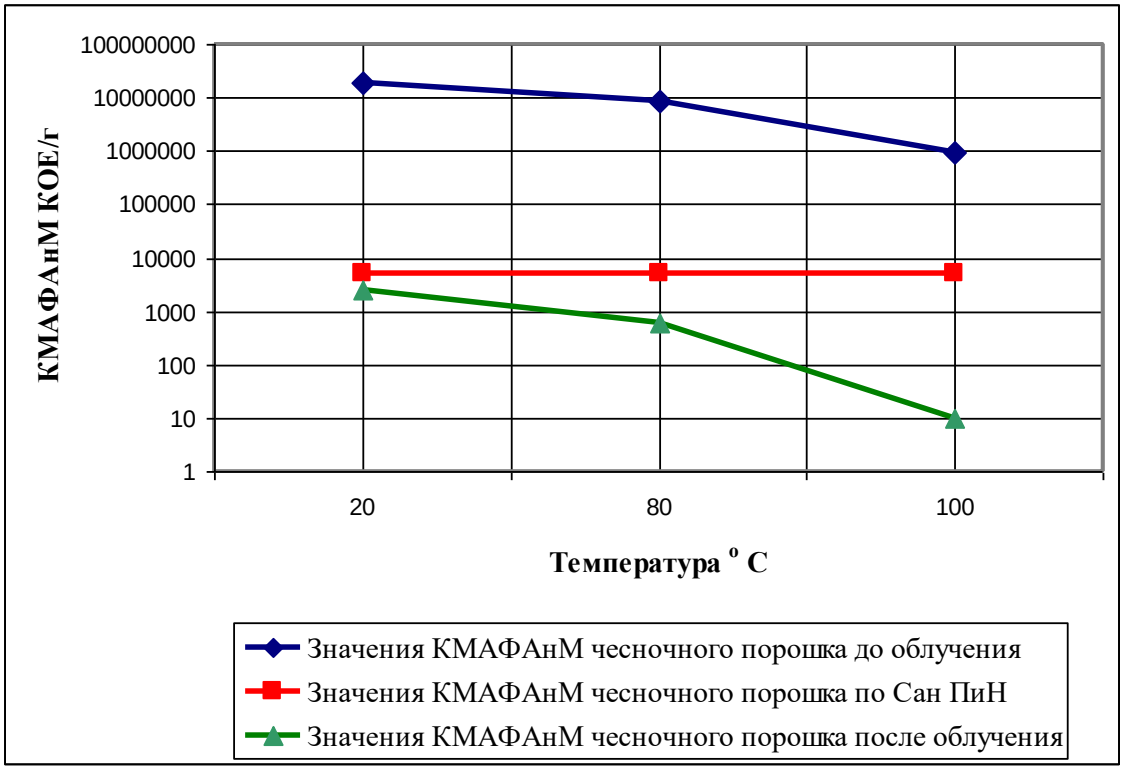


Рисунок 1. Влияние температуры на значение КМАФАнМ чесночного порошка

В облученном образце чесночного порошка, который до тепловой обработки уже соответствовал нормам СанПиН 2.3.2.1078-01 [7], значение КМАФАнМ в результате пастеризации сократилось в 4 раза. При дальнейшей обработке пробы, подвергшейся облучению и кипячению при температуре 100°С в течение 20 мин, были обнаружены единичные колонии, т.е. получена практически чистая продукция. Такой результат можно объяснить тем, что в процессе облучения споры бактерий были ослаблены. При подготовке препарата с использованием физиологического раствора происходит активация спор и их прорастание. Чувствительность активированных спор к действию ионизирующего излучения сравнима с действием радиации на вегетативные клетки [8].

Несколько иная картина наблюдается на рисунке 2. Базилик сушеный имел значения микробного загрязнения, близкие к разрешенным СанПин нормам. После облучения КМАФАнМ снизилось всего в 12 раз и практически сравнилось по своим показателям с чесночным порошком.

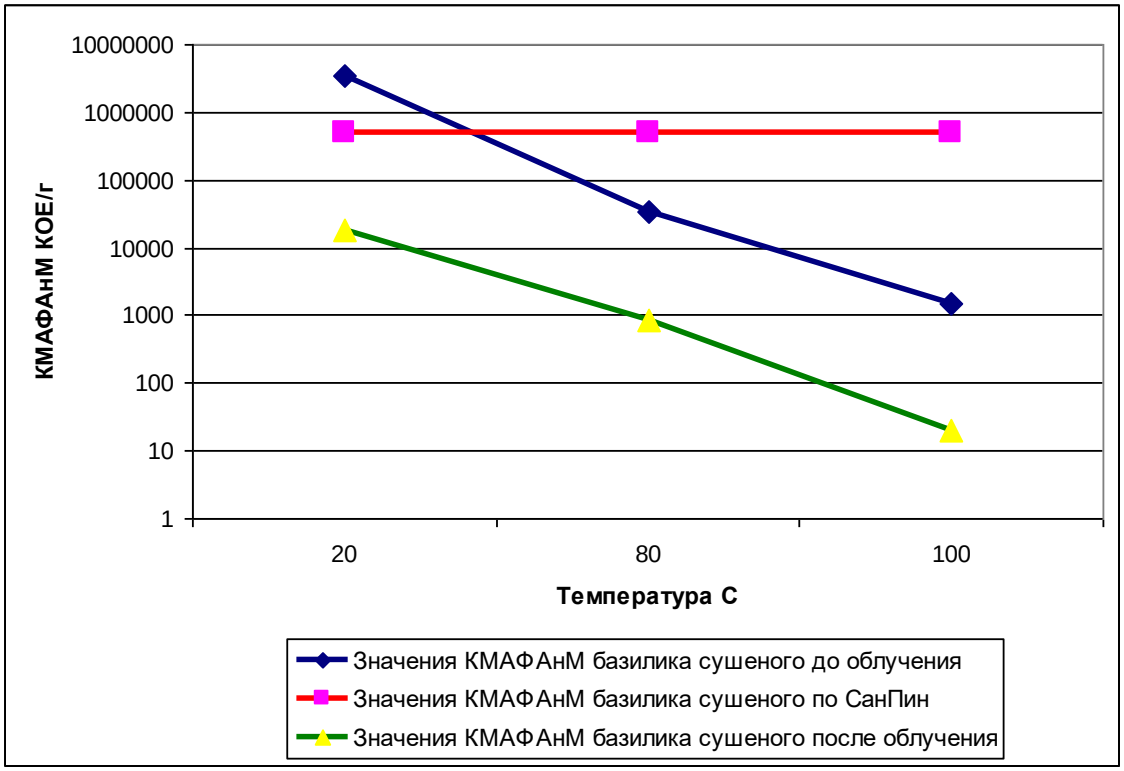


Рисунок 2. Влияние температуры на значение КМАФАнМ базилика сушеного

Если сравнить соотношения микроорганизмов после радиационной и термической обработки в представленных образцах специй (табл. 1), можно сделать вывод, что чесночный порошок загрязнен в основном спорообразующими бактериями, а базилик - вегетативными формами бактерий. В результате пастеризации остаются практически только споры бактерий и, несмотря на большую разницу в бактериальном обсеменении продуктов, соотношения численности микроорганизмов у базилика и чесночного порошка после стерилизации к количеству микроорганизмов после пастеризации стали близки по своим значениям.

