

文章编号: 1000-8551(2005)05-386-04

## $^{60}\text{Co}$ 辐射对金鱼胚胎发育的影响

戴桂馥<sup>1</sup> 吴 健<sup>1</sup> 张凤秋<sup>2</sup> 徐文举<sup>3</sup> 霍建磊<sup>3</sup> 霍裕平<sup>2</sup>

(1. 郑州大学生物工程系, 河南 郑州 450052; 2. 郑州大学离子束生物工程重点实验室, 河南 郑州 450052;

3. 郑州大学物理工程学院, 河南 郑州 450052)

**摘 要:**本文以金鱼幼胚为材料研究了不同剂量和不同剂量率的 $^{60}\text{Co}$  辐射对其胚胎发育的影响。结果表明, 0.5~1.0Gy 的辐射能加快胚胎发育的进程, 但最终孵化率却很低, 即超敏(HRS)现象, 而2.0~4.0Gy 为引起增强的辐射抗性(IRR)阶段。在相同剂量和剂量率下, 处于4~8 细胞期的胚胎存活率比多细胞期和囊胚早期高, 而畸形率低。当以5.0Gy 的剂量辐射时, 剂量率小于1.0Gy/min 的慢辐射对胚胎的危害大于较高剂量率(1.0~2.0Gy/min) 的快辐射。

**关键词:** $^{60}\text{Co}$  辐照; 金鱼; 胚胎

### EFFECTS OF $^{60}\text{Co}$ - RADIATION ON THE EMBRYO DEVELOPMENT OF GOLDFISH

DAI Gui-fu<sup>1</sup> WU Jian<sup>1</sup> ZHANG Feng-qiu<sup>2</sup> XU Wen-ju<sup>3</sup> HUO Jian-lei<sup>3</sup> HUO Yu-ping<sup>2</sup>

(1. Department of Biotechnology, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, 450052;

2. Key Lab. of Ion Beam Biotechnology, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, 450052;

3. College of Physics, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, 450052)

**Abstract:** The effects of  $^{60}\text{Co}$  - radiation on the development of goldfish embryos were investigated by different doses and different dose rate. The results showed that 0.5~1.0Gy  $^{60}\text{Co}$  - radiation could speed up the development of embryos, but did not cause higher hatching rate. 0.5~1.0Gy  $^{60}\text{Co}$  - radiation caused hyperradiosensitivity on goldfish embryos, whereas 2.0~4.0Gy caused increased radioresistance. Embryos at 4~8 cell stage showed higher survival rate and lower abnormal embryo rate than embryos at multicellular stage or early gastrula stage when radiated at the same dose and dose rate. The results also showed that the radiation at low dose rate (lower than 1.0Gy/min) could cause more serious damage than the relative higher dose rate (1.0Gy/min). Early embryos radiated at 1.0Gy/min dose rate and lower than 2.5Gy were suggested for the breeding.

**Key words:**  $^{60}\text{Co}$  - radiation; goldfish; embryo

$^{60}\text{Co}$  辐射作为重要的诱变源创造了许多植物和微生物新品种<sup>[1~3]</sup>。在鱼类育种方面也取得了一些成果<sup>[4~6]</sup>。但 $^{60}\text{Co}$  射线用于动物遗传育种成功的报道远不如在植物和微生物中普遍, 其中还存在许多问题。辐射对生物体特别是动物胚胎遗传发育的影响是非常复杂的。辐射不仅仅引起胚胎细胞的损伤和致突变效应, 低剂量电离辐射还引起辐射超敏现象/增强的辐射抗性(HRS/IRR), 兴奋效应和适应性反应。这反映了生物体在长期进化中形成的修复和调节机制<sup>[7~9]</sup>, 并引起了许多研究者的兴趣<sup>[10~14]</sup>。本文研究了不同剂量和剂量率对金鱼胚胎发育的影响, 以期探索金鱼诱变育种的最佳剂量和剂量率范围, 用于指导育种实践。同时对在辐照处理金鱼卵孵化过程中发现的异常现象进行了探讨, 以助于我们

