

地面辐照对卤虫卵发育的影响*

何建 周启玲 邢国仁

郑德存 苏瑞珍 陈去恶

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

摘要 为配合空间辐射生物学效应研究, 本文采用卤虫(*Artemia salina*)卵作材料, 在地面研究快中子和 γ 辐照对卤虫卵发育的影响。中子辐照剂量为10、50、100、200、400、600、800和1000 Gy, γ 辐照剂量为50、100、500、1000和2000 Gy。实验结果表明: (1) 电离辐射引起卤虫卵早期发育速度变慢; (2) 虫卵受辐照后, 冒出率和孵出率随剂量的增高而下降, 且随辐照后保存时间的延长, 效应继续加剧; (3) 受辐照虫卵孵出幼虫的死亡率高峰出现在孵出后的第2—5 d之间; 其 LD_{50} 在中子与 γ 射线之间的相对生物效应(RBE)为1.80(第3 d), 2.44(第4 d)和2.27(第5 d)。

关键词 卤虫卵, 快中子辐照, γ 辐照, 发育, 相对生物效应

卤虫卵是公认的空间生物学研究的好材料。国外工作者相当重视宇宙射线对卤虫卵发育影响的研究^[1,2], 并以地面辐照实验加以配合^[3]。宇宙射线是由质子、 α 粒子、 γ 射线和重离子等组成的。在飞船内的生物材料除受到一些直接透入射线的作用外, 还会受到次级辐射作用, 特别是次级的中子辐射作用^[3]。Iwasaki等^[4]和Gaubin等^[3]曾报道中子和 γ 辐照对卤虫卵的效应, 但卤虫卵的地面模拟辐射效应研究, 迄今在国内尚未见报道。

为研究空间飞行因素对生物的影响, 本文选用卤虫卵作材料, 完成两次返地式卫星搭载实验^[5,6], 并特地在地面进行快中子和 γ 射线辐照对卤虫早期发育及存活率影响的观察, 目的在配合分析空间飞行因素的生物学作用。本文报道地面辐照的一系列实验结果。

材料和 方法

用国产卤虫(*Artemia salina*)的干燥冬卵为材料。包装在扁圆形塑料凹槽中。辐射源为: 14 MeV加速器中子源(ZF 300型), 中子剂量用伴随粒子法测定; ^{60}Co γ 射线源, 剂量用英国Farmer辐射仪测定。卤虫卵接受中子辐照剂量为10、50、100、200、400、600、800和1000 Gy(剂量率1.0805 Gy/min), 接受的 γ 辐照剂量为50、100、500、1000和2000 Gy(剂量率27.1419 Gy/min)。

受中子和 γ 辐照的卤虫卵与对照组卵一起保存于4℃环境。观察时每组随机取卵200个, 浸入人工海水(pH=7)中进行孵化, 环境温度在26—28℃之间。参照Planel等^[2]的观察标准, 孵化到第18、24、48和72 h时, 在立体解剖镜下观察冒出(emergence)和孵出(hatching)部份。

幼虫及成虫的存活率观察是以孵出第1 d的幼虫100只, 一直观察到第19 d接近对照组全部自然死亡为止。

* 本研究经费来自中国和联邦德国合作专项基金。

实 验 结 果

1. 冒出率及孵出率

本实验中不受射线照射的对照组冒出百分率在 65.0—79.0% 之间, 孵出百分率在 55.0—75.0% 之间。受射线照后, 这两种百分率都下降。每次孵化观察后, 将并行孵化对照组所得的百分率定为基准 1.000, 与各受照组的百分率相比较, 换算出后者的各相对值。

卤虫卵受中子照后孵化的结果见图 1。冒出相对值: 照后第 1 d, 600 Gy 时为 0.838 ± 0.054 (标准误差, 下同), 与对照组数值间差异显著 ($P < 0.05$), 但照后第 165 d, 100 Gy 时为 0.854 ± 0.042 ($P < 0.01$), 即 100 Gy 就达到 600 Gy 照后第 1 天所达到的水平或略高; 同样, 对于孵出相对值来说, 照后第 165 d, 100 Gy 时的数值 0.866 ± 0.052 ($P < 0.05$), 就达到 800 Gy 时照后第 1 d 的水平 0.845 ± 0.064 ($P < 0.05$) 或略高。这就表明受中子辐照的卵在 4℃ 贮存过程中, 原来的辐射损伤向加重方面发展。

