

ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS EFECTOS GENÉTICOS PRODUCIDOS POR RAYOS-X Y NEUTRONES EN *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Por: M. Zuleta (1)

RESUMEN

En espermatozoides de *Drosophila melanogaster*, se hizo un estudio comparativo de los efectos de neutrones y rayos X en relación con la producción de translocaciones recíprocas. Los resultados de este experimento indican que:

- 1) Cuando se comparan dosis iguales de neutrones rápidos de 0.58 Mev y rayos X de 250 Kev, se observa que estos dos tipos de radiaciones difieren en su efectividad para producir translocaciones recíprocas.
- 2) La proporcionalidad entre la dosis y el efecto es diferente para cada tipo de radiación. La curva que establece la relación entre la dosis de rayos X y la producción de translocaciones se ajusta a la ecuación: $Y = \alpha D^{3/2}$; en cambio la gráfica que representa la relación entre dosis de neutrones y producción de translocaciones está dada por la ecuación lineal $Y = \alpha D$, (en donde α representa la pendiente y D la dosis).
- 3) Con una serie de dosis de neutrones comprendida entre 265 y 5.760 rads la producción de translocaciones pasó de una frecuencia mínima de 0.40% a 10.560%, mientras que con dosis de rayos X comprendidas entre 765 y 4.400r (roentgens), la producción de translocaciones se extendió de 1,640% a 20,90%.
- 4) Con dosis de radiación entre 0-500 r el valor EBR para translocaciones recíprocas fue de 1,1; pero al aumentar la dosis por encima de 500r, el valor EBR de neutrones disminuye.

INTRODUCCION

A través de los estudios en radiobiología experimental se ha reconocido que los distintos tipos de radiación ionizante, a pesar de ser similares en su interacción con el material vivo, difieren en que se requieren dosis diferentes para producir un efecto biológico dado (ejemplo: muerte celular, mutaciones recesivas, etc.).

Para comparar los efectos biológicos de dos radiaciones diferentes se utiliza el concepto de "Efectividad Biológica Relativa" (EBR) de una radiación con respecto a otra. Convencionalmente, se usan los rayos X como radiación de referencia.

El valor EBR se obtiene dividiendo la cantidad de rayos X que produce un efecto determinado por la cantidad de la otra radiación que produce el mismo efecto. Por ejemplo, si el valor EBR de neutrones para translocaciones en espermatozoides maduros de *Drosophila* es 2, esto significa que dicho sistema biológico, una dosis de neutrones de 0,5 rads causa el mismo efecto biológico que produce 1 rad de rayos X.

Varios autores han demostrado que las diferencias en la efectividad biológica de distintos tipos de radiaciones se deben a desigualdades en la distribución espacial de ionización de las respectivas radiaciones (Edington y Randolph, 1958; Bacq and Alexander, 1961).

(1) Profesora Departamento de Biología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

La disipación de energía por unidad de trayectoria recorrida por la partícula primaria de ionización se describe por medio de las iniciales L E T que significan: Transferencia Lineal de Energía.

Se ha confirmado que la radiación de alto LET, tal como los neutrones, es más eficiente en la producción de daño genético y permite menos reparación del daño molecular que la radiación de bajo LET tal como los rayos X (Report of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, 1966; Fowler, 1974).

A pesar de todos los adelantos alcanzados en la investigación sobre radiobiología, es difícil establecer la relación entre estos dos valores: E B R y LET, debido a que ninguna radiación es uniforme respecto a su densidad iónica. Por ejemplo, la radiación espaciada de bajo LET, produce iones separados a lo largo de la mayor parte de su trayectoria, pero se disipa en densas nubes de pares iónicos al terminar su recorrido. Esto se debe a que la partícula iónica o LET en la llamada cola (Bacq and Alexander, 1961). Además, existen otros muchos factores que complican la comparación entre radiaciones de alto y bajo LET.

En muchos casos, aún tratándose del mismo sistema biológico, los valores de E B R cambian en direcciones opuestas de acuerdo con la dosis, la intensidad o tasa a la cual se administra una dosis dada (Russell, 1965), los efectos biológicos estudiados, el tipo de células que reciben la acción de la radiación (Dauch, 1965), la energía de la radiación (Murakami, 1965) y las condiciones ambientales al aplicar la radiación, tales como concentración de oxígeno.

La información obtenida a través de estos estudios sirve como base para recomendar "Dosis Máximas Permisibles", (DMP) para diferentes tipos de radiación aplicadas al hombre.

Estas investigaciones también son interesantes como medio para comprender los procesos de radiación en los sistemas biológicos. Por ejemplo, varios autores (Lea, 1955; Muller, 1954), han desarrollado hipótesis y teorías sobre los mecanismos radiobiológicos iniciales que originan los cambios en el valor del EBR según los diferentes efectos genéticos de la radiación.