Таблица 1

Соотношения значений КМАФАнМ чесночного порошка и базилика сушеного в зависимости от температурной обработки

Наименование продукта	Соотношение необлученный продукт/ необлученный пастеризованный	Соотношение облученный продукт/ облученный пастеризованный	Соотношение облученный продукт пастеризованный/ облученный стерилизованный
Чесночный порошок (доза 10 кГр)	2	4	50
Базилик сушенный (доза 6 кГр)	102	22	45

Заключение

При изучении пострадиационной активности микроорганизмов и их устойчивости к температурному воздействию установлено, что ионизирующее излучение значительно уменьшает термостойкость микроорганизмов. Максимальный эффект снижения термоустойчивости наблюдали в облученной продукции, подвергнутой температурной обработке при 100 °С, где отмечено

практически полное подавление роста микроорганизмов. В то время как в необлученной продукции было отмечено несущественное уменьшение количества микроорганизмов при пастеризации, и только кипячение привело к значимым, но небезопасным в случае чесночного порошка, результатам. Следовательно, необлученный продукт оставался потенциально опасным после его обработки критическими температурами. Полученные результаты представляют практическую ценность и могут гарантировать биологическую безопасность продуктов с использованием специй, подвергшихся холодной пастеризации ионизирующим излучением.

Литература

1. *Fine F., Gervais P.* A new high temperature short time process for microbial decontamination of seeds and food powders // Powder Technol. 2005. V. 157. P. 108–113.

2. *Fowles J., Mitchell J., McGrath H.* Assessment of cancer risk from ethylene oxide residues in spices imported into New Zealand // Food Chem. Toxicol. 2001. V. 39. P. 1055–1062.

3. *Murcia M.A., Egea I., Romojaro J.* Antioxidant evaluation in dessert spices compared with common food additives influence of irradiation procedure // J. Agric. Food Chem. 2004. V. 52. P. 1872–1881.

4. *Кольберг Н.А, Леонтьева С.А.* Влияние тепловой кулинарной обработки на изменение качественного и количественного состава эфирных масел пряной зелени / В Кн.: Актуальные проблемы пищевой промышленности общественного питания. Екатеринбург, 2017. С. 94–100.

5. *Киселева Т.Ф.* Технология сушки. Кемерово: КемТИПП, 2007. С. 50–60.

6. *Salwa A.E., Hammad A.* Inactivation of *Bacillus cereus* spores in liquid food by combination treatments of heat and irradiation // Food Science and Quality Management. V. 19. 2013. P. 31–40.

7. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов СанПиН 2.3.2.1078-01: Приложение 1, п. 1.6.8.4. Чеснок порошкообразный (сублимационной сушки).

8. *De-Lara J., Fernandez P.S.; Periago P.M., Palop A*. Irradiation of spores of *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* with electron beams // Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2002. V. 3. P. 379–384.

Изменение концентрации таргетной мРНК *Escherichia coli* в жидких и твердых средах при воздействии гамма-излучения

Бондаренко В.С.

ФГБНУ ВНИИ радиологии и агроэкологии

Полученные данные об изменении концентраций мРНК *E. coli* свидетельствуют о сохранении ферментативной активности экзогенной РНКазы А в клеточной суспензии после γ-облучения в дозе 3 кГр. При облучении мясного фарша, заражённого суспензией *E. coli,* показано сохранение ферментативной активности экзогенной РНКазы А после облучения в дозе до 6 кГр. При γ-облучении мясного фарша летальной для *E. coli* дозой 1,5 кГр в присутствии экзогенной РНКазы А, мРНК кишечной палочки не обнаруживается уже после 60 мин экспонирования при комнатной температуре во всех исследованных плотностях заражения. В образцах фарша, подвергшихся γ-облучению в отсутствии экзогенной РНКазы А, отмечена деградация мРНК *E. coli* под действием эндогенных РНКаз. Полученные результаты позволяют продолжить разработку молекулярно-биологической методики оценки микробиологической обсемененности продуктов питания и сельскохозяйственной продукции.

мРНК, Escherichia coli, γ-облучение, РНКаза А, ферментативная активность, микробиологическая обсемененность пищевых продуктов

Ежегодные мировые потери сельскохозяйственной продукции достигают 30 %, притом, что к числу голодающих относят около 15 % населения Земли [1]. Продовольственные потери связаны как с повреждением культур насекомыми и болезнями, так и с несоблюдением технологий и санитарно-гигиенических требований при изготовлении и хранении продукции. Для снижения уровня потерь важную роль имеет контроль микробиологической обсеменённости сельскохозяйственной и пищевой продукции. Особенно важно для своевременного принятия решений иметь возможность получения информации о составе и плотности микробоценоза в кратчайшие сроки. Имеющиеся в настоящий момент микробиологические методы оценки обсеменённости обладают высокой чувствительностью и достаточной селективностью, однако не позволяют получить результат в день взятия проб [2].

Метод ПЦР [3], обладая практической чувствительностью порядка 10 молекул на объём реакции, позволяет получить качественный и количественный результат в день взятия материала [4]. При этом селективность метода задаётся праймерами, фланкирующими участок генома искомого микроорганизма в процессе разработки конкретной методики. Таким образом, используя метод ПЦР, можно варьировать уровень детектируемого таксона вплоть до штамма [5]. Однако возможность использования метода ПЦР для оценки микробиологической обсеменённости сельскохозяйственной и пищевой продукции находится в непосредственной связи со свойствами молекул, использующихся в качестве матрицы. Учитывая, что молекулы ДНК обладают высокой стабильностью и способны длительное время сохранять нативность во внеклеточной среде [6], использование ДНК в качестве матрицы для оценки текущей микробиологической обсеменённости бесперспективно ввиду наличия высокого уровня артефактного фона. В свою очередь, молекулы мРНК, в силу специфики своего строения, даже внутри прокариотической клетки живут очень непродолжительное время [7], а вне её практически моментально становятся мишенью для действия чужеродных рибонуклеаз [8-11]. При этом мРНК, будучи матрицей для синтеза полипептидов, обладают высокоспецифичной первичной структурой, копирующей соответствующие гены организма.

Для решения вопроса о возможности использования метода ПЦР на основе кДНК, синтезированной на матрице мРНК, при оценке микробиологической обсеменённости, было запланировано исследовать,

сохраняют ли РНКазы свою ферментативную активность в условиях воздействия γ-излучения в летальных для исследуемых микроорганизмов дозах, используя в качестве образцов суспензии клеток *E.coli* с различным уровнем разведения и заражённый ими мясной фарш.