收稿日期: 2004-11-08

基金项目: 河南省重大科技攻关项目(9810500240)

作者简介: 戴桂馥(1963-), 女, 辽宁法库人, 副教授, 从事生物技术方面的研究。Email: daiguifu@zzu.edu.cn

更深层次的探究辐射对鱼类遗传发育的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

近 2 年龄、性成熟的、体型良好的金鱼 (*Carassius auratus*) ,选自郑州郊区某金鱼孵化场。

### 1.2 受精

在经高锰酸钾消毒的磁盘底铺上尼龙网,通过湿法受精将受精卵均匀散布于网上<sup>[13]</sup>。

### 1.3 辐照处理

辐照处理在河南省同位素研究所进行。辐照包括以下 4 个系列:A 系列将受精后约 1.5h 发育到 4~8 细胞期胚胎采用固定剂量率(1.0Gy/min)照射,剂量分别为 0(CK)、1.0、2.5、5.0、7.5 和 10.0Gy;B 系列将受精后约 3h 发育到多细胞期的胚胎采用固定剂量率(1.0Gy/min)照射,剂量分别为 0(CK)、1.0、5.0、6.5 和 7.5Gy;C 系列将受精后约 4h 发育到囊胚早期的胚胎采用固定剂量率(1.0Gy/min)照射,剂量分别为 0(CK)、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 和 5.0Gy;D 系列将 4~8 细胞期胚胎采用固定剂量(5.0Gy)照射,剂量率分别为 0(CK)、0.24、0.5、1.0 和 2.0(Gy/min)。每组实验系列所用的胚胎均来自于同一对金鱼,每个处理胚胎 300~400 枚,实验设两个重复。

### 1.4 孵化

辐照后胚胎于  $20 \pm 2$  、正常光照下孵化。

### 1.5 实验结果统计

于受精后约 5h 统计每组处理的胚胎数;分别于受精后 80h、100h 和 110h 统计孵化出的胚胎数量;于 110h 统计畸形鱼的数量;于 60h 统计能发育到眼黑色素期的胚胎数量,并于受精后 140h,鱼苗能顺利平游进食后统计健康鱼的数量。各项考察指标计算如下:

孵化率 = (孵化出的胚胎数/胚胎数)  $\times 100\%$

80h 相对孵化率 = (80h 孵化率/110h 孵化率)  $\times 100\%$

100h 相对孵化率 = (100h 孵化率/110h 孵化率)  $\times 100\%$

出眼率 = (能发育到眼黑色素期胚胎数/胚胎数)  $\times 100\%$

畸形率 = (畸形鱼总数/110h 孵化出的胚胎)  $\times 100\%$

存活率 = (顺利平游进食的育苗数量/110h 孵化出的胚胎)  $\times 100\%$

## 2 结果与分析

### 2.1 不同辐射剂量对金鱼胚胎发育的影响

图 1 给出了以 1.0Gy/min 的剂量率辐射金鱼 4~8 细胞期胚胎的剂量效应关系。结果表明,当剂量为 1.0Gy 时,出眼率和孵化率都明显下降,而当剂量从 1.0Gy 增加到 5.0Gy 时,孵化率和出眼率并没有出现进一步的下降,而是出现了平台。随后当剂量继续增大到 10.0Gy 时,孵化率和出眼率均急剧下降到不足 20%。而畸形率随着辐射剂量增加呈单方向增加的趋势,而且当剂量达到 5.0Gy 以上时,畸形率提高的幅度增大。剂量达到 7.5Gy 时显然未使孵化率急剧下降,但是畸形率急剧上升。从存活率与出眼率和孵化率的比较结果可以看出,尽管随着剂量由小变大孵化率和出眼率出现了从急降、平缓到急降的变化趋势,但是存活率却呈典型的指数下降的变化趋势。

