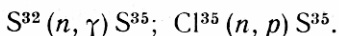


Г. Г. ПОЛИКАРПОВ, Л. А. ЛАНСКАЯ

**РАЗМНОЖЕНИЕ МАССОВОЙ ОДНОКЛЕТОЧНОЙ ВОДОРΟΣЛИ
PROROCENTRUM MICANS EHR. В ПРИСУТСТВИИ S^{35}**

Исследования по определению минимальных пороговых активностей, влияющих на различные организмы, особенно водные, необходимы как для выявления действия малых доз ионизирующих излучений на биотическую среду, так и для уточнения существующих предельно допустимых концентраций. Отмеченное соображение побудило нас поставить опыты по выявлению влияния различных концентраций S^{35} (по радиоактивности), в том числе предельно допустимой, на размножение одного из массовых видов черноморских одноклеточных планктонных водорослей — *Prorocentrum micans* Ehr.

Радиоактивная сера образуется в почве и водоемах при ядерных взрывах и эксплуатации реакторных установок как наведенная радиоактивность согласно реакциям:



В наших опытах было предусмотрено 10 повторностей каждой концентрации излучателя и контрольных сосудов. Эксперименты ставились в осеннее время. В качестве сосудов использовались чашки Бовери с 10 мл раствора Аллена и Нельсона в каждой. Чашки покрывались стеклянными крышками и помещались в условиях равномерного освещения. Исследуемые водоросли предохранялись от прямого солнечного света. В каждую чашку Бовери вводилось по 30 клеток. Контроль был двух типов. Одним из них (K_1) служил раствор Аллена и Нельсона. В другом контроле (K_2) к этому раствору добавлялось по 8,43 мг сульфата натрия на чашку, т. е. столько же, сколько стабильной соли было в каждой чашке с максимальной концентрацией радиоизотопа. В опытные сосуды вносился меченный по сере сульфат натрия в концентрациях из расчета $8 \cdot 10^{-6}$, $8 \cdot 10^{-4}$, $8 \cdot 10^{-3}$ Cu/l . К концу опыта активность уменьшилась на 24% в результате радиоактивного распада. Внесение изотопа и стабильного сульфата натрия производилось в 0,1 мл дистиллированной воды на чашку.

При взятии проб применялась следующая методика. Для того, чтобы добиться равномерного распределения клеток в сосуде, содержимое чашки Бовери три раза переливалось в бюкс и обратно, затем перемешивалось штемпель-пипеткой и бралось по 0,1 мл жидкости на счетное стекло. На каждую концентрацию и контроль приходился отдельный бюкс. Учет числа водорослей производился под стереомикроскопом. Пробы брались на 7, 21 и 35-е сутки от начала опыта. Каждый раз счет начинался с контролей (K_1 и K_2), переходя от наименьшей концентрации к наибольшей. После каждой пробы штемпель-пипетка дезактивировалась.

Статистическая обработка данных производилась по методу Р. А. Фишера (1958).

В табл. 1 приведены данные по нарастанию численности клеток в каждой серии.

Таблица 1

Изменение биомассы водорослей в контрольных и опытных условиях

Концентрация излучателя, Си/л	Время от начала опыта, сутки					
	7		21		35	
	число клеток в чашке	процент к исходному количеству	число клеток в чашке	процент к исходному количеству	число клеток в чашке	процент к исходному количеству
K_1	290 ± 40	360	940 ± 100	1170	3060 ± 360	3600
K_2	380 ± 40	475	910 ± 160	1140	2400 ± 230	3000
$8 \cdot 10^{-6}$	340 ± 80	425	1750 ± 130	2190	3550 ± 430	4440
$8 \cdot 10^{-5}$	330 ± 70	412	860 ± 80	1075	830 ± 160	1040
$8 \cdot 10^{-4}$	240 ± 60	300	740 ± 110	925	520 ± 140	650
$8 \cdot 10^{-3}$	160 ± 20	200	330 ± 70	412	270 ± 120	338

В контрольных условиях за период опыта произошло увеличение числа клеток в 30—40 раз, причем нарастание количества водорослей шло непрерывно. То же самое относится и к случаю деления клеток под действием минимальной концентрации излучателя. В остальных случаях прирост числа особей наблюдался лишь до трех недель. В дальнейшем количество водорослей перестало увеличиваться, а при наибольших концентрациях даже уменьшилось.

Материал для оценки различий между опытными сериями и контролем содержится в табл. 2.

Прежде всего, следует отметить отсутствие влияния внесенной концентрации стабильной соли на ход деления водоросли на протяжении всего опыта ($P = 0,2$). Это значит, что в чашках с излучателем не накладывается действие за счет стабильного сульфата натрия, а весь эффект целиком обязан результатам взаимодействия бета-излучения с биосубстратом клеток водоросли.

