

НЕКОТОРЫЕ КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИЗЛУЧЕНИЯ РАЗНОГО КАЧЕСТВА НА ХЛОРЕЛЛУ

Выявлены некоторые закономерности действия редко- и плотноионизирующего излучения на клетки хлореллы, облученной в разных стадиях роста. Обнаружены разные типы гибели клеток – как без деления, так и после первого или второго деления. Количественное соотношение типов инактивации менялось как с увеличением дозы облучения, так и с изменением вида излучения.

Ключевые слова: гамма-кванты, альфа-частицы, относительная биологическая эффективность, формы гибели клеток.

Виявлено деякі закономірності дії рідко- і міцноіонізуючого випромінювання на клітини хлорели, опроміненої в різних стадіях росту. Виявлено різні типи загибелі клітин – як без поділу, так і після першого або другого поділу. Кількісне співвідношення типів інактивзації змінювалося як зі збільшенням дози опромінення, так і зі зміною виду випромінювання.

Ключові слова: гамма-кванти, альфа-частинки, відносна біологічна ефективність, форми загибелі клітин.

Revealed some patterns of the rare and densely-radiation on cells of Chlorella irradiated in various stages of growth. Found different types of cell death – both non-dividing, and after the first or second division. The quantitative ratio of both types of inactivation varied with increasing radiation dose, and change the type of radiation.

Key words: gamma rays, alpha particles