Материалы и методы

Объектом исследования являлись бактерии *E. coli*. ДНК и РНК выделялись из суспензий клеток *E. coli* в физиологическом растворе. Также тотальная РНК выделялась из облучённого на электронном ускорителе (дозы 0,5; 1,5; 3; 6 кГр) зараженного *E. coli* мясного фарша. После облучения фарш хранился при комнатной температуре 30, 60, 120 и 180 мин. В часть фарша при заражении *E. coli* добавлялась экзогенная РНКаза А.

РНК выделялась из фиксированных в жидком азоте смывов с мясного фарша. Выделение РНК осуществлялось при помощи реагента для выделения суммарной РНК из биологических образцов «ExtractRNA» (Евроген) согласно рекомендациям производителя. Синтез кДНК на матрице РНК осуществлялся при помощи набора реактивов MMLV RT kit фирмы Евроген. Концентрация нуклеиновых кислот измерялась при помощи спектрофотометра NanoDrop и флуориметра Qubit 2.0 с использованием наборов реактивов для флуориметрического измерения концентрации ДНК и РНК фирмы Invitrogen согласно протоколу производителя.

В рамках проведённых исследований, в качестве маркера присутствия *E. coli* использовался специфический для *E. coli* участок гена uidA, кодирующий бета-D-Глюкуронидазу (от 754 до 900 п.н.). Реакции проводились в объёме 20 мкл с первичной денатурацией в течение 10 мин при 95 °С, затем 55 циклов с тремя температурными полками: 94 °С 20 с, 60 °С 20 с, 72 °С 20 с. Детекция накопления продуктов амплификации проводилась автоматически на стадии отжига праймеров (60 °С) каждого цикла.

Все реакции проводились в трёх повторах (триплетах) для каждой матрицы кДНК. В случае, если значения Ct (threshold cycle – пороговый цикл) в триплете различались на 0,5 единиц и более, результаты по данному триплету признавались недействительными, и реакция для данной матрицы проводилась повторно. Пороговая линия выставлялась автоматически в среде специализированного программного обеспечения фирмы ДНК-Технология. При расчёте относительной концентрации транскриптов в качестве референтного значения использовалось минимальное значение Ct в группе сравнения. В качестве условных единиц относительной концентрации транскриптов приводятся значения, рассчитанные по формуле $2^{-\Delta Ct}$.

Результаты

Для изучения влияния γ-облучения на ферментативную активность РНКаз суспензии клеток *E. coli* (1×10^3 КОЕ/мл и 1×10^6 КОЕ/мл) с внесённой экзогенной РНКазой А облучались дозой 3 кГр, после чего 3 часа инкубировались при комнатной температуре. Затем из клеточных суспензий выделялась тотальная РНК, синтезировалась кДНК и проводились ПЦР в режиме реального времени с праймерами, фланкирующими участок гена uidA *E. coli*, кодирующего бета-D-Глюкуронидазу (от 754 до 900 п.н.).

Во всех исследованных разведениях отсутствует сигнал детекции мРНК *E. coli* в суспензиях, подвергшихся γ-облучению в присутствии РНКазы А, при этом в суспензиях с РНКазой А, не подвергавшихся воздействию летальной дозы ионизирующей радиации, мРНК *E. coli* детектируется (табл. 1).

Таблица 1

Относительная концентрация таргетной мРНК *E. coli* (у.е.)

	1×10^3 КОЕ/мл		1×10^6 КОЕ/мл	
	0 Гр	3 кГр	0 Гр	3 кГр
РНКаза А отсутствует	0,0156	0,0127	1	0,835
РНКаза А присутствует	0,0018	0	0,24	0

Для изучения специфики работы РНКаз в матрице продукта мясной фарш заражался суспензией *E. coli* трёх концентраций (5×10^2, 5×10^4 и 5×10^6) и подвергался воздействию γ-излучения с дозами 0,5; 1,5; 3 и 6 кГр, с добавлением и без экзогенной РНКазы А, после чего фарш выдерживался 30, 60, 120 и 180 мин при комнатной температуре. После инкубации при комнатной температуре с фарша брались смывы, из которых выделялась тотальная РНК с последующим синтезом кДНК. При помощи ПЦР в режиме реального времени с праймерами, фланкирующими участок гена uidA *E. coli*, детектировалось присутствие специфической РНК *E. coli* в исследуемых образцах. Относительная концентрация РНК *E. coli* приведена в таблицах 2–4.

Таблица 2

Относительная концентрация таргетной мРНК *E. coli* в смывах с фарша, заражённого культурой клеток с плотностью 5×10^6 КОЕ/мл (у.е.)

Инкубация	Без РНКазы А					С РНКазой А				
	0 Гр	*0,5 кГр*	*1,5 кГр*	*3 кГр*	*6 кГр*	*0 Гр*	*0,5 кГр*	*1,5 кГр*	*3 кГр*	*6 кГр*
0 мин	1	1,741	1,516	1,072	1,3195	1,414	0,33	0,536	1,319	1,231
30 мин	0,287	0,165	0,0292	0,0156	0,0103	0,165	0,0718	1,2E-06	1,7E-07	2,6E-07
1 час	0,406	0,0718	0,00129	0,00037	0,000793	0,0442	0,0103	0	0	0
2 часа	0,077	0,0625	0,000005	5,8E-06	5,4E-06	0,00592	0,0012	0	0	0
3 часа	0,0059	0,0103	1,5E-07	7,9E-08	0	0,00159	4,03E-05	0	0	0

Таблица 3

Относительная концентрация таргетной мРНК *E. coli* в смывах с фарша, заражённого культурой клеток с плотностью $5x10^4$ КОЕ/мл (у.е.)

Инкубация	Без РНКазы А					С РНКазой А				
	0 Гр	*0,5 кГр*	*1,5 кГр*	*3 кГр*	*6 кГр*	*0 Гр*	*0,5 кГр*	*1,5 кГр*	*3 кГр*	*6 кГр*
0 мин	1	0,933	0,758	1,319	1,149	1,23	1	0,87	1,149	0,812
30 мин	0,125	0,03125	0,00085	3,76E-05	0,000099	0,029	0,00224	0	1,66E-06	3,8E-06
1 час	0,0718	0,0096	2,48E-05	5,4E-06	3,56E-06	0,0017	0,000644	0	0	0
2 часа	0,0474	0,0146	0	0	0	0,00074	6,2E-06	0	0	0
3 часа	0,00074	0,000425	0	0	0	3,8E-06	0	0	0	0

Таблица 4

Относительная концентрация таргетной мРНК *E. coli* в смывах с фарша, заражённого культурой клеток с плотностью $5x10^2$ КОЕ/мл (у.е.)