В течение первой недели не обнаруживается достоверного различия между контролем и опытом, за исключением серии с максимальной концентрацией. Через три недели от начала эксперимента наблюдается достоверная

Влияние различных концен

Время от начала опыта, сутки	Концентрация					
	K_2			$8 \cdot 10^{-4}$		
	процент к контролю K_1	t	P	процент к контролю K_1	t	P
7	131	1,311	0,2	117	0,577	0,6
21	97	1,284	0,2	186	4,861	$< 0,01$
35	78	1,541	0,15	116	0,453	0,7

($P < 0,01$) стимуляция размножения при наименьшей концентрации излучателя (186% от контроля) и достоверное угнетение ($P < 0,01$) при наибольшей (35% от контроля). Действие промежуточных доз не отличается от контроля. После пяти недель последние, как и максимальная, оказались также угнетающими. Число клеток в условиях минимальной концентрации излучателя реально не превышает количество водорослей в контроле ($P = 0,7$).

На рисунке наиболее близко на протяжении всего опыта расположены теоретическая и контрольные кривые. Теоретическая зависимость вычислялась на основе увеличения численности водорослей в результате деления по уравнению

$$N_t = N_0 e^{\frac{t}{\tau} \lg 2},$$

где $N_0 = 80$; t — время в сутках; τ — период деления, вычисляемый по формуле $\tau = \frac{\Delta t \lg 2}{\lg N_2 - \lg N_1}$.

Период деления клеток является инвариантой в течение опыта, равной 8,2 суток. Это позволяет, хотя бы в первом приближении, установить, в каком поколении водорослей проявляется биологическое действие при непрерывном облучении. Оказывается, первое поколение в опытных условиях не проявляет признаков задержки или ускорения деления, исключая максимальную концентрацию. В третьем поколении обнаруживается выраженная стимуляция размножения водорослей при минимальной дозе. При остальных дозах клетки утрачивают способность к делению и последующего, четвертого поколения не появляется, тогда как в контрольных сосудах деление продолжается в прежнем темпе. В случае минимальной дозы темп деления четвертого клеточного поколения падает, и общая численность водорослей приближается к биомассе в контроле.

Явления стимуляции клеточного деления под влиянием как внешнего облучения ионизирующей радиацией, так и инкорпорированных радиоизотопов, описаны для пресноводного микроперифитона, почвенной микрофлоры (Тимофеев-Ресовский, Порядкова, Сокурова и Тимофеева-Ресовская, 1957), инфузорий (Daniel a. Park, 1953), золотистого стафилококка (Andreoni, Lupo a. Pisani, 1950).

Общая картина хода лучевого поражения клеток водорослей в наших опытах весьма напоминает кинетику радиационного последствия, обнаруженную В. И. Корогодиным у облученных гамма-лучами дрожжевых клеток (1958). В том и в другом случае наблюдается значительная устойчивость первого деления и большая радиочувствительность 3—5 поколения. Интересно отметить, что явления отдаленной — в 5—10-ом поколении — гибели

Таблица 2

траций S^{35} на размножение водорослей

S^{35} , Cu/л								
$8 \cdot 10^{-5}$			$8 \cdot 10^{-4}$			$8 \cdot 10^{-3}$		
процент к контролю K_1	t	P	процент к контролю K_1	t	P	процент к контролю K_1	t	P
114	0,524	0,6	83	0,687	0,5	55	3,367	$< 0,01$
92	0,606	0,5	79	1,338	0,2	35	5,107	$< 0,01$
27	4,621	$< 0,01$	17	6,547	$< 0,01$	9	23,415	$< 0,01$

облученных одноклеточных организмов описаны рядом исследователей (Bridgman a. Kimball, 1954; Friedrich-Frekса u. Kondewits, 1951).

Биофизический анализ различных сторон лучевого воздействия на клетку, выполненный Н. В. Тимофеевым-Ресовским (1956), хорошо объясняет отмеченную нами динамику радиационного последствия у *Parosentrum*