El propósito del experimento que se describe a continuación es obtener más datos sobre EBR de neutrones rápidos monoenergéticos y rayos X en la producción de translocaciones recíprocas en espermatozoides de *Drosophila melanogaster*.

MATERIALES Y METODOS

Procedimientos para Irradiar con Neutrones.

Las moscas que se sometieron a la acción de los neutrones se llevaron en avión al Laboratorio Nacional de Brookhaven

donde fueron irradiadas y cruzadas. Esta parte del experimento la llevó a efecto el Dr. S. Abrahamson, (geneticista de la Universidad de Wisconsin). Las moscas se transportaron en cajas de icopor con bloques de hielo alrededor para mantener la temperatura por debajo de 25°C. La dosimetría estuvo a cargo del señor L.Y. Goodman. La irradiación se hizo en un generador Van de Graff utilizando protones de 2.8 Mev en la reacción $H^3(p,n)He^3$. Las moscas se colocaron en una caja rotatoria a 3,3 cm de distancia de la fuente de irradiación, formando un ángulo de 100° respecto a la dirección del rayo de protones. Este arreglo produjo una irradiación de neutrones de 0.58 Mev 110/o con un promedio de intensidad de dosis de 783 rad/hora.

La irradiación se llevó a efecto en tres períodos o series diferentes y se aplicaron las siguientes dosis: 265 rads, 765 rads, 1.546, 2.321 rads, 2.870 rads, 4.400 rads y 5.760 rads. Cada dosis se aplicó a grupos de 40 moscas.

Para neutrones rápidos de 0.43 y 0.65 Mev se ha calculado que en el material viviente producen trazas de un LET equivalente a 72 y 67 Kev/ μ respectivamente (Smith et al, 1964).

Tratamiento con Rayos X.

Para hacer las comparaciones, también se hicieron experimentos con rayos X. Estos se llevaron a efecto con las mismas técnicas genéticas utilizadas en los experimentos con neutrones. Los machos silvestres de *Drosophila* (Canton S) de 7 y de 3 días de edad también fueron tratados con dosis de 765, 1.546, 2.321 y 4.400 r de rayos X. La irradiación se obtuvo en una máquina que opera a 250 Kev con una intensidad de dosis de 444r/min a 25 cm de distancia de la fuente de irradiación y con filtro de 20 mm. Se utilizó un filtro de cobre de 0,5 mm y uno de aluminio de 1 mm. El promedio del LET de estos rayos X en el agua es de 2 a 3 Kev/ μ , (Boag, 1953).

"Test" para Translocaciones.

En las dos primeras series de irradiación se expusieron a la acción de los neutrones machos de 7 días de edad. En la tercera serie, los machos irradiados tenían 3 días de edad.

En todos los casos se irradiaron machos normales de la cepa Canton --S. Estos se cruzaron con hembras hemocigóticas *bw; e* (la marca recesiva "brown" está en el cromosoma 2 y la marca recesiva "ebony" está en el cromosoma 3).

Inmediatamente después de la irradiación, se colocaron en frascos pequeños con alimento, cinco machos y cinco hembras. Después de un período de 24 horas se mataron los machos, mientras que las hembras se pasaron a otros frascos con alimento fresco por períodos de 2 días. Los machos F₁ fueron cruzados individualmente con hembras *bw; e*. Todos

los hijos F_2 , se examinaron en búsqueda de las cuatro clases fenotípicas producidas por la recombinación de los cromosomas marcados. La ausencia de una o varias de las combinaciones fenotípicas esperadas, permite reconocer en la F_2 todas las translocaciones fértiles. Las figuras 1, 2, y 3 ilustran el procedimiento seguido para detectar las translocaciones recíprocas entre los cromosomas 2-3; 3-Y; 2-Y.

En la segunda serie experimental, los machos P_1 se cruzaron con dos grupos diferentes de hembras durante los intervalos de 0-24 horas y de 24-48 horas después de la irradiación, esto con el fin de analizar espermátidas.

Todos los cultivos se mantuvieron a una temperatura de 25°C .