Инкубация	Без РНКазы А					С РНКазой А				
	0 Гр	*0,5 кГр*	*1,5 кГр*	*3 кГр*	*6 кГр*	*0 Гр*	*0,5 кГр*	*1,5 кГр*	*3 кГр*	*6 кГр*
0 мин	1	0,812	1,62	0,933	1,414	1	0,203	0,233	0,088	0,406
30 мин	0,707	0,406	0,000523	0,00074	0,000228	0,25	0,00837	0	0	0
1 час	0,0254	0,0167	0	0	0	0,00317	0,000106	0	0	0
2 часа	0,00069	0,000185	0	0	0	0,00015	0	0	0	0
3 часа	0,000322	0,00014	0	0	0	0,000061	0	0	0	0

Обсуждение

Концентрация транскриптов бета-D-Глюкуронидазы наиболее высока в образце, полученном из суспензии *E. coli* плотностью 1×10^6 КОЕ/мл, не подвергшейся воздействию γ-облучения и без добавления РНКазы А (табл. 1). Снижение концентрации мРНК

после воздействия летальной для *E. coli* дозы 3 кГр в образцах без добавления экзогенной РНКазы А, вероятно, объясняется частичной деградацией мРНК под действием эндогенных РНКаз *E. coli*. В облучённых образцах, в которых присутствовала экзогенная РНКаза А, после 3-часовой инкубации при комнатной температуре мРНК *E. coli* не была обнаружена, что свидетельствует о сохранении нативности фермента при воздействии дозы γ-облучения 3 кГр. В облучённых образцах без добавления экзогенной РНКазы А, мРНК *E. coli* детектировалась, хоть и снижалась относительно контрольной, что вероятно связано с недостаточностью концентрации эндогенных РНКаз для полной деградации мРНК.

В смывах с мясного фарша заражённого *E. coli* во всех исследованных разведениях с добавлением экзогенной РНКазы А уже через 1 час инкубации при комнатной температуре мРНК гена uidA не обнаруживалась (табл. 2, 3, 4). При этом сразу после облучения мРНК детектировалась во всех исследованных образцах, включая смывы с заражённого *E. coli* мясного фарша, подвергшегося γ-облучению дозой 6 кГр. Полученные данные свидетельствуют о сохранении ферментативной активности РНКазы А после воздействия γ-излучения во всех исследованных дозах, включая 6 кГр. При воздействии летальной для *E. coli* дозы γ-облучения в 1,5 кГр, уже после 60 минут экспозиции при комнатной температуре мРНК *E. coli* не детектируется вне зависимости от степени исходного заражения мясного фарша.

В смывах с фарша, заражённого *E. coli* плотностью $5x10^2$ КОЕ/мл без добавления экзогенной РНКазы А, сигнал детекции мРНК отсутствует при всех летальных для *E. coli* дозах через 1 час инкубации при комнатной температуре после облучения (табл. 4). В смывах с фарша, заражённого *E. coli* плотностью 5×10^4 КОЕ/мл без добавления экзогенной РНКазы А, сигнал детекции мРНК отсутствует во всех летальных для *E. coli* дозах через 2 часа инкубации при комнатной температуре после облучения (табл. 3). В то время, как в смывах с фарша, заражённого *E. coli* плотностью 5×10^6 КОЕ/мл без добавления экзогенной РНКазы А, сигнал детекции мРНК отсутствует только через 3 часа в образцах, получивших дозу 6 кГр (табл. 2). Полученные результаты свидетельствуют о сохранении ферментативной активности эндогенных РНКаз во всём диапазоне исследованных доз. Наблюдаемое при этом понижение порога детекции со снижением плотности заражения, по всей видимости, связано с изменением соотношения концентрации РНКаз, присутствующих в мясном фарше, с концентрацией *E. coli*.

Полученные данные будут использованы при разработке молекулярно-биологической методики оценки микробиологической обсемененности продуктов питания и сельскохозяйственной продукции.

Литература

1. http://www.un.org/russian/news/story.asp?NewsID=17348

2. ГОСТ ISO 7218-2011 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям. М.: Стандартинформ, 2013

3. *Bartlett J. M. S., Stirling, D.* A Short History of the Polymerase Chain Reaction // PCR Protocols. Methods in Molecular Biology. 2003. V. 226 (2nd ed.). pp. 3–6.

4. *Carr A.C., Moore S.D.* Robust quantification of polymerase chain reactions using global fitting. // PLoS ONE. 2012. 7 (5): e37640.

5. *Cai H., Caswell J. L., Prescott J. F.* Nonculture Molecular Techniques for Diagnosis of Bacterial Disease in Animals: A Diagnostic Laboratory Perspective // Veterinary Pathology. 2014. 51 (2): 341–350.

6. *Alberts B., Johnson A., Lewis J. et al.* Molecular Biology of the Cell (6th ed.). 2014.

7. *Houseley J., Tollervey D.* The many pathways of RNA degradation // Cell. 2009 Feb 20; 136(4):763-76.

8. *Michael B. S., Anita B. R.* Peptide Growth Factors and Their Receptors II // Springer Science & Business Media. 2012. p. 556.

9. *Raghavan V.* Developmental Biology of Flowering Plants // Springer Science & Business Media. 2012. p. 237.

10. *Luhtala N., Parker R.* T2 Family ribonucleases: Ancient enzymes with diverse roles // Trends in Biochemical Sciences. 2010. 35 (5): 253–259.

11. *Harder J.* RNase 7, a Novel Innate Immune Defense Antimicrobial Protein of Healthy Human Skin. // Journal of Biological Chemistry. 2002. 277 (48): 46779–46784.

12. Hein I., Klein D., Lehner A. *et al.* Detection and quantification of the iap gene of Listeria monocytogenes and Listeria innocua by a new real-time quantitative PCR assay // Res. Microbiol. 2001. 152 (1). 37–46.

13. *O'Grady J., Ruttledge M., Sedano-Balbas S. et al.* Rapid detection of Listeria monocytogenes in food using culture enrichment combined with real-time PCR, Food Microbiol. 2009. 26 (1). 4–7.

Заседание Научного совета секции земледелия, мелиорации, водного и лесного хозяйства Отделения сельскохозяйственных наук РАН по направлению «Радиология и агроэкология» (26 апреля 2019 г., г. Обнинск)

Шубина О.А., Санжарова С.И.

26 апреля 2019 г. В ФГБНУ ВНИИРАЭ состоялось заседание Научного совета секции земледелия, мелиорации, водного и лесного хозяйства Отделения сельскохозяйственных наук РАН по направлению «Радиология и агроэкология».

В работе Научного совета приняло участие более 30 специалистов в области радиоэкологии.

Заседание открыла директор ФГБНУ ВНИИРАЭ чл.-корр. РАН Санжарова Н.И.

В рабочей программе Научного совета было запланировано два доклада. Доклад на тему «Радиоэкологическая оценка современного состояния сельскохозяйственных земель и продукции юго-западных районов Брянской области, загрязненных радионуклидами в результате аварии на Чернобыльской АЭС» представили Панов Алексей Валерьевич – д.б.н., проф. РАН, зам. директора ФГБНУ ВНИИРАЭ по научно-организационной и инновационной деятельности, и Прудников Петр Витальевич – д.с.-х.н., директор ФГБУ «Брянскагрохимрадиология».

