

**РАСЧЕТ ПОЛУЛЕТАЛЬНОЙ ДОЗЫ ОБЛУЧЕНИЯ
НАЗЕМНОГО МОЛЛЮСКА FRUTICICOLA FRUTICUM
CALCULATION OF THE HALF-YEAR DOSE
OF THE TERRESTRIAL MOLLUSK FRUTICICOLA FRUTICUM**

***E. E. Черкасова¹, Г. В. Лаврентьева^{1,2}, Б. И. Сынзыныс¹
E. E. Cherkasova¹, G. V. Lavrentyeva^{1,2}, B. I. Synzynys¹***

¹*Обнинский институт атомной энергетики – филиал ФГУАОУ ВПО «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», г. Обнинск, Россия*

²*Калужский филиал МГТУ им. Н.Э. Баумана, г. Калуга, Россия
caterinacherkasova@yandex.ru*

¹*Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering of the National Research Nuclear University “MEPhI”,
Obninsk, Russia*

²*Bauman Moscow State Technical University (Kaluga Branch), Kaluga, Russia*

Экоцентрическая стратегия радиационной защиты предполагает расширение экспериментальных баз радиационно-индуцированных эффектов у представителей биоты. В данной работе представлены расчетные значения ЛД_{50/60} для наземного моллюска *F. fruticum* после острого облучения. Для проведения лабораторного эксперимента были подобраны условия содержания животных, приближенные к естественной среде обитания. При этом смертность моллюсков в контрольной группе оставалась на нулевом уровне в течение всего эксперимента. Расчетным методом пробит-анализа с применением метода наименьших квадратов был определен показатель ЛД_{50/60} для моллюска *F. fruticum* разных возрастных групп. На основании расчетов показатель ЛД 50/60 для трех возрастных групп наземного моллюска: 118,7 ± 62,2 Гр, 115,6 ± 33,9 Гр и 141,4 ± 26,3 Гр для первой, второй и третьей возрастной группы, соответственно.

The ecocentric strategy of radiation protection involves the expansion of experimental bases of radiation-induced effects in representatives of biota. This paper presents the calculated values of LD_{50/60} for the terrestrial mollusk *F. fruticum* after acute irradiation. To conduct a laboratory experiment, the conditions for keeping animals close to their natural habitat were selected. At the same time the mortality of mollusks in the control group remained at zero during the entire experiment. The calculated method of probit analysis using the least squares method was used to determine the LD_{50/60} index for *F. fruticum* mollusk of different age groups. Based on calculations, the LD index is 50/60 for three age groups of land mollusks: 118.7 ± 62.2 Gy, 115.6 ± 33.9 Gy and 141.4 ± 26.3 Gy for the first, second and third age groups, respectively.

Ключевые слова: экоцентрическая концепция, референтный вид, наземный моллюск, γ-облучение, ЛД_{50/60}, смертность, лабораторный эксперимент, метод пробит-анализа.

Keywords: ecocentric concept, reference species, terrestrial mollusk, γ-irradiation, LD_{50/60}, mortality, laboratory experiment, probit analysis method.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2022-1-325-328>

В настоящее время всё большую актуальность приобретает экоцентрический принцип нормирования радиационного фактора, который основан на предложенной МКРЗ концепции. Вышеуказанная концепция, предложенная в Публикации МКРЗ [1], основана на оценке радиоэкологической ситуации с учетом релевантных эффектов у «уловных (референтных) животных и растений (RAPs – reference animals and plants). Ввиду того, что предложенный Комиссией список RAPs не является окончательным и требует расширения, необходимо научное обоснование других референтных видов посредством экспериментальных исследований. Одним из основных требований к референтным видам является создание экспериментального базиса радиационно-индуцированных эффектов у референтных видов.

Моллюски давно признаны удобным инструментом биоиндикации при загрязнении окружающей среды благодаря высоким коэффициентам накопления тяжелых металлов и радионуклидов, широкой распространенности, простоте идентификации, короткому жизненному циклу. Выполнено немало исследований на водных моллюсках, обитающих в водоемах, подвергшихся радиоактивному загрязнению. При этом изучению наземных представителей отводится меньше внимания.

Моллюски являются одними из самых радиорезистентных организмов в водных экосистемах. Значения ЛД₅₀ для моллюсков находится в диапазоне от 20 до 200 Гр [2] доза острого облучения ЛД₅₀ моллюсков составляет 500 Гр. Полулетальная доза облучения для взрослых особей моллюсков прудовиков составляет 120 Гр [3]. В данной работе представлены значения ЛД_{50/60} для наземного моллюска *Fr. fruticum* трех возрастных групп после острого гамма облучения.