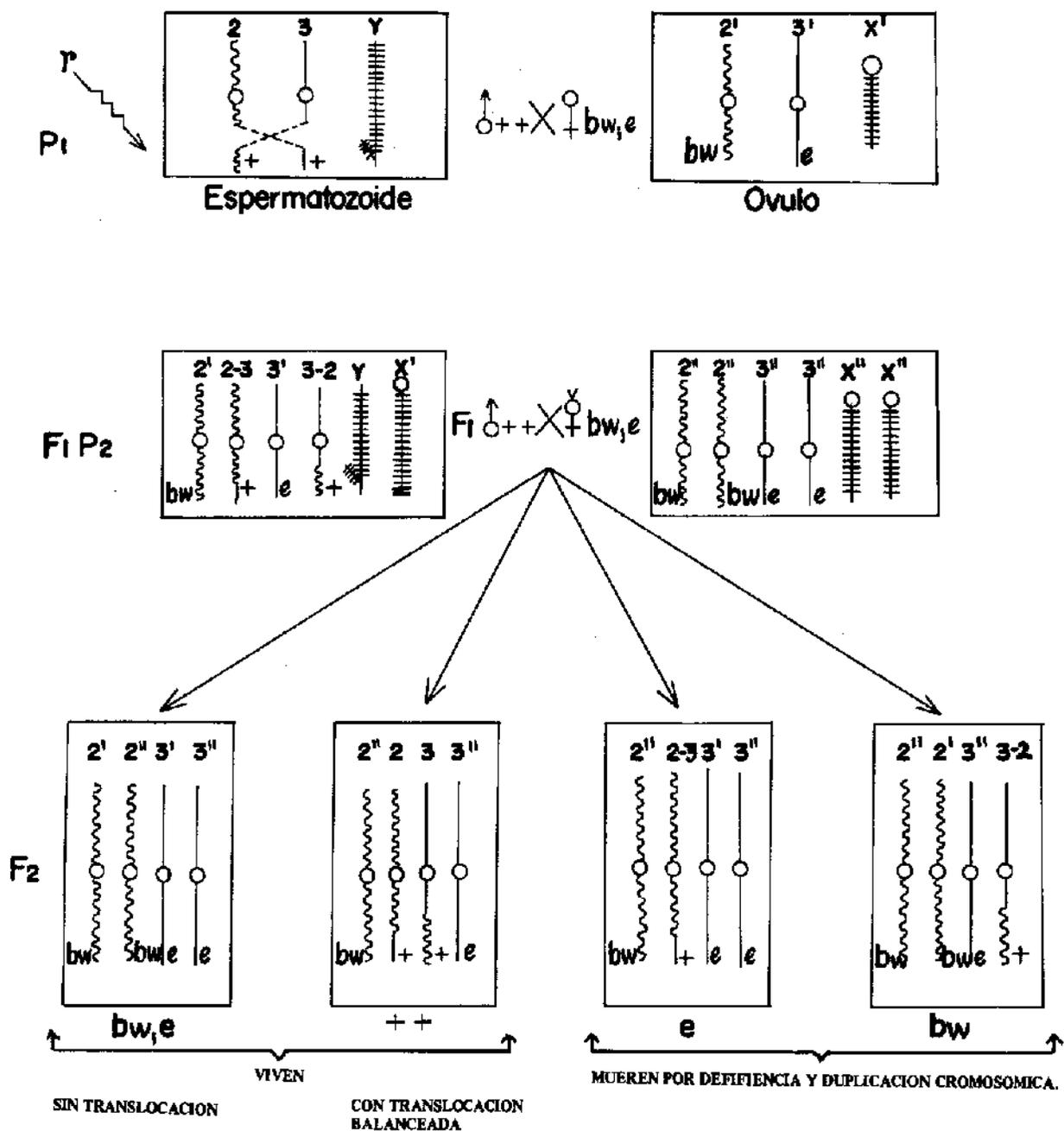


FIGURA 1. Representación diagramática de las Translocaciones recíprocas (T2-3) y sus consecuencias fenotípicas utilizadas para detectarlas.

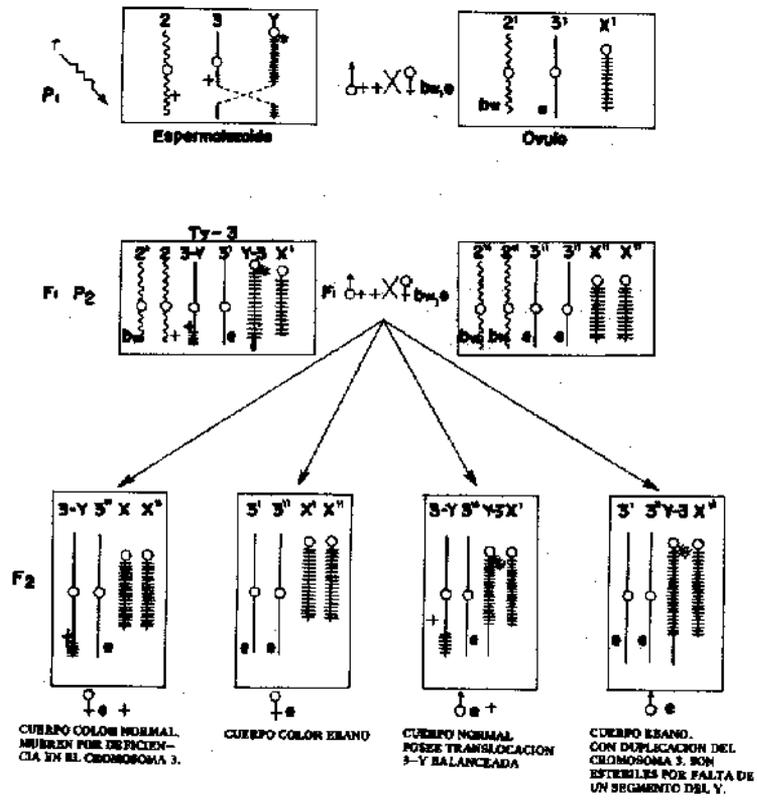


FIGURA 2. Representación diagramática de las translocaciones recíprocas (TY-3) y sus consecuencias fenotípicas utilizadas para detectarlas.