В докладе отмечено, что по состоянию на 2018 г. площадь сельскохозяйственных угодий юго-западных районов Брянской области с плотностью загрязнения ^{137}Cs свыше 37 кБк/м^2 составила 244,8 тыс. га. На 21,4 тыс. га (8 % сельскохозяйственных угодий рассматриваемых районов) уровни загрязнения ^{137}Cs не превышают 37 кБк/м^2, и их можно отнести к категории «чистых». В настоящее время в юго-западных районах Брянской области животноводство ведется в 43 % сельскохозяйственных предприятий. Общая численность крупного рогатого скота (КРС) составляет 13,5 тыс. голов. Наибольшее поголовье отмечено в Клинцовском районе (5,5 тыс. голов), а наименьшее в Злынковском районе (0,7 тыс. голов). Площадь сельскохозяйственных угодий, на которых сохраняется потребность в проведении реабилитационных мероприятий для производства продукции растениеводства, кормопроизводства и животноводства составляет 75 тыс. га. Для КРС, выпасающегося на лугопастбищных угодьях с высокими уровнями загрязнения ^{137}Cs, необходимо применение ферроцинсодержащих препаратов в объемах 10,5 т/год. В юго-западных районах Брянской области для обеспечения производства молока, соответствующего нормативу, ежемесячно с апреля по ноябрь необходимо применять сорбенты, связывающие ^{137}Cs, для 0,5–2,7 тыс. гол. коров, а для производства нормативно «чистого» мяса для 2,3–6,0 тыс. гол. скота.

По прошествии более 30 лет после аварии на ЧАЭС выделяется заключительный этап (поставарийный период) ликвидации ее последствий. Задачами этого этапа являются:

– исключение дополнительных дозовых нагрузок на население сверх установленных законодательством пределов (1 мЗв/год);

– исключение превышения предельно допустимых концентраций радионуклидов в сельскохозяйственной продукции, продуктах питания и других объектах природной среды;

– достижение социального статуса территорий, подвергшихся воздействию аварии

сравнимого с аналогичным статусом прилегающих территорий вне зоны аварии по основным показателям (экономическим, социальным, психологическим и др.).

Основные задачи реабилитации в настоящее время:

1. Радиационная реабилитация территорий и проживающего населения.

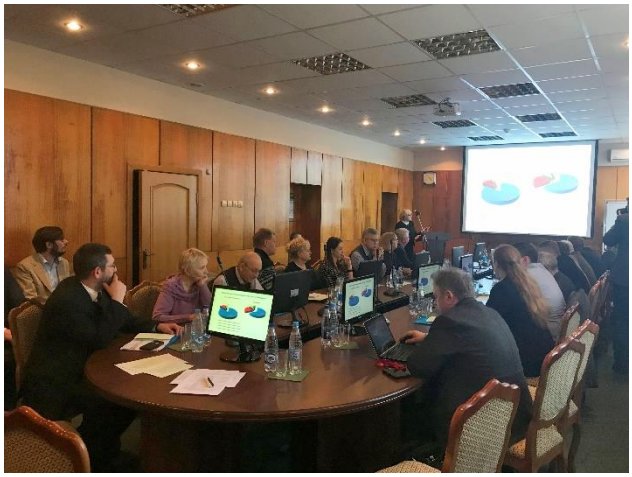
2. Улучшение социальной инфраструктуры на территориях с повышенными уровнями радиоактивного загрязнения и в местах проживания граждан путем развития сельского, лесного хозяйства и различных отраслей промышленности.

С докладом «Системы реагирования в АПК в случае аварии на радиационно-опасных объектах: радиобиологические и радиоэкологические последствия» выступила Санжарова Наталья Ивановна – д.б.н., проф., чл.-корр. РАН, директор ФГБНУ ВНИИРАЭ.

В докладе представлена сравнительная характеристика аварийных ситуаций и защитных мер в сельском хозяйстве после аварии на ЧАЭС и АЭС Фукусима. Отмечено, что сельское хозяйство наиболее уязвимо в случае любых крупных аварий. Дан анализ государственной системы предупреждения и ликвидации чрезвычайных ситуаций РФ (РСЧС). Информационное взаимодействие осуществляется с информационными и кризисными центрами других отраслевых систем реагирования: Министерство ГО и ЧС; аварийный медицинский радиационно-дозиметрический центр ФМБА России; центр научно-технической поддержки ИБРАЭ РАН; Федеральный информационно-аналитический центр Росгидромета; дежурно-диспетчерские службы других федеральных органов исполнительной власти – АгроЧС. В то же время отсутствует национальная политика и система в области аварийного реагирования в АПК. Не создан кризисный центр Минсельхоза, отсутствует система оперативного аварийного реагирования, в т.ч. региональные службы реагирования и система радиационного контроля с необходимым аппаратурным обеспечением. В настоящее время нет утвержденных документов, регламентирующих аварийное реагирование в сфере сельского хозяйства в случае возможных ядерных аварий и инцидентов.

Обсуждение показало, что спустя 33 года после аварии на ЧАЭС нерешенными в полном объеме остаются вопросы обеспечения радиационной безопасности населения и производства продукции в юго-западных районах Брянской области, где на локальных территориях с высокими уровнями загрязнения необходимо применение социально приемлемых реабилитационных мероприятий и сохранение временных ограничений на использование местных природных ресурсов (дары леса, дичь и т.д.).

Важной стратегической задачей является создание национальной системы аварийного реагирования в АПК.



Международная молодежная конференция «Современные проблемы радиобиологии, радиоэкологии и агроэкологии»

Санжарова С.И., Шубина О.А.

3–4 октября 2019 г. в ФГБНУ ВНИИРАЭ была проведена Международная молодежная конференция «Современные проблемы радиобиологии, радиоэкологии и агроэкологии» при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Научного совета секции земледелия, мелиорации, водного и лесного хозяйства Отделения сельскохозяйственных наук Российской академии наук по направлению «Радиология и агроэкология».

Основная цель конференции – обсуждение актуальных вопросов, обобщение, интеграция и систематизация теоретических и практических знаний в области радиационной биологии, радиоэкологии и агроэкологии.

Молодежная конференция – это площадка для обмена опытом, повышения квалификации молодых ученых, освещения современных подходов к проведению научных исследований, критического анализа полученных результатов и оценки перспектив развития радиационной биологии, радиоэкологии и агроэкологии.

В работе конференции приняли участие более 200 молодых ученых и специалистов из России, Беларуси, Казахстана, Азербайджана, Узбекистана, Вьетнама. Были представлены: более 50 научных институтов и центров Российской академии наук и ведущих образовательных учреждений России.

Конференция проводилась в формате пленарных и секционных заседаний, стендовых сессий.