Объектом исследований является наземный моллюск *F. fruticum* (улитка кустарниковая). Пробоотбор моллюсков осуществлялся вдали от населенных пунктов, автодорог и предприятий. Всего было отобрано более 1000 особей без видимых внешних повреждений раковины. Для исследований были выбраны моллюски трех возрастных групп. Возраст моллюсков определялся по количеству оборотов раковины [4]. После пробоотбора моллюски содержались в пластиковых контейнерах с настилем из кокосового субстрата. Перед облучением моллюски находились в лаборатории для адаптации к новым условиям обитания. Облучение моллюсков осуществлялось на γ -установке ГУР – 120 в диапазоне доз от 10 до 300 Гр с шагом 10 Гр.

Для расчета $LD_{50/60}$ был выбран расчетный способ пробит-анализа с применением метода наименьших квадратов [5].

Для расчета $LD_{50/60}$ изначально строится линия регрессии по методу наименьших квадратов с использованием данных эксперимента. При этом используется прямолинейная зависимость, представленная не в общей форме ($y = a + bx$), а в следующей: $y' = a + b \lg D$, где y' – это пробит (пробит определяется по таблице, в которой каждому проценту смертности соответствует определенное число (пробит)), а $\lg D$ – десятичный логарифм от дозы, полученной испытуемыми животными.

Из таблицы, представленной в пособии [5], следует, что:

– пробит $y' = 5$ соответствует гибели 50 % особей, т.е. дозе $D = LD_{50}$;

– пробит $y' = 4$ соответствует гибели 16 % особей, т.е. дозе $D = LD_{16}$;

– пробит $y' = 6$ соответствует гибели 84 % особей, т.е. дозе $D = LD_{84}$.

Подставив эти значения в уравнение, получаем (1–3):

$$LD_{50} = 10^{\frac{(5-a)}{b}}. \quad (1)$$

$$LD_{16} = 10^{\frac{(4-a)}{b}}. \quad (2)$$

$$LD_{84} = 10^{\frac{(6-a)}{b}}. \quad (3)$$

Для нахождения LD_{50} , LD_{16} , LD_{84} находят значение параметров a и b по формулам (4–5).

$$b = \frac{\sum k_i y'_i \lg D_i - \frac{\sum k_i \lg D_i \sum k_i y'_i}{\sum k_i}}{\sum k_i (\lg D_i)^2 - \frac{(\sum k_i \lg D_i)^2}{\sum k_i}}. \quad (4)$$

$$a = \frac{\sum k_i y'_i - b \sum k_i \lg D_i}{\sum k_i}. \quad (5)$$

где y'_i – пробит; $\lg D_i$ – десятичный логарифм от дозы, полученной испытуемыми животными; k_i – весовой коэффициент пробитов (табличное значение).

Для первой возрастной группы:

$$b = \frac{143,85 - \frac{(28,19 \times 68,09)}{13,56}}{60,11 - \frac{28,19^2}{13,56}} = 1,53. \quad (6)$$

$$a = \frac{68,09 - 1,53 \times 28,19}{13,56} = 1,84. \quad (7)$$

Для второй возрастной группы:

$$b = \frac{164,16 - \frac{(32,06 \times 77,46)}{15,41}}{68,72 - \frac{32,06^2}{15,41}} = 1,49. \quad (8)$$

$$a = \frac{77,46 - 1,49 \times 32,06}{15,41} = 1,92. \quad (9)$$

Для третьей возрастной группы:

$$b = \frac{135,56 - \frac{(26,99 \times 62,91)}{12,81}}{58,33 - \frac{26,99^2}{12,81}} = 2,08. \quad (10)$$

$$a = \frac{62,91 - 2,08 \times 26,99}{12,81} = 1,92. \quad (11)$$

Используя формулы (1–3), определяем LD_{50} , LD_{16} , LD_{84} .

Стандартная ошибка определяется по формуле, предложенной Миллером и Тейнтером:

$$m_{LD50} = \frac{LD_{84} - LD_{16}}{\sqrt{2N'}}, \quad (12)$$

где LD_{84} и LD_{16} – дозы, вызывающие гибель 84 % и 16 % животных; N' – общее исходное количество животных в тех группах, для которых значение пробитов находится в пределах от 3,5 до 6,5.

Затем для LD_{50} вычисляют значения верхней и нижней границы 95%-доверительного интервала по формулам:

$$LD_{50} = LD_{50} - t_{0,05} \times m_{LD50}, \quad (13)$$

$$ЛД_{50} = ЛД_{50} + t_{0,05} \times m_{ЛД_{50}}, \quad (14)$$

где $t_{0,05}$ – табличное значение t -распределения Стьюдента для уровня значимости $p=0,05$; $m_{ЛД_{50}}$ – стандартная ошибка полулетальной дозы.