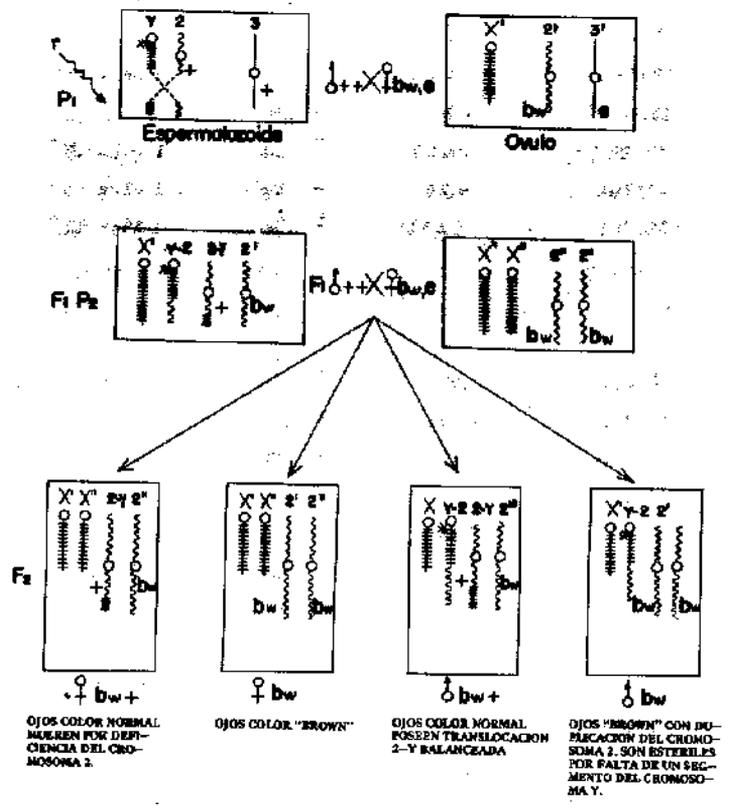


FIGURA 3. Representación diagramática de las translocaciones recíprocas (TY-2) y sus consecuencias fenotípicas utilizadas para detectarlas.

RESULTADOS

La tabla 1 presenta las translocaciones T 2-3 obtenidas por irradiación con neutrones o con rayos X. En la tabla 2 aparece el porcentaje de translocaciones que incluyen el cromosoma Y, con su correspondiente análisis estadístico.

Los datos obtenidos con neutrones que aparecen marcados con (a) se refieren a la muestra de espermatozoides tomada entre 0-24 horas después de la irradiación. La (b) señala los

resultados de espermátides tomados entre 24-48 horas después de la irradiación con neutrones. La diferencia observada en la producción de daño genético entre los tipos de células no es mayor que la esperada al azar. Esto concuerda con los hallazgos de Muller (1954) quien obtuvo la misma tasa de translocaciones en las diferentes muestras de espermatozoides tomada entre 0-6 días después de la irradiación con neutrones. Dauch (1966) encontró diferencia significativa entre los efectos producidos en las diferentes células espermáticas, cuando éstas se expusieron a los rayos X, en cam-

TABLA I
FRECUENCIAS DE TRANSLOCACIONES (T2-3)

TRATAMIENTO CON NEUTRONES RAPIDOS.

Serie	Basis	No. de Translocaciones No. total de cromosomas	%	± ES	Producción observada por (%) / gameto (Frecuencia Dosis)	Producción esperada por dosis/gameto (Se calcula con las si- guientes ecuaciones).
I	265	4/990	.404	± .2	1.52×10^{-5}	$Y = 1.15 \times 10^{-5} D$
II	* a) 765	7/956	.724	± .27	$.94 \times 10^{-5}$	$\chi^2 = 17.6 \quad P = .02$
	* b) 765	3/488	.62	± .35		
II	a) 1546	9/956	.941	± .31	$.609 \times 10^{-5}$	Si se omite la observa- ción con 1.546: $Y = 1.27 \times 10^{-5} D$
II	b) 1546	3/484	.61	± .35		
II	a) 2321	25/946	2.642	± .5	1.30×10^{-5}	$\chi^2 = 4.8 ;$.40 < P < .50
	b) 2321	10/470	2.1	± .6		
III	2870	32/887	3.607	± .62	1.257×10^{-5}	
III	4400	49/784	6.25	± .86	1.42×10^{-5}	
III	5760	59/767	7.431	± .94	1.29×10^{-5}	