С пленарными докладами выступили:

– Козьмин Г.В. *(ФГБНУ ВНИИРАЭ)* «Ядерное наследие. Радиационное воздействие на природные и аграрные экосистемы»;

– Волкова П.Ю. *(ФГБНУ ВНИИРАЭ)* «ОМИКС-технологии в радиобиологии растений»;

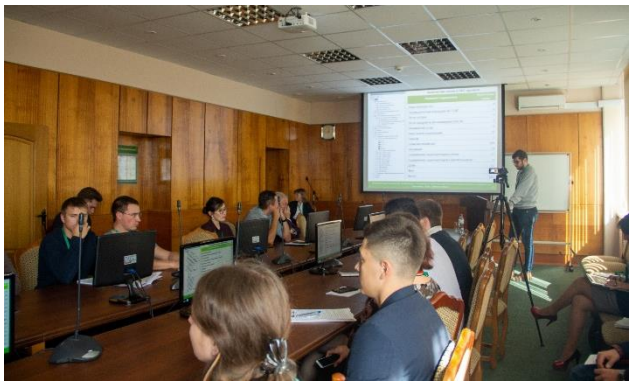
– Кобялко В.О. *(ФГБНУ ВНИИРАЭ)* «Радиационные технологии обработки сельскохозяйственной и пищевой продукции: актуальные направления научных исследований»;

– Анисимов В.С. *(ФГБНУ ВНИИРАЭ)* «Закономерности корневого поглощения тяжелых металлов растениями».

Обсуждение широкого круга вопросов по темам конференции происходило на заседаниях секций:

1. *Радиационная биология.* В рамках работы секции рассматривались вопросы радиационной биохимии, молекулярно-клеточной радиобиологии и радиационной генетики, радиобиологии растений и животных, исследования ионизирующих и неионизирующих излучений.

2. *Математическое моделирование, цифровые технологии.* На секции обсуждались перспективы применения современных цифровых технологий и методов математического моделирования для решения задач радиационной биологии, радиоэкологии и агроэкологии.



3. *Ядерно-физические исследования и технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности.* На секции были представлены доклады, которые были посвящены вопросам применения радиационных технологий в сельском хозяйстве и пищевой промышленности, использованию новых плазменных технологий в агропромышленном производстве.

4. *Агроэкология. Техногенное и агрогенное загрязнение почв.* Участники секции представили материалы, включающие вопросы почвенного плодородия, техногенного загрязнения почв, миграции тяжелых металлов по сельскохозяйственным цепочкам, применения технологий, направленных на снижение содержания поллютантов в сельскохозяйственной продукции и т.д.

5. *Радиоэкология.* На секции обсуждались вопросы миграции радионуклидов в природных и аграрных экосистемах, мониторинг радиационно-опасных объектов и оценка рисков, проблемы реабилитации радиоактивно загрязненных территорий и т.д.

Всего было представлено 55 устных, 16 стендовых и 43 заочных доклада.

Лучшие доклады в каждой секции были отмечены дипломами и памятными подарками.

Участники обменялись опытом, новыми формами и методами в области радиобиологических и экологических исследований и природоохранной деятельности. Одним из важных результатов конференции стало установление творческих контактов и продолжение сотрудничества.

Для участников конференции был организован Турнир по боулингу на Кубок ФГБНУ ВНИИРАЭ.

XLVIII международные радиоэкологические чтения, посвященные действительному члену ВАСХНИЛ В.М. Клечковскому

Санжарова С.И., Пронина О.Э.

28 ноября 2019 г. в ФГБНУ ВНИИРАЭ состоялись очередные XLVIII Международные радиоэкологические чтения, посвященные действительному члену ВАСХНИЛ В.М. Клечковскому.

Организационным комитетом было принято решение XLVIII Международные радиоэкологические чтения посвятить памяти первого директора института, видного ученого в области сельскохозяйственной радиологии, радиоэкологии и кормопроизводства, академика Российской академии наук Корнеева Николая Андреевича. Тема Чтений: «Радиоэкология луговых экосистем» непосредственно связана с его научными исследованиями.

Перед началом Чтений состоялось открытие мемориальной доски академику РАН Н.А. Корнееву. У входа собрались сотрудники института, почетные гости, члены семьи Николая Андреевича. На торжественном мероприятии выступили директор ФГБНУ ВНИИРАЭ Санжарова Наталья Ивановна, заместитель главы Администрации города Обнинска по вопросам экономического развития Ананьев Геннадий Евгеньевич, руководитель музейного клуба ГНЦ РФ ФЭИ им. А.И. Лейпунского Гайдин Михаил Михайлович, бывший сотрудник ВНИИРАЭ Цыцын Александр Иванович.

В работе Чтений приняли участие более 100 ученых и специалистов из различных научных организаций России и стран СНГ.

Были представлены доклады:

«Н.А. Корнеев – первый директор Всесоюзного научно-исследовательского института сельскохозяйственной радиологии – биография как отражение эпохи» (*к.б.н*

Козьмина Д.Н., ФГБНУ ВНИИРАЭ, Обнинск, Россия);

«Радиоэкология луговых экосистем: теоретические и прикладные аспекты» *(д.б.н., чл.-корр. РАН Санжарова Н.И., ФГБНУ ВНИИРАЭ, Обнинск, Россия).*

Участники конференции Козьмин Г.В. *(ФГБНУ ВНИИРАЭ, Обнинск, Россия),* Бударков В.А. *(ФИЦ вирусологии и микробиологии, г. Покров),* Гайдин М.М. (*ГНЦ РФ ФЭИ им. А.И. Лейпунского, г. Обнинск*) поделились воспоминаниями об академике Корнееве Н.А., совместных работах, встречах и памятных событиях, связанных с ним. Д.Н. Курбаков в своем выступлении от имени Совета молодых ученых ВНИИРАЭ отметил роль Корнеева и его рассказов о радиоэкологических исследованиях в зонах радиационных аварий в становлении молодых ученых-радиоэкологов.

К радиоэкологическим чтениям приурочен V Международный конкурс научных работ в области радиоэкологии им. В.М. Клечковского с целью повышения творческой активности ученых, развития научной деятельности молодых ученых и специалистов, координации исследований и пропаганды достижений в странах СНГ. Конкурс был организован по согласованию и при поддержке Российской академии наук и Минобрнауки России, поддержан Ядерным обществом России, Международным союзом радиоэкологии и посвящен академику ВАСХНИЛ В.М. Клечковскому.

Всего на Конкурс поступило 12 заявок от ученых России и Беларуси: монографии, учебные пособия, рекомендации и научные статьи, опубликованные в 2017 – 2019 гг.