Для первой возрастной группы:

$$ЛД_{50/60} = 10^{\frac{5-1,84}{1,53}} = 116,1 \text{ Гр.} \quad (15)$$

$$ЛД_{16/60} = 10^{\frac{4-1,84}{1,53}} = 25,8 \text{ Гр.} \quad (16)$$

$$ЛД_{84/60} = 10^{\frac{6-1,84}{1,53}} = 523,7 \text{ Гр.} \quad (17)$$

в) Расчет стандартной ошибки полулетальной дозы используем формулу 12

$$m_{ЛД_{50}} = \frac{523,7-25,8}{\sqrt{2} \times 100} = 35,2 \text{ Гр.} \quad (18)$$

г) Расчет доверительного интервала, используем формулы 13 и 14

Нижняя 95%-я доверительная граница:

$$ЛД_{50/60} = 116,1 - 1,94 \times 35,2 = 46,3 \text{ Гр.} \quad (19)$$

Верхняя 95%-я доверительная граница:

$$ЛД_{50/60} = 523,7 + 1,94 \times 35,2 = 185,98 \text{ Гр.} \quad (20)$$

Таким образом, показатель $ЛД_{50/60}$ для первой возрастной группы наземного моллюска *F.fruticum* равен $118,7 \pm 62,2$ Гр.

Для второй возрастной группы:

$$ЛД_{50/60} = 10^{\frac{5-1,92}{1,49}} = 115,7 \text{ Гр.} \quad (21)$$

$$ЛД_{16/60} = 10^{\frac{4-1,92}{1,49}} = 24,7 \text{ Гр.} \quad (22)$$

$$ЛД_{84/60} = 10^{\frac{6-1,92}{1,49}} = 541,6 \text{ Гр.} \quad (23)$$

в) Расчет стандартной ошибки полулетальной дозы используем формулу 12

$$m_{ЛД_{50}} = \frac{541,6-24,7}{\sqrt{2} \times 450} = 33,9 \text{ Гр.} \quad (24)$$

г) Расчет доверительного интервала, используем формулы 13 и 14

Нижняя 95%-я доверительная граница:

$$ЛД_{50/60} = 115,7 - 1,96 \times 17,23 = 149,5 \text{ Гр.} \quad (25)$$

Верхняя 95%-я доверительная граница:

$$ЛД_{50/60} = 115,7 + 17,23 \times 1,97 = 149,5 \text{ Гр.} \quad (26)$$

Таким образом, показатель $ЛД_{50/60}$ для первой возрастной группы наземного моллюска *F.fruticum* равен $115,7 \pm 33,9$ Гр.

Для второй возрастной группы:

$$ЛД_{50/60} = 10^{\frac{5-0,53}{2,08}} = 115,7 \text{ Гр.} \quad (27)$$

$$ЛД_{16/60} = 10^{\frac{4-0,52}{2,08}} = 46,7 \text{ Гр.} \quad (28)$$

$$ЛД_{84/60} = 10^{\frac{6-0,52}{2,08}} = 472,6 \text{ Гр.} \quad (29)$$

в) Расчет стандартной ошибки полулетальной дозы используем формулу 12

$$m_{ЛД_{50}} = \frac{472,6-46,7}{\sqrt{2} \times 405} = 13,4 \text{ Гр.} \quad (30)$$

г) Расчет доверительного интервала, используем формулы 13 и 14

Нижняя 95%-я доверительная граница:

$$ЛД_{50/60} = 141,4 - 1,97 \times 13,38 = 115,06 \text{ Гр.} \quad (31)$$

Верхняя 95%-я доверительная граница:

$$ЛД_{50/60} = 141,4 + 13,38 \times 1,97 = 167,9 \text{ Гр.} \quad (32)$$

Показатель $ЛД_{50/60}$ для третьей возрастной группы наземного моллюска *F.fruticum* равен $141,4 \pm 26,3$ Гр.

На основании данных эксперимента был определен показатель $ЛД_{50/60}$, т.е. доза облучения, при которой отмечается 50% смертности особей через 60 дней после облучения для трех возрастных групп моллюсков.

На основании расчетов установлен показатель $ЛД_{50/60}$ для трех возрастных групп наземного моллюска: $118,7 \pm 62,2$ Гр, $115,6 \pm 33,9$ Гр и $141,4 \pm 26,3$ Гр для первой, второй и третьей возрастной группы, соответственно.

На основании данных можно сделать вывод, что $ЛД_{50/60}$ для наземного моллюска *F. fruticum* варьирует от $115,6 \pm 33,9$ Гр до $141,4 \pm 26,3$ Гр. Третья возрастная группа является более радиостойчивой возрастной группой наземного моллюска *F. fruticum*.