TRATAMIENTO CON RAYOS-X

I	765	8/824	.97	± .39		$Y = 0.0538 \times 10^{-5} D^{3/2}$
II	765	13/820	1.595	± .41		$\chi^2 = 5.2 ;$.15 < P < .20
		21/1644	1.28	± .28	$.06 \times 10^{-5}$	
I	1546	26/794	3.27	± .2		Si se omite la última serie: $Y = .06 \times 10^{-5} D^{3/2}$
II	1546	17/587	2.90	± .69		
		43/1381	3.20	± .67	$.033 \times 10^{-5}$	$\chi^2 = 2 ; .35 < P < .40$
I	2321	57/762	7.48	± .9		
II	2321	41/573	7.15	± 1.0		
		98/1335	7.34	± .7	$.065 \times 10^{-5}$	
II	4400	115/808	14.23	± 1.22	$.049 \times 10^{-5}$	

* (a) Se refiere a la muestra de espermatozoides del primer día. (b) Se refiere a la muestra de espermatozoides del segundo día.

TABLA II

FRECUECIAS DE TRANSLOCACIONES CON EL CROMOSOMA Y INCLUYENDO LOS TIPOS Y-2, Y-3, Y-2-3.

TRATAMIENTO CON NEUTRONES RAPIDOS

Serie	Dosis	No. de Translocaciones No. total de cromosomas	%	\pm es	Producción observada por (r)/gameto (Frecuencia Dosis)	Producción esperada por dosis/gameto (Se calcula con las si- guientes ecuaciones).
I	265	0				
I	a) 765	5/966	.52	\pm .23	6.7×10^{-6}	
	b) 765	0/488		\pm		$Y = 4.3 \times 10^{-6} D$
II	a) 1546	6/956	.63	\pm .25	4.1×10^{-6}	
	b) 1546	1/486	.20	\pm .2		$\chi^2 = 7.53$
II	a) 2321	7/946	.74	\pm .28	3.7×10^{-6}	
	b) 2321	2/470	.42	\pm .28		$.15 < P < .20$
III	2870	16/887	1.8	\pm .44	6.3×10^{-6}	
III	4400	11/784	1.4	\pm .42	3.2×10^{-6}	
III	5760	24/767	3.13	\pm .62	5.4×10^{-6}	

TRATAMIENTO CON RAYOS-X

765 γ	4/824	.48	\pm .24			$Y = .25 \times 10^{-6} D^{3/2}$
765 γ	2/820	.244	\pm .17			
	6/1644	.365	\pm .15		$.17 \times 10^{-6}$	$\chi^2 = 5$
1546 γ	12/794	1.51	\pm .4			$.15 < P < .20$
1546 γ	11/587	1.87	\pm .54			
	23/1381	1.66	\pm .34		$.27 \times 10^{-6}$	
2321 γ	26/762	3.41	\pm .65			
2321 γ	23/573	4.0	\pm .8			
	49/1335	3.67	\pm .5		$.31 \times 10^{-6}$	
4400	54/808	6.68	\pm .87		$.22 \times 10^{-6}$	

* (a) Se refiere a la muestra de espermatozoides del primer día... (b) Se refiere a la muestra de espermatozoides del segundo día...

bio no encontró diferencia significativa cuando las diferentes células fueron tratadas con neutrones.

Los cálculos para obtener la proporcionalidad entre las dosis de radiaciones y sus respectivos efectos, se hicieron por análisis de regresión. Este análisis se hizo aplicando el principio de los cuadrados mínimos con coeficiente de corrección según lo indica Mather (1951).

La línea de regresión para establecer la relación entre la producción de translocaciones y la dosis aplicada de rayos X, se determinó por medio de la fórmula: $Y = \alpha D^{3/2}$.

En la irradiación con neutrones, la línea de regresión se obtuvo con la fórmula: $Y = \alpha D$, en donde, $\alpha = \frac{\sum XY}{\sum X^2}$.

D = dosis de radiación y Y = frecuencia de translocaciones. La frecuencia de translocaciones espontáneas, encontradas por algunos autores, como Glass (1955) es tan pequeña (cerca de 8×10^{-6}), que se puede considerar el coeficiente de intercepción igual a cero. La figura 4 representa las líneas de regresión para las translocaciones entre los cromosomas 2-3 producidas con rayos X neutrones.

La curva que representa la relación dosis de rayos X y producción de T 2-3, se ajusta a la fórmula $\bar{Y} = 0.538 \times 10^{-6} \times D^2$, (Donde Y es la producción de translocaciones por gameto). Con $X^2_3 = 5.2$; $0.15 < P < 0.20$. El valor de "test ji" al cuadrado se obtuvo con la siguiente fórmula: $X^2 = \frac{\sum(Y - \bar{Y})^2}{\sum \bar{Y}^2}$.