Содержание конкурсных работ выполнено в соответствии с тематикой конкурса в широком диапазоне исследований, таких как: эффективность применения защитных мероприятий на сельскохозяйственных землях в условиях радиоактивного загрязнения, природные источники ионизирующего излучения, разработка дозиметрических моделей облучения биоты при аварийных и хронических выпадениях, радиоэкологический мониторинг, прогнозирование и оценка дозовых нагрузок на компоненты окружающей среды и население в случае аварийных выбросов АЭС, исследования воздействия ионизирующего излучения на микробиологические, биохимические и органолептические показатели пищевой продукции, экологические проблемы развития ядерной энергетики, учебные пособия по радиоэкологическим и радиобиологическим дисциплинам.

Экспертный совет конкурса, рассмотрев поданные заявки, определил победителей и призеров Конкурса.

Номинация «Индивидуальная работа»:

1 место, диплом лауреата и золотая медаль – Спиридонов Сергей Иннокентьевич за цикл статей «Экологические проблемы развития ядерной энергетики» (ФГБНУ ВНИИРАЭ, Обнинск);

2 место, диплом лауреата и серебряная медаль – Смагин Андрей Иванович за серию учебных пособий (ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет)», Челябинск).

Номинация «Коллективная работа»:

1 место, диплом лауреата и золотая медаль – коллектив авторов: Романович Иван Константинович, Стамат Иван Павлович,

Кормановская Татьяна Анатольевна, Кононенко Дмитрий Викторович – за монографию «Природные источники ионизирующего излучения: дозы облучения, радиационные риски, профилактические мероприятия» («Санкт-Петербургский НИИ радиационной гигиены имени профессора П.В. Рамзаева», Санкт-Петербург);

2 место, диплом лауреата и серебряная медаль – коллектив авторов: Переволоцкий Александр Николаевич, Переволоцкая Татьяна Витальевна – за серию статей и разработок программных средств «Разработка дозиметрических моделей облучения биоты при аварийных и хронических выпадениях» (ФГБНУ ВНИИРАЭ, Обнинск);

3 место, диплом лауреата и бронзовая медаль – коллектив авторов: Белоус Николай Максимович, Шаповалов Виктор Федорович, Смольский Евгений Владимирович – за серию статей «Эффективность применения защитных мероприятий на сельскохозяйственных землях в условиях радиоактивного загрязнения» (ФГБОУ ВО Брянский государственный аграрный университет, Брянская обл., с. Кокино).

Номинация «Научная работа специалистов в возрасте до 35 лет»:

1 место, диплом лауреата и золотая медаль – Студеникин Феликс Рикардович, Ипатова Виктория Сергеевна за серию статей «Исследования воздействия ионизирующего излучения на микробиологические, биохимические и органолептические показатели пищевой продукции» (Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, физический факультет, Москва);

2 место, диплом лауреата и серебряная медаль – Дворник Александр Александрович за серию статей «Гармонизация подходов обеспечения готовности и реагирования на чрезвычайные ситуации в зонах радиационного загрязнения» (ГНУ «Институт радиобиологии НАН Беларуси», Гомель);

3 место, диплом лауреата и бронзовая медаль – Микаилова Рена Александровна за серию статей «Прогнозирование и оценка дозовых нагрузок на компоненты окружающей среды и население в случае аварийных выбросов АЭС» (ФГБНУ ВНИИРАЭ, Обнинск).

После подведения итогов конкурса были заслушаны краткие выступления лауреатов.

Об открытии мемориальной доски академику РАН Алексахину Рудольфу Михайловичу

Шубина О.А., Санжарова С.И.

13 декабря состоялось открытие мемориальной доски Алексахину Рудольфу Михайловичу, академику РАН, участнику ликвидации последствий аварии на Южном Урале и на Чернобыльской АЭС, лауреату Государственной премии СССР, лауреату Государственной премии РФ, заслуженному деятелю науки России.

С 1975 г. Р.М. Алексахин трудился во ВНИИРАЭ, из них 26 лет (1989–2015 гг.) – в должности директора института, а с 2015 г. – в должности научного руководителя. С именем Р.М. Алексахина связано решение важных государственных проблем по обеспечению экологической безопасности предприятий ядерного топливного цикла.

В торжественной церемонии приняли участие коллеги, ученики и близкие Р.М. Алексахина. На открытии выступили директор ФГБНУ ВНИИРАЭ Наталья Ивановна Санжарова, заместитель директора по научно-организационной и инновационной деятельности ФГБНУ ВНИИРАЭ Алексей Валерьевич Панов, заместитель академика-секретаря Отделения сельскохозяйственных наук РАН Алексей Анатольевич Завалин, начальник отдела инновационного развития, международного сотрудничества, поддержки и развития малого и среднего предпринимательства г. Обнинска Валентина Павловна Зинченко, директор ФГБНУ ФИЦ «Немчиновка» Сергей Иванович Воронов, главный научный сотрудник НПО «Тайфун» Иван Иванович Крышев, супруга Рудольфа Михайловича Татьяна Ивановна Алексахина.

Алексахин
Рудольф
Михайлович
1936 - 2018
Директор института (1989-2015)
Академик РАН
Лауреат Государственных премий
СССР и Российской Федерации
Ветеран атомной отрасли

Программу мероприятия продолжили воспоминания коллег и друзей о совместных работах, встречах и событиях, связанных с Р.М. Алексахиным.

ИНФОРМАЦИЯ

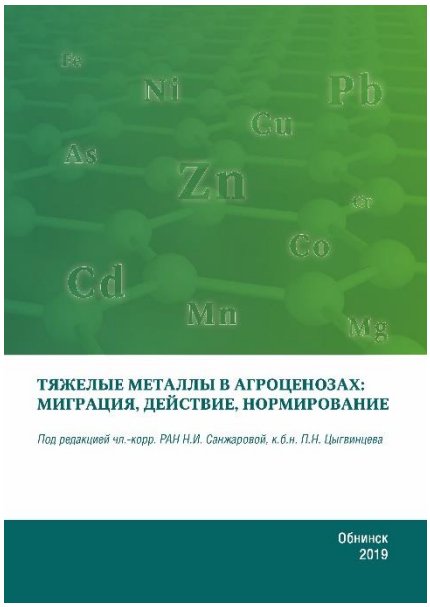
В 2019 г. опубликована монография «Тяжелые металлы в агроценозах: миграция, действие, нормирование / Под ред. чл.-корр. РАН Н.И. Санжаровой, к.б.н. П.Н. Цыгвинцева. Обнинск: ФГБНУ ВНИИРАЭ. – 2019. – 398 с.»

Н.И. Санжарова, П.Н. Цыгвинцев, В.С. Анисимов,
С.А. Гераськин, В.К. Кузнецов, Н.Н. Лой, Е.П. Пименов,
А.В. Панов, А.Н. Ратников, А.И. Санжаров, Л.И. Гончарова,
Д.Г. Свириденко, С.П.Арышева, Л.Н. Анисимова, А.В. Дикарев,
Г.И. Попова, Т.В. Переволоцкая, А.А. Суслов, Л.М. Фригидова,
Д.В. Васильев, Д.Н. Курбаков, С.И. Спиридонов

Под общей редакцией
чл.-корр. РАН Н.И. Санжаровой, к.б.н. П.Н. Цыгвинцева

Тяжелые металлы в агроценозах: миграция, действие, нормирование / Под ред. чл.-корр. РАН Н.И. Санжаровой, к.б.н. П.Н. Цыгвинцева. Обнинск: ФГБНУ ВНИИРАЭ. – 2019. – 398 с.