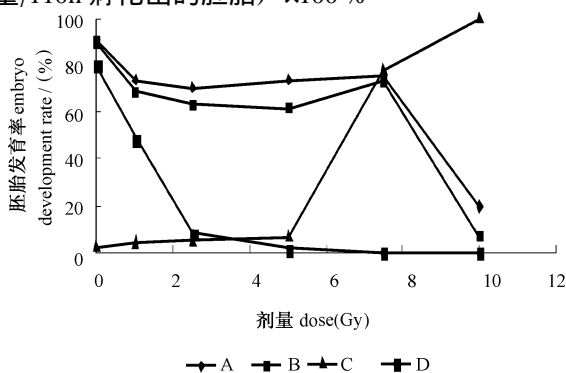


图 1 不同剂量 $^{60}\text{Co}$  辐照金鱼 4~8 细胞期胚胎对其发育的影响

Fig. 1 Effects of different doses of  $^{60}\text{Co}$  -radiation on development of goldfish embryos at 4~8 cell stage  
A: 出眼率; B: 孵化率; C: 畸形率; D: 存活率  
A: darkly pigmented eye rate; B: hatching rate; C: abnormal embryo rate; D: survival rate. The same as following figures

由于剂量达到 5.0 Gy 之后出现了孵化率和出眼率随剂量增加的异常波动,因而又以多细胞期的胚胎为材料,加密设点着重考察了剂量从 5.0 Gy 到 10.0 Gy 的剂量效应关系(图 2)。结果表明 5.0 ~ 7.5 Gy 对于处在多细胞期的胚胎,是严重影响其发育和存活的临界剂量。

## 2.2 不同剂量率对金鱼胚胎发育的影响

以 5.0 Gy 的固定剂量辐照金鱼 4~8 细胞期胚胎时,出眼率、孵化率、畸形率和存活率随剂量率的变化关系如图 3 所示。结果表明,当剂量率从 0.24 Gy/min 增大到 2.0 Gy/min 时,虽然辐射 5.0 Gy 对胚胎的出眼率无大的影响,但却对孵化率和畸形率影响较大,特别当剂量率为 0.24 Gy/min 时,孵化率最低达到了 97.4%。存活率和孵化率的变化趋势基本一致,以小于 1.0 Gy/min 的剂量率辐射时,胚胎存活率很低,分别为 0(0.24 Gy/min)和 0.3%(0.5 Gy/min)。当剂量率增加到 1.0 Gy/min 时,存活率升高到 8.2%,增加到 2.0 Gy/min 时存活率为 7.7%。说明同样剂量下的辐射,剂量率越低,损伤越严重,并且损伤随着胚胎的发育得到明显的表现。从最终存活率结果看,在试验剂量范围内,适当增大剂量率有助于提高存活率。

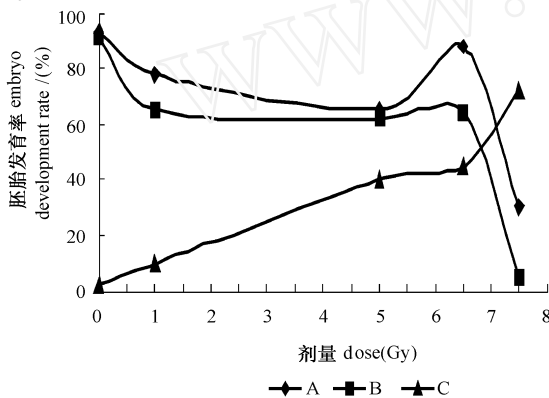


图 2 不同剂量<sup>60</sup>Co 辐照金鱼多细胞期胚胎对其发育的影响

Fig. 2 Effects of different doses of <sup>60</sup>Co -radiation on embryo development of goldfish embryos at multicellular stage