En la irradiación con neutrones, la frecuencia de translocaciones 2-3 aumenta de acuerdo a la ecuación lineal $Y = 11.5 \times 10^{-6} \times D$; con $X^2_6 = 17.6$; $P = 0.02$. Solo una de las observaciones está situada fuera de la línea de regresión. Se trata de una frecuencia muy baja obtenida con la dosis 1.546 r de neutrones. Cuando se hicieron los cálculos sin

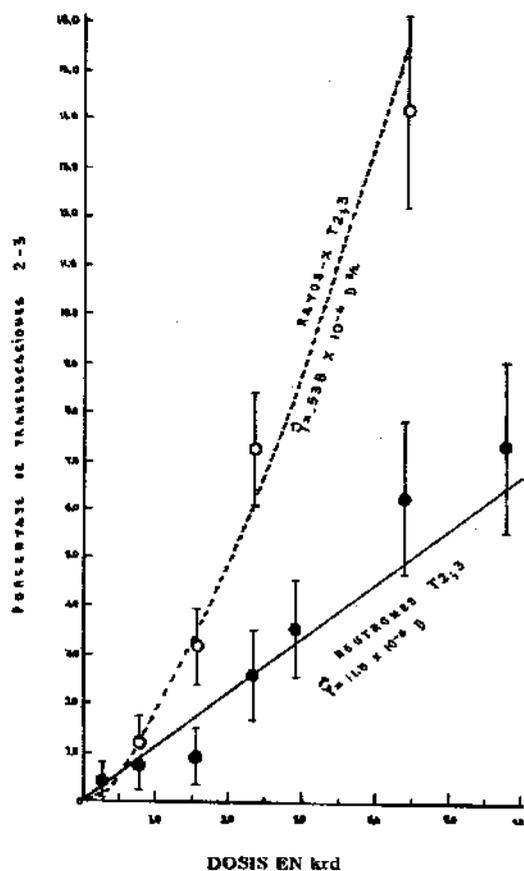


FIGURA 4. Relación entre la dosis de radiación y la frecuencia de translocaciones recíprocas (T) entre los cromosomas 2-3. Las líneas verticales indican los límites del error estándar.

tener en cuenta los resultados de la dosis 1.546, los datos se ajustaron muy bien a la línea de regresión con la siguiente ecuación: $\bar{Y} = 12.7 \times 10^{-6} \times D$; con $X^2_6 = 4.8$; $0.40 < P < 0.50$. Estas consideraciones hacen sospechar que ocurrió algo anómalo con la dosis 1.546 rads (neutrones). Posiblemente un error técnico introdujo la desviación respecto a la línea de regresión.

Las curvas de la figura 5 representan la relación entre dosis de radiación y producción de translocaciones con el cromosoma Y.

Tanto en la figura 4 como en la 5 se puede ver que la efectividad con la dosis de 4.400 r de rayos X es menor que la esperada. Esta observación sugiere una tendencia a la saturación por la acción de altas dosis de rayos X.

Según Muller (1954), esta depresión que se observa con altas dosis de rayos X, puede explicarse por el aumento de translocaciones no viables y de mutaciones letales dominantes.

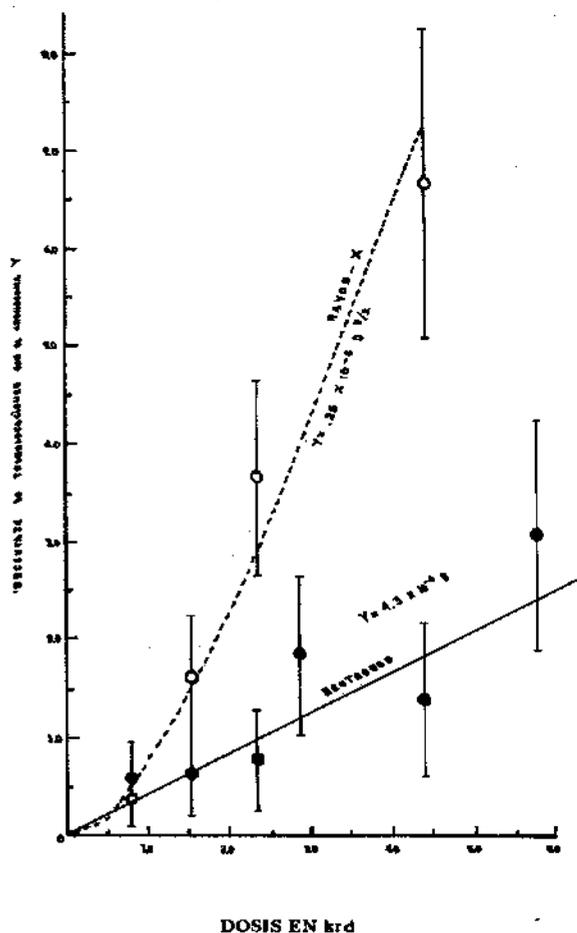


FIGURA 5. Relación entre la dosis de radiación y la frecuencia de translocaciones que incluyen el cromosoma Y. Las líneas verticales indican los límites del error estándar.