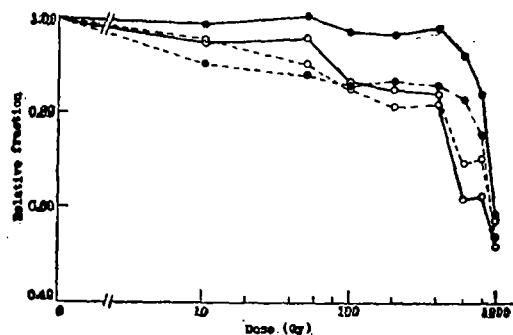


Fig 1. Decrease of total emergence and total hatching rates in early development of fast neutron irradiated *Artemia* eggs after 4℃ storage.

- (●—●) Emergence, after 1 day storage;
- (○—○) Emergence, after 165 day storage;
- (●—●) Hatching, after 1 day storage;
- (○—○) Hatching, after 165 day storage.

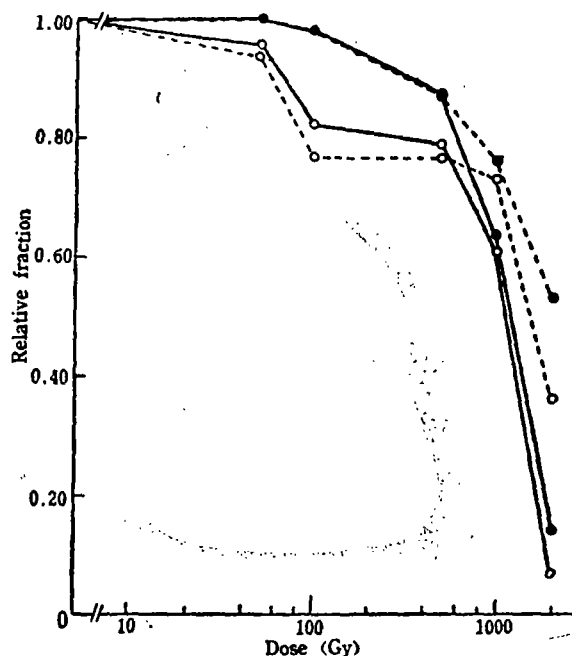


Fig 2. Decrease of total emergence and total hatching rates in early development of γ -ray irradiated *Artemia* eggs after 4℃ storage.

- (●—●) Emergence, after 1 day storage;
- (○—○) Emergence, after 150 day storage;
- (●—●) Hatching, after 1 day storage;
- (○—○) Hatching, after 150 day storage.

卤虫卵受 γ 射线照后孵化观察的结果见图 2。冒出相对值: 500 Gy 照后第 1 d 时为 0.870 ± 0.043 ($P < 0.05$), 但 100 Gy 照后第 150 d 时为 0.772 ± 0.044 ($P < 0.01$), 即 100 Gy 就达到 500 Gy 照后第 1 d 所达到的水平且更低; 同样, 对于孵出相对值来说, 100 Gy 照后第 150 d 时的数值 0.821 ± 0.053 ($P < 0.01$), 就达到 500 Gy 时照后第 1 d 的水平 0.868 ± 0.045 ($P < 0.05$) 或略低。由此表明受 γ 射线照后的卵在 4℃ 贮存过程中, 原来的损伤也向加重方面发展。