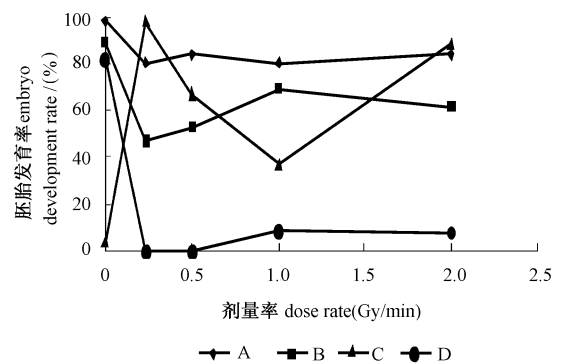


图 3 不同剂量率对金鱼胚胎发育的影响

Fig. 3 Effects of different dose rates of <sup>60</sup>Co -radiation on development of goldfish embryos

## 2.3 不同辐射剂量对胚胎发育速率的影响

0.5 Gy 到 5.0 Gy 辐射对囊胚早期的胚胎发育的影响结果(图 4)表明,用 0.5 Gy 的剂量辐照处于该时期的胚胎,虽然孵化率由对照的 97.9% 下降到 84.8%,但是其 80 和 100h 的相对孵化率都高于对照,说明 0.5 Gy 剂量的辐射能加快胚胎发育的进程,但是不能提高孵化率。随着剂量的增加,80h 和 100h 相对孵化率都低于对照。畸形率的变化则是随着剂量由小到大单方向升高。

## 3 结论与讨论

### 3.1 超敏现象(HRS)和增强的辐射抗性(IRR)

0.5 ~ 1.0 Gy 剂量的 辐射表现出异常现象,能加快胚胎发育进程,但最终孵化率反而比较低,低于 2.0 和 4.0 Gy 的水平。作者将这一效应理解为超敏现象(HRS),即在该剂量条件下,还未启动某些 DNA

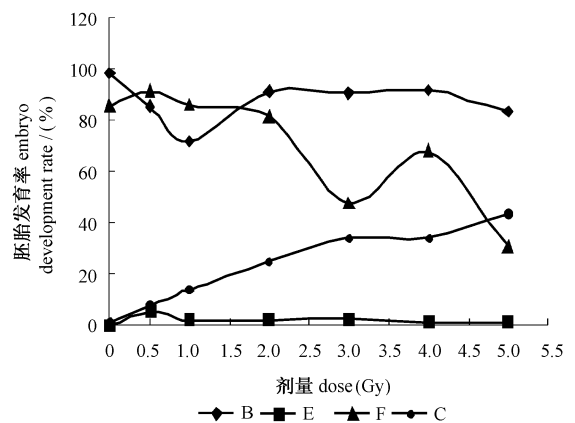


图 4 不同剂量对金鱼胚胎发育速率的影响

Fig. 4 Effects of different irradiation dose on goldfish embryos development

B: 孵化率; E 和 F 分别为 80 和 100h 的相对孵化率; C: 畸形率。  
B: hatching rate; E and F are relative hatching rate at 80 and 100 h, respectively. C: abnormal embryo rate

损伤修复机制。Michael<sup>[14]</sup>等报道在用人类胶质瘤的辐射实验中发现约 0.5 Gy 以下辐射剂量可引起 HRS 现象。0.5 ~ 1.0 Gy 引起 IRR 现象,在本试验中发现鱼胚胎的 HRS 出现剂量约为 1 Gy, 2.0 ~ 4.0 Gy 为 IRR 阶段。

### 3.2 不同胚胎发育时期对相同剂量和剂量率的辐射敏感性不同

关于畸形率的统计结果表明,4 ~ 8 细胞期的胚胎对致畸效应的敏感性不如多细胞期和囊胚早期,胚性突变(可遗传突变鱼)的概率可能会较大。因此,诱变育种采用 4 ~ 8 细胞期的胚胎可能会有较好的效果。