DISCUSION.

En los distintos tipos de curvas que relacionan el efecto de las diferentes radiaciones con la dosis, se ve claramente que la frecuencia de translocaciones recíprocas es una función lineal de la dosis de neutrones. Este efecto lineal de la dosis indica que la translocación es producida por efecto de una sola trayectoria de neutrones. Según Muller (1954), Giles (1954) y Lea (1955), ésto se debe a que las rupturas necesarias para cada translocación, son producidas por la misma traza de ionización y que los extremos rotos capaces de unión intercambiada están situados cerca uno de otro. En cambio con rayos X se observó que cuando las dosis son superiores a 500 r la frecuencia de translocaciones aumenta en relación a la dosis elevada al exponente $3/2$. Este mismo aumento exponencial de translocaciones ha sido observada por otros investigadores como Muller (1954).

Se cree que el aumento exponencial de las aberraciones, cuando se aplican radiaciones de baja densidad iónica como los rayos X, indica que los rearrreglos cromosómicos resultan de la interacción de diferentes trazas iónicas (Giles, 1954).

Estas observaciones muestran que la relación entre dosis y producción de translocaciones cromosómicas es diferente para los dos tipos de radiaciones.

Sin embargo, Traut (1963) ha demostrado que a dosis de rayos X de 0-55r el aumento de translocaciones es lineal, tal como sucede con los neutrones.

Según Muller (1954), la razón para la linealidad de rayos X a bajas dosis, se debe a que con pequeñas dosis hay muy poca proporción de trazas iónicas por célula y si dos trazas iónicas llegan a un núcleo, lo más probable es que no queden suficientemente cercanas como para que los extremos rotos producidos por las dos trazas independientes puedan intercambiarse. En consecuencia, a bajas dosis de rayos X, las dos rupturas necesarias para la translocación deben resultar por efecto de una sola traza iónica, probablemente causadas por la ionización densa de la terminación. En tal caso, es de esperar que el número de translocaciones aumente linealmente con dosis bajas de rayos X. Aprovechando este hecho, el valor EBR para translocaciones T2-3 se determinó más exactamente, comparando la pendiente ($1,16 \times 10^{-5}$) para aumento lineal de translocaciones 2-3 a dosis de rayos X de 0-500 r (Traut, 1963) con la pendiente ($1,27 \times 10^{-5}$) corregida para aumento lineal de T-2-3, con neutrones.

E B R -- Pendiente para neutrones (T-2-3): $1,27 \times 10^{-5}$ - 1,1

Pendiente para rayos X (T 2-3): $1,16 \times 10^{-5}$

Para estimar el valor EBR a dosis más altas que 500 r se compararon las dos dosis diferentes de radiación, que producen la misma frecuencia de translocaciones.

(Las dosis se pueden calcular por medio de las líneas de regresión). Ejemplo de EBR a un nivel de 50/o de translocaciones T 2-3. EBR (50/o) de Translocaciones).

$\frac{2.140r \text{ rayos-X}}{4.000r \text{ neutrones}} = 0.53$

Puede observarse que cuando se calcula el EBR para translocaciones, a dosis menores de 500 r, la eficiencia de los neutrones rápidos es 1,1 veces la de rayos X o sea que por una dosis de rayos X se necesitan 0.9 de neutrones para producir el mismo efecto. Es claro también, que con dosis superiores a 500r, los rayos X producen un aumento de translocaciones proporcional a la dosis elevada a un exponente mayor que 1, en cambio la producción de translocaciones con neutrones continúa directamente proporcional a dosis altas. Por lo tanto, la efectividad biológica relativa de neutrones respecto a los rayos X, disminuye con el aumento de la dosis.

Por ejemplo, en este experimento el valor EBR es de 1,1 con dosis menores de 500r; en cambio con 4.000 rads de neutrones el valor EBR es de 0.53 o sea, que casi se necesita duplicar la dosis de neutrones para obtener la misma frecuencia de translocaciones producidas por 2.140 de rayos X.

En las investigaciones de Muller (1954) con espermatozoides maduros de *Drosophila melanogaster*, irradiados con neutrones rápidos de 2 Mev, se obtuvo un valor EBR de 5,4 para producción de 10/o de translocaciones 2-3.

Dauch (1966), quien también trabajó con espermatozoides maduros de *Drosophila melanogaster*, irradiados con neutrones rápidos de 3 Mev obtuvo un valor EBR de 2,3 para translocaciones 2-3 producidas con dosis de 500r.