2. 早期发育速度

受中子和 γ 射线辐照的卵, 分别在照后第 165 d 和 150 d 进行孵化观察, 得到一定时间内的

冒出及孵出相对值(仍以并行孵化对照组的相应百分率为基准 1.000), 反映其早期发育速度, 如图 3 所示。本实验中受辐照的卵都出现早期发育速度减慢的现象。

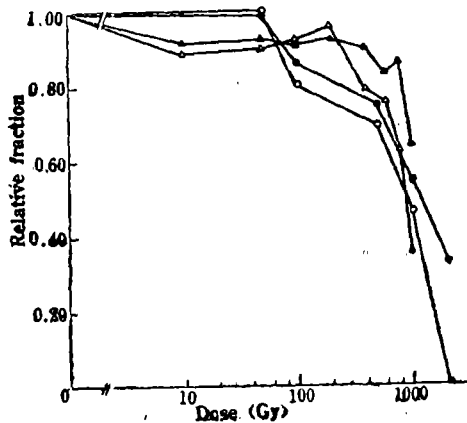


Fig 3. Effects of fast neutrons and γ -rays on the emergence and hatching in early development of *Artemia* eggs
(▲) Neutron irradiation, emergence in 18 h,
(△) Neutron irradiation, hatching in 24 h,
(●) γ -irradiation, emergence in 18 h,
(○) γ -irradiation, hatching in 24 h.

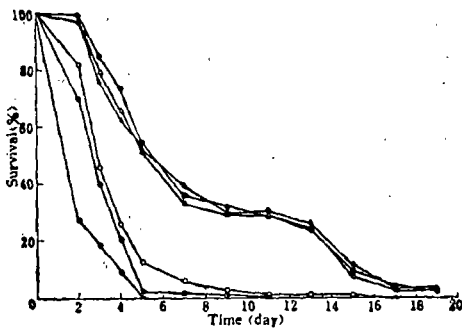


Fig 5. Survival curves of nauplii—adult hatched from *Artemia* eggs irradiated by various doses of γ -rays
(●) Control, (▲) 50 Gy,
(△) 100 Gy, (○) 500 Gy,
(⊕) 1000 Gy.

中子辐照的剂量由 10Gy 逐步增高到 1000 Gy, 虫卵在孵化 18 h 内的冒出相对值和 24 h 内的孵出相对值分别由 0.917 ± 0.078 和 0.890 ± 0.107 逐步下降到 0.644 ± 0.094 和 0.359 ± 0.105 ; 当中子剂量达到 400 Gy 时, 该二值(分别为 0.899 ± 0.082 和 0.792 ± 0.111)开始出现与对照组间的显著性差异($P < 0.05$)。

γ 辐照的剂量由 50 Gy 逐步增高到 2000 Gy, 虫卵在孵化 18 h 内的冒出相对值和 24 h 内的孵出相对值分别由 0.988 ± 0.078 和 1.023 ± 0.043 逐步下降到 0.330 ± 0.095 和 0; 当 γ 射线剂

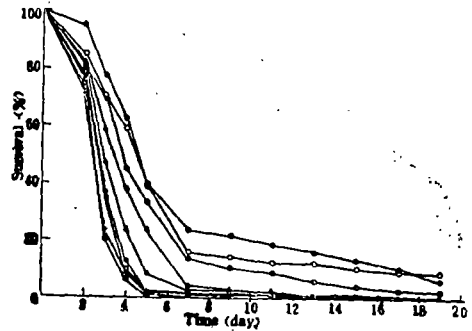


Fig 4. Survival curves of nauplii—adult hatched from *Artemia* eggs irradiated by various doses of neutrons
(●) Control, (○) 10 Gy,
(⊙) 50 Gy, (▲) 100 Gy,
(△) 200 Gy, (■) 400 Gy,
(□) 600 Gy, (+) 800 Gy,
(⊕) 1000 Gy.

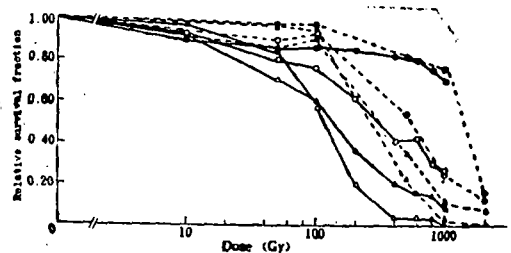


Fig 6. Survival curves of 2—5 day larvae hatched from *Artemia* eggs irradiated by various doses of fast neutrons or γ -rays
(●---●) 2 nd-day larvae, γ -irradiation,
(○---○) 3 rd-day larvae, γ -irradiation,
(▲---▲) 4 th-day larvae, γ -irradiation,
(△---△) 5 th-day larvae, γ -irradiation,
(●—●) 2 nd-day larvae, neutron-irradiation,
(○—○) 3 rd-day larvae, neutron-irradiation,
(▲—▲) 4 th-day larvae, neutron-irradiation,
(△—△) 5 th-day larvae, neutron-irradiation.