ISBN 978-5-903386-60-4



В монографии обобщены результаты цикла фундаментальных и прикладных исследований по изучению поведения тяжелых металлов (ТМ) в почвах и системе почва-сельскохозяйственные растения с учетом уровней загрязнения, свойств почв, физико-химических свойств ТМ, видов растений. Описаны ответные реакции компонентов агроценозов (микробоценоз, сельскохозяйственные растения) на различных уровнях организации от молекулярно-клеточного до ценотического на основании физиологических (включая продуктивность), цитогенетических и биохимических показателей. Рассмотрены подходы к развитию принципов экологического нормирования и оценки устойчивости компонентов агроэкосистем к техногенному воздействию. Представлены технологии реабилитации почв, загрязненных тяжелыми металлами.

Анонсы конференций:

50 1970-2020 лет

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии»

16-18 сентября 2020 г., Обнинск

«ЯДЕРНО-ФИЗИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И ТЕХНОЛОГИИ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ»

(к 50-летию со дня образования ФГБНУ ВНИИ радиологии и агроэкологии)

16-18 сентября 2020 г. Калужская обл. г. Обнинск ФГБНУ ВНИИРАЭ www.50.rirae.ru

Конференция проводится в рамках мероприятий, приуроченных к празднованию 50-летия образования Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии».

Целью конференции является обсуждение актуальных вопросов, обобщение, интеграция и систематизация теоретических и практических знаний в области радиобиологии, радиоэкологии, агроэкологии, применения ядерно-физических технологий в сельском хозяйстве и пищевой промышленности.

Задачи конференции:

– развитие интеллектуальных ресурсов и научной инфраструктуры в соответствии с задачами нацпроекта «Наука» (Указ Президента Российской Федерации от 7 мая 2018 года №204 «О национальных целях и стратегических задачах развития Российской Федерации на период до 2024 года»);

– обмен опытом и распространение новых форм и методов в области радиобиологических и экологических исследований и природоохранной деятельности;

– популяризация научных исследований в области радиационной биологии, радиоэкологии и агроэкологии;

– установление творческих контактов и сотрудничества.

Языки конференции – *русский, английский.*

Конференция пройдет в формате пленарных и секционных заседаний, стендовых сессий. Программа конференции будет определена Программным комитетом на основании представленных тезисов докладов.

III Международная молодежная конференция

«Современные проблемы радиобиологии, радиоэкологии и агроэкологии»

НАПРАВЛЕНИЯ РАБОТЫ КОНФЕРЕНЦИИ

- Радиационная биология:
  - молекулярно-клеточная радиобиология и радиационная генетика;
  - радиобиология растений и животных;
  - действие различных видов излучений на микроорганизмы, возбудителей болезней, насекомых-вредителей.
- Радиоэкология:
  - миграция радионуклидов в природных и аграрных экосистемах;
  - мониторинг радиационно-опасных объектов и оценка рисков;
  - проблемы реабилитации радиоактивно загрязненных территорий;
  - математическое моделирование, цифровые технологии для решения радиоэкологических задач.
- Агроэкология:
  - техногенное и агрогенное загрязнение почв;
  - агроэкологический мониторинг;
  - технологии реабилитации техногенно загрязненных сельскохозяйственных земель;
  - миграция тяжелых металлов и поллютантов в агроэкосистемах, математическое моделирование.
- Ядерно-физические технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности:
  - технические средства и установки для радиационной обработки продукции; опыт создания облучательских центров;
  - дозиметрия и радиационная безопасность, аппаратурно-методическое и программное обеспечение;
  - применение облучения при обработке различных видов сельскохозяйственной и пищевой продукции: безопасность и качество продукции;
  - проблемы нормирования: международные и национальные регламентирующие документы;
  - применение различных физических методов и комбинированных технологий для обработки сельскохозяйственной и пищевой продукции (неионизирующее излучение, плазменные технологии и др.).

Патенты на изобретения, полученные в 2019 году:

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2704492

СПОСОБ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАССОВОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ СОПОЛИМЕРА ПОЛИЭТИЛЕНКАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ АМИДА

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии" (RU)*

Авторы: *Грудина Наталья Владимировна (RU), Быданова Вера Васильевна (RU), Грудин Николай Семенович (RU)*

Заявка № 2019105502
Приоритет изобретения 27 февраля 2019 г.
Дата государственной регистрации в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 29 октября 2019 г.
Срок действия исключительного права на изобретение истекает 27 февраля 2039 г.

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2709737

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЙ ОРГАНО-МИНЕРАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС И СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии" (ФГБНУ ВНИИРАЭ) (RU)*

Авторы: *Санжарова Наталья Ивановна (RU), Петров Константин Владимирович (RU), Ратников Александр Николаевич (RU), Свириденко Дмитрий Георгиевич (RU), Суслов Алексей Афанасьевич (RU), Иванов Игорь Анатольевич (RU), Иванкин Николай Геннадьевич (RU)*

Заявка № 2019103138
Приоритет изобретения 04 февраля 2019 г.
Дата государственной регистрации в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 19 декабря 2019 г.
Срок действия исключительного права на изобретение истекает 04 февраля 2039 г.

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2710153

Способ получения органоминерального комплексного удобрения

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии (RU)*

Авторы: *Ратников Александр Николаевич (RU), Петров Константин Владимирович (RU), Свириденко Дмитрий Георгиевич (RU), Иванкин Николай Геннадьевич (RU)*

Заявка № 2018139172
Приоритет изобретения 07 ноября 2018 г.
Дата государственной регистрации в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 24 декабря 2019 г.
Срок действия исключительного права на изобретение истекает 07 ноября 2038 г.

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев

Труды ФГБНУ ВНИИРАЭ

Выпуск 2

Научное издание

Актуальные вопросы сельскохозяйственной радиобиологии

Под редакцией профессора С.А. Гераськина

ISBN 978-5-903386-61-1

9 785903 386611

Компьютерная верстка Шубина О.А.

Подписано в печать 18.12.2019 г.
Формат 60x90 1/8. Гарнитура PT Serif, Calibri
Усл. печ. л. 21,25. Тираж 350 экз. Заказ 48.

Издательство ФГБНУ ВНИИРАЭ
249032, г. Обнинск, Киевское шоссе, 109 км

Отпечатано в ООО "Компания "Оптима-арт"
249038, г. Обнинск, ул. Гурьянова, д.21, оф.116
+7 484 395-56-46, info.optibook@gmail.com
www.optibook.ru