Si comparamos los valores EBR, a bajas dosis de radiación, obtenidas por Muller, (1954), Dauch (1966) y en este experimento, observamos la siguiente relación: 5: 2:1. Esta relación indica que los neutrones de 0.58 Mev utilizados en el presente experimento, son menos eficientes en comparación con los neutrones de 2 Mev y 3 Mev utilizados por Muller y Dauch respectivamente. La diferencia en efectividad de los neutrones utilizados en estas investigaciones, posiblemente se deben a que como son de diferentes energías producen distintas densidades de ionización (LET), lo cual repercute en el efecto biológico de la radiación.

Varios hallazgos experimentales sustentan esta interpretación. Por ejemplo, Randolph (1964), encontró que no existe una dependencia lineal de la producción de aberraciones cromosómicas respecto al LET de los diferentes tipos de radiación, pero si hay un LET óptimo que está comprendido entre 50 y 70 Kev/ μ . Esta transferencia lineal de energía corresponde a neutrones de 1 Mev.

Por otra parte, se ha demostrado que dosis iguales de neutrones de diferentes energías, producen densidades iónicas distintas. Por ejemplo, Snyder (1964) en cultivo de tejido de

ratores observó que con cierta dosis de neutrones de 0.1 Mev, el 55o/o de la transferencia lineal de energía es de 75 Kev/ μ , mientras que, con la misma dosis de neutrones de 2,5 Mev, solo el 15o/o del LET alcanza tal densidad.

Es claro que la efectividad biológica relativa depende del LET y de la energía de los neutrones, sin embargo se puede llegar a una conclusión definitiva debido a la gran cantidad de otros factores que también inciden en el valor EBR.

AGRADECIMIENTO

La presente investigación que es una parte del trabajo que como tesis de grado de M.S., se llevó a efecto con financiación de la Fundación Ford. Estoy muy agradecido con el doctor Symour Abrahamson, mi director de investigación en la Universidad de Wisconsin. También agradezco al doctor Juan Valencia su colaboración en los estudios citogenéticos y al doctor Ben Taylor por las sugerencias que me dió para el análisis estadístico.

BIBLIOGRAFIA

- Bacq, Z.M. and P. Alexander, *Fundamentals of Radiobiology*, Oxford, 2d Edit. Pergamon, 1961. pp.226-237.
- Boag, J.W., U.S. National Bureau of Standards Report 12946, 1953.
- Dauch, F.V. Apitzsch, A. Catsch and K.G. Zimmer, "RBE Schneller Neutronen bei der Auslösung von Mutationen bei *Drosophila melanogaster*". *Mutation Res.*, 3:185-193, 1966.
- Edington, C.W. and M.L. Randolph, "A Comparison of the Relative Effectiveness of Radiations of Different Average Lener Energy Transfer on the Indution of Dominant and Recessive Lethals in *Drosophila*". *Genetics*, 43:715-727, 1958.
- Fowler, J.F. "Fundamental Aspects of Let in Radiobiology". *Radiation Res*, 59:5, 1974.
- Giles, M. H. Jr. *Radiaton Biology*. Edited by A. Hollasender. McGraw-Hill, New York, 1954, pp. 431, 724-725, 731.
- Glass, B., "A Comparative Study of Induced Mutation in the Oocytes and Spermatozoa of *Drosophila Melanogaster*", *Genetics* 40:252-267, 1955.
- Lea, D. E. *Actions of Radiations on Living Cells*. Cambridge University Press, 1955, pp. 80, 232.
- Mather, K. *Statistical Analysis in Biology*, London, University Paperbacks, 267 p, 1951.
- Muller, K., "The Relation of Neutron Dose to Chromosome Changes and Point Mutations in *Drosophila*". *Am. Naturalist* 88: 437-459, 1954.
- Murakami, A. S. Kondo, and Y. Tazima "Comparjson of Fission Neutrons and γ -Rays with Respect to Their Efficiency in Inducing Mutations in Silkworm *Gonia*" *Japan J. Genet*, 40:113-124, 1965.
- Randolph, M.L. "Genetic Damage as a Fuction of LET". *Annals of the New York Acad of Sc.*, 114:85-95, 1964.
- Russell, W. L., "Studies in Mammalian Radiation Genetics". *Nucleonics* 23: 53-56, 62, 1965.
- Smith, H.H., J. L. Bateman, H. Quastler, and H.H. Rossi, "RBE of Monoenergetic Fast Neutrons: Cytogenetic Effects in Maize". *Biological Effects of Neutron and Proton Irradiations*, p. 238, 1964.
- Synder, W.S. "The LET Distribution of Dose in Some Tissue Cylinders". *Biological Effects of Neutron and Proton Irradiations*. 1:4-19, 1964.
- Traut, H. "The Linear Dose - Dependence of Radiation - Induce Translocation Frequency in *Drosophila melanogaster* at Relatively low X - Radiation Doses". *Int. J. Rad. Biol.* 7: 401-403, 1963.
- United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. *Report of the United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation*. 1966, No. 16.