量达到 500 Gy 时, 该二值(分别为 0.749 ± 0.083 和 0.694 ± 0.110)才开始出现与对照组间的显著性差异($P < 0.05$)。

3. 受照虫卵孵出卤虫的存活率和寿命

受中子和 γ 射线照射的虫卵, 分别在照后第 165 d 和 150 d 进行孵化, 观察自孵出第 1 d 到第 19 d 之间的存活率变化情况。结果(见图 4、图 5)是: (1) 中子剂量自 10 Gy 起即使受照卵孵出卤虫的存活率下降, 与对照组间出现显著性差异的最低剂量: 中子为 50 Gy, γ 射线为 500 Gy。(2) 受照卵孵出卤虫的死亡高峰出现在孵出后的第 2—5 d 之间; 照射剂量越大, 所孵出卤虫的死亡高峰出现越早。(3) 在吸收剂量相同的情况下, 中子辐射效应高于 γ 射线(见图 6); 在孵出第 3、4 和 5 d 达到 LD_{50} 所需的剂量是: 中子分别为 300、131 和 115 Gy; γ 射线则分别为 540、320 和 261 Gy; 两种射线间的 RBE 分别为 1.80(第 3 d)、2.44(第 4 d)和 2.27(第 5 d)。(4) 受照卵孵出卤虫的平均寿命明显低于对照组。如以对照组卤虫的平均寿命作为 1.000, 则受照卵孵出卤虫的平均寿命: 10—1 000 Gy 中子照射组为 0.811 ± 0.031 — 0.468 ± 0.036 ; 50—2 000 Gy γ 射线照射组为 0.954 ± 0.036 — 0.286 ± 0.016 。

讨 论

本实验中, 卤虫卵在地面受 14 MeV 快中子或 ^{60}Co γ 射线照射, 表现出相当高的辐射抗性; 在所观察的数种指标中, 以受照卵孵出幼虫在 2—5 d 内的死亡率指标最为敏感, 但能引起显著效应的最低剂量仍然是: 快中子 50 Gy, γ 射线 500 Gy(见图 6), 如以 $1 \text{ eV} = 1.602 \times 10^{-12} \text{ erg}^{[7]}$ 计算, 50 Gy 14 MeV 快中子的总吸收粒子数应在 2.2×10^{10} 以上。国产卤虫卵数如每克以 2×10^5 计算, 则每卵平均可能分配到的中子数是相当可观的。而从一些国外资料获悉, 空间飞行中的卤虫卵只要被单个高能重粒子击中, 就可能导生活失活^[2]、冒出及孵出受抑, 或出现幼虫畸形^[9]。值得注意的是卤虫卵内不是单独一个合子细胞, 而是一个约含 4200 个细胞的囊胚^[10], 因此任何单个高能粒子的击中, 只能涉及其中少数细胞。空间粒子辐射对卤虫卵的生物学作用之所以如此有效, 除开空间辐射粒子本身的高原子序数原因(粒子的原子序数越高, 对卤虫卵的生物学效应越强^[10])外, 不能不考虑到空间飞行中其他因素(例如微重力作用)对辐射损伤可能的加强作用。本实验给人的总印象是, 卤虫卵在地面对粒子辐射的抗性远比在空间的高。

以前搭载于两颗我国卫星上飞行的卤虫卵材料, 所受到的总电离辐射剂量仅为 1.50 mGy 和 1.69 mGy, 所受到的粒子辐射也很少(约为 7—8 个/ cm^2), 但都已见到早期发育速度减慢^[5,6]。对此尚不能作出确切的解释, 卤虫卵受空间飞行因素作用后, 其与孵化和发育有关的酶活性、DNA 合成速度以及 DNA 损伤修复能力是否有何种改变, 尚待进一步研究。但两次回收的飞行卵在 4℃贮存过程中, 早期发育速度减慢的幅度都有逐步缩小的趋势, 这应该是表示损伤的恢复。而本地面实验中受快中子或 γ 射线照射的卵经 4℃贮存后, 则在冒出与孵出率指标(图 1 和 2)以及早期发育速度指标(图 3)上, 都表现出损伤加重, 这与空间飞行的表现不同。对于这种损伤继续加重的原因, Iwasaki 等^[11]曾试图以照后某些长寿命自由基的后续作用来解释; 从他们的实验中的确见到, 受 γ 射线照后的卤虫卵如贮存于干冰温度(自由基可被“约束”住), 则自由基含量及虫卵的孵出率都不下降, 如将照后虫卵贮存于 25℃(自由基可以活动), 则自由基含量及虫卵孵出率均连续下降; 因此这种解释很可能已道出主要的作用机制。