ЛИТЕРАТУРА

1. ICRP Publication 108. Environmental Protection: the Concept and Use of Reference Animals and Plants. Annals of the ICRP, 2008. – 251 p.
2. Гудков И.Н., Кудяшева А.Г., Москалёв А.А. Радиобиология с основами радиоэкологии : учебное пособие / И.Н. Гудков, А.Г. Кудяшева, А.А. Москалёв. – Сыктывкар : Изд-во СыктГУ, 2015. – 512 с.
3. Гудков Д.И., Дзюбенко Е.В., Пинкина Т.В., Шевцова Н.Л., Четица Л.С., Назаров А.Б. Эффекты хронического и острого радиационного воздействия у пресноводного моллюска *Lymnaea stagnalis* L. Радиоэкология XXI века: материалы Международной научно-практической конференции, Красноярск, 14–16 мая 2012 года. – Красноярск: СФУ, 2012. – с. 246–253
4. Гребенников М.Е., Хохуткин И.М. Содержание тяжелых металлов в наземных моллюсках в районе Среднеуральского медеплавильного завод: материалы научно-практической конференции «Экологические основы стабильного развития Прикамья». Пермь, 2000. – С. 43.
5. Платонов А.Г. Применение метода пробит-анализа в радиобиологии. Расчет полулетальной дозы ЛД50: Учебно-методическое пособие / А.Г. Платонов, М.Я. Ахалая. – М.: НИЯУ МИФИ, –2010. – С. 36

ГЕНОМНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ У ПОТОМКОВ САМЦОВ *DROSOPHILA MELANOGASTER*, ОБЛУЧЕННЫХ γ -КВАНТАМИ Co^{60} GENOMIC CHANGES IN THE PROGENY OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* MALES IRRADIATED BY γ -RAYS

**К. П. Афанасьева¹, А. Н. Русакович¹,
Н. Е. Харченко¹, И. Д. Александров¹, М. В. Александрова¹
К. P. Afanasyeva¹, A. N. Rusakovich¹,
N. E. Kharchenko¹, I. D. Aleksandrov¹, M. V. Aleksandrova¹**

Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна, Россия
afanasyeva@jinr.ru

Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Russia

Представлены результаты секвенирования и биоинформационного анализа геномных изменений у 9 F1 потомков самцов изогенной линии *D. melanogaster*, облученных γ -квантами Co^{60} в дозе 40 Гр (LD_{85}) и 3 контрольных образцов. У 9 потомков от облученных самцов обнаружено всего 47 геномных изменений (32 достоверных и 15 мозаичных *de novo* мутаций), что равно частоте 5,2 мутации/геном. Спектр изменений включал 33 делеции размером 17-78000 п.н., 4 дупликации размером 322-1371 п.н., 4 реципрокные транслокации и 6 инверсий в X, 2 и 3 хромосомах. В 3 изученных контрольных образцах было обнаружено 2 делеции размером 98 и 128 п.н. в 3 хромосоме (частота – 0,66 мутаций/геном). Это показывает, что у потомков облученных самцов частота *de novo* мутаций на уровне генома в 7,9 раз выше, чем в контроле, даже без учета замен оснований и инделов, анализ которых продолжается. Почти половина выявленных структурных изменений генома затрагивают кодирующие гены. Таким образом, полученные результаты показывают, что геномное секвенирование нового поколения позволяет выявлять гораздо более широкий спектр мутаций любой величины. Это свидетельствует о гораздо более высокой генетической опасности редкоизирующей радиации, чем это предполагалось ранее.

The results of sequencing and bioinformatics analysis of genomic changes in 9 F1 progeny of males from the isogenic line *D. melanogaster* irradiated by Co^{60} γ -rays at a dose of 40 Gy (LD_{85}) and in 3 control samples are presented. In 9 progeny from irradiated males, a total of 46 genomic changes (32 significant and 15 mosaic *de novo* mutations) were found, which is equal to a frequency of 5.2 mutations/genome. The spectrum of changes included 33 deletions (17-78 000 bp in size), 4 duplications (322–1371 bp), 4 reciprocal translocations and 6 inversions in X, 2 and 3 chromosomes. In 3 studied control samples, 2 deletions (98 and 128 bp in length) were found in 3 chromosome (frequency – 0.66 mutations/genome). This shows that in the progeny of irradiated males, the frequency of *de novo* mutations at the genome level is 7.9 times higher than in the control, even without taking into account base substitutions and indels, the analysis of which is ongoing. Almost half of the identified structural changes in the genome affect coding genes. Thus, the results show that next-generation genome sequencing can detect a much wider range of mutations of any size. This indicates a much higher genetic hazard of sparsely ionizing radiation than previously thought.

Ключевые слова: геномное секвенирование нового поколения, γ -излучение, сперматозоид, F1 поколение, геномные мутации, *Drosophila*.