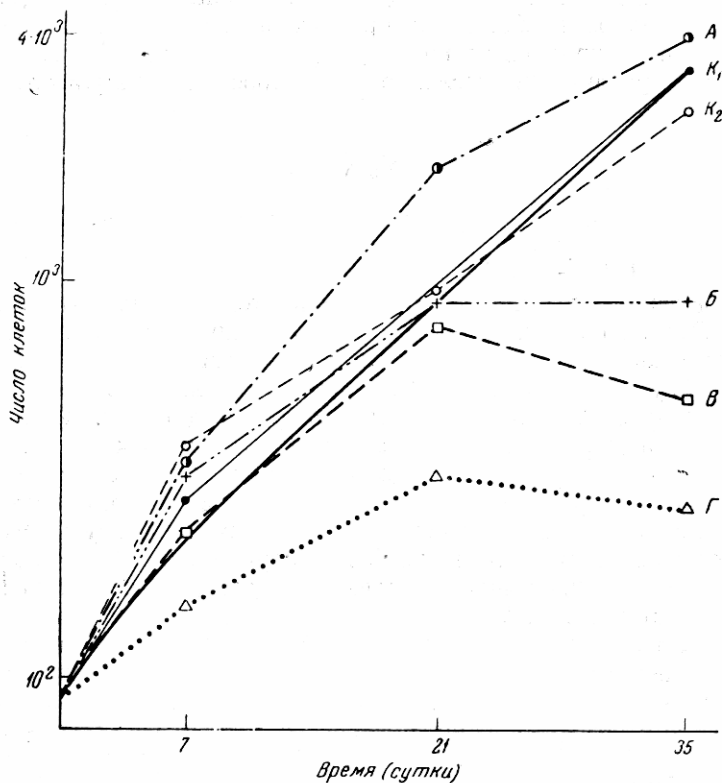


Рис. Изменение числа клеток водоросли во времени

K_1 и K_2 — контроль; А, Б, В, Г — опытные серии с концентрациями излучателя соответственно $8 \cdot 10^{-6}$, $8 \cdot 10^{-5}$, $8 \cdot 10^{-4}$, $8 \cdot 10^{-3}$ Си/л. Жирная сплошная линия — теоретическая кривая

micans, обусловленную облучением бета-частиц низкой энергии. Действительно, если, как достоверно установлено в цитированных выше исследованиях (Тимофеев-Ресовский, Порядкова, Сокурова и Тимофеева-Ресовская, 1957), жесткое бета-излучение заметно стимулирует деление клеток (до 800%), то мягкое бета-излучение занимает промежуточное положение между бета-частицами высокой энергии и альфа-частицами, оказывающими лишь угнетающее воздействие (Тимофеев-Ресовский, 1956). По нашим данным, стимуляция размножения излучениями радиоактивной серы составляет 186%, тогда как угнетающее действие быстро усиливается с увеличением концентрации излучателя и падает до 9% от контроля при максимальной концентрации. Следует отметить, что бета-излучение S^{35} может ускорять темп деления парameций на 200% (Daniel a. Park, 1953).

В дальнейшем необходимо проследить действие этой и меньших концентраций на большее число поколений изучавшейся водоросли с целью

установления возможных более поздних эффектов облучения, а также выявить изменение радиорезистентности в зависимости от состояния клеток в различные сезоны.

ВЫВОДЫ

1. Мягкое бета-излучение с энергией 0,169 мэв обладает как стимулирующим (при концентрации S^{35} в воде порядка 10^{-6} Си/л), так и в особенности угнетающим (при больших концентрациях) действием на размножение мас-совой морской одноклеточной водоросли *Prorocentrum micans*.

2. Радиационное последствие проявляется, по-видимому, главным образом в третьем поколении, причем при концентрации S^{35} 10^{-5} Си/л и выше клетки утрачивают способность к делению до конца опыта, т. е. до пятого поколения включительно.

ЛИТЕРАТУРА

- Корогодин В. И. 1958. Формы инактивации дрожжевых клеток ионизирующей радиацией.— Биофизика, т. 3, вып. 2.
- Рекомендации международной комиссии по защите от излучений. 1958. ИЛ., М.
- Тимофеев-Ресовский Н. В. 1956. Биофизическая интерпретация явлений радиостимуляции растений. Биофизика, т. 1, вып. 7.
- Тимофеев-Ресовский Н. В., Порядкова Н. А., Сокурова Е. Н. и Тимофеева-Ресовская Е. А. 1957. Работы по экспериментальной биогеоценологии. I. Влияние излучателей на биомассу и структуру наземных, почвенных и пресноводных биоценозов.— Труды Ин-та биологии УФ АН СССР, вып. 9. Свердловск.
- Фишер Р. А. 1958. Статистические методы для исследователей. Госстатиздат, М.
- Andreoni G. O., Lupo M., Pisani G. 1950. Roentgen stimulation du development des cultures.— J. Radiol., Electrol., v. 31.
- Bridgman J., Kimball R. F. 1954. The effect of x-rays on division rate and survival of *Tillina magna* and *Colpoda* sp. with an account of delayed death.— J. cell compar. physiol., v. 44, N 3.
- Daniel G. E., Park H. D. 1953. The influence of small doses of x- and β -rays on reproduction of paramecium.— Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., v. 83, N 4.
- Friedrich-Freksa H. u. Kondewits F. 1951. Letale spätfolgen nach Einbau von P^{32} in *Amoeba proteus* durch genetische Untereinheiten.— Z. Naturforsch., Bd. 86, N 7.