对为本工作提供照射条件的中国核工业部第三研究所和中国科学院生物物理所一室,以及提供有关数据的中国科学院高能物理所致谢。对在卤虫材料使用方面给予指导帮助的中国科学院海洋所 郑澄伟 副研究员表示悼念。

参 考 文 献

- [1] Y. Blaquet et al., in "Life Sciences and Space Research XV", R. Holmquist (ed.), Pergamon Press, Vol. 15, 1977, p. 165.
- [2] H. Planel, Y. Gaubin, R. Kaiser and B. Pianezzi, in "The Brine Shrimp *Artemia*, Vol. 1. Morphology, Genetics, Radiobiology, Toxicology", G. Personne, P. Sorgeloos, O. Roels and E. Jaspers (eds.), Universa Press, Wetteren, Belgium, 1980, p. 189.
- [3] Y. Gaubin, H. Planel, E. Kovalev, B. Pianezzi and J. C. Bes, in "The Brine Shrimp *Artemia*, Vol. 1. Morphology, Genetics, Radiobiology, Toxicology", Personne, P. Sorgeloos, O. Roels and E. Jaspers (eds.), Universa Press, Wetteren, Belgium, 1980, p. 171.
- [4] T. Iwasaki, T. Maruyama, Y. Kumamoto and Y. Kato, Radiat. Res., 45, 288(1971).
- [5] 何建,周启玲,邢国仁,郑德存,苏瑞珍,陈去恶,空间科学学报, 8, 209(1988).
- [6] 周启玲,何建,邢国仁,郑德存,苏瑞珍,陈去恶,空间科学学报, 9, 221(1989).
- [7] C. W. Shilling(ed.), "Atomic Energy Encyclopedia for the Life Science Report", Philadelphia, USA Pt. 25, 1964, p. 1.
- [8] 徐恭昭,郑澄伟,宋立清,国外水产, 3, 13(1979).
- [9] H. Büicker et al., in "Apollo 17 Preliminary Science Report", NASA Sp-315 Pt. 25, 1972, p.1.
- [10] E. H. Graul, W. Rüther and M. Schäfer, in "GSI Scientific Report 1986", U. Grundinger (ed.), 1987, p. 215.
- [11] T. Iwasaki, Int. J. Radiat. Biol., 9, 573 (1965).

(稿件收到日期: 1989年3月14日)

OBSERVATIONS ON DEVELOPMENT OF ARTEMIA EGGS IRRADIATED ON EARTH

He Jian, Zhou Qiling, Xing Guoren

Zheng Decun, Su Ruizhen and Chen Qu-e

(Institute of Biophysics, Academia Sinica, Beijing)

ABSTRACT For accompanying with space radiobiological studies, dry eggs of native *Artemia* were irradiated in the laboratory by 14 Mev fast neutrons and ^{60}Co γ -rays, and their development was then followed. Doses of the fast neutrons used were 10, 50, 100, 200, 400, 600, 800 and 1000 Gy, and those of γ -rays were 50, 100, 500, 1000 and 2000 Gy respectively. The irradiated eggs, together with the control, were stored at 4°C before incubation and observations.

The results are as follows: (1) A significant delay of early development was seen in eggs irradiated by both radiations. (2) The rates of emergence and hatching decreased with the increase of the doses, and went down further after the prolongation of egg-storage at 4°C. (3) The mortality peak of the larvae hatched from irradiated eggs appeared within 2—5 days after hatching, and the RBE's of the fast neutrons, for LD_{50} , comparing with the γ -rays were found to be: 1.80 on the 3rd day, 2.44 on the 4th day, and 2.27 on the 5th day.

KEY WORDS *Artemia* eggs, Fast-neutron irradiation, γ -irradiation, Development, RBE