### 3.3 低于 1 Gy/min 剂量率的慢辐射对胚胎的损伤效应较大

当以 5.0 Gy 的剂量辐射时,孵化率和存活率在剂量率小于 1.0 Gy/min 时,随着剂量率的降低而降低,而畸形率随着剂量的降低而增加。这种低剂量率对一定胚胎发育阶段的影响特别值得注意。育种时应采用不低于 1.0 Gy/min 的剂量率。低剂量率造成损伤大的原因可能是低剂量率辐射时间长,经历超敏阶段的时间也长,因而造成生理损害也大。

### 3.4 金鱼幼胚对 辐射存在最大耐受临界剂量

当辐射剂量达到 7.5 Gy(4 ~ 8 细胞期)或 6.5 Gy(多细胞期)后,随着剂量的进一步增加,出眼率、孵化率急剧下降,而畸形率急剧上升。低于临界剂量的一定剂量范围内,出眼率和孵化率维持在一定水平。这一临界剂量范围即是辐照存活曲线的肩部。

有关鱼类辐射育种的系统研究报道较少,诱变所应采用的胚胎发育时期,合适剂量和剂量率,还需以最终获得可遗传突变比例来验证。

### 参考文献:

- [1] 邓永昌,董昭林,张健琛. 射线辐射处理微孔草试验初探. 四川草原, 2001, 4: 30 ~ 31, 60
- [2] 魏亦勤. <sup>60</sup>Co 射线在小麦育种上形状改良的应用研究. 种子, 2001, 1: 49 ~ 50
- [3] 付艳平,王明祖,姜道宏. 淡紫拟青霉 36-1 菌株 3 种诱变方法的比较. 华中农业大学学报, 1998, 17(1): 20 ~ 23
- [4] 楼允栋. 鱼类育种学. 北京: 中国农业出版社, 1998, 111
- [5] 赵峰,杨爱国,刘志鸿,等. 紫外辐射对节孔扇贝精子遗传失活及形态结构的影响. 海洋水产研究, 2003, 24(4): 26 ~ 31
- [6] 刘俊平,安志兴,张涌. 紫外线照射时间对孤雌激活和体外受精胚胎发育的影响. 动物医学进展, 2004, 25(2): 109 ~ 110, 125
- [7] Vladimirov I, Vysotskii, Anatoliy O. et al. Modeling and time-dependent dynamics of Processes of stimulated depolymerization, auto-repairing, degradation and radiation curing of DNA macromolecules and biopolymers at separated and combined actions of ionizing irradiation. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B, 2001, 185: 108 ~ 115
- [8] Carl M. Fleck, Helmut Sch Inberger, Markus M. Kottbauer. Modeling radioprotective mechanisms in the dose effect relation at low doses and low dose rates of ionizing radiation. Mathematical Biosciences, 1999, 155: 13 ~ 44
- [9] Calabrese EJ, Baldwin L A. Radiation hormesis: its historical foundations as a biological hypothesis. Hum. Exp. Toxicol. 2000, 19(1): 32 ~ 40
- [10] Liu S Z, Cai L, Sun S Q. Induction of a cytogenetic adaptive response by exposure of rabbits to very low dose rate r - radiation. Int J Radiat Bio, 1992, 62: 187 ~ 190
- [11] Olivieri G, Bodyncote J, Wolf S. Adaptive response of human lymphocytes to low concentration of radioactive thymidine. Science, 1984, 23: 594 ~ 595
- [12] Brena M, Tavera L, Balcazar M. SOS induction by low activity alpha sources: microdosimetric considerations, Int. J. Radiat. Biol. 1996, 69(2): 219 ~ 125
- [13] Kivsten A Skov. Radioresponsiveness at low dose: hyperradiosensitivity and increased radioresistance in mammalian cells. Mutation Research, 1999, 430: 241 ~ 253
- [14] Michael C Joiner, Brian mapple, et al. Low-dose hypersensitivity: Current status and possible status and possible mechanisms. Int J Radiation Oncology Bio Phy, 2001, 49(2): 379 ~ 389
- [15] 王楚松. 金鱼的养殖技术(连载) - 金鱼的繁殖方法. 水产养殖, 1995, 2: 19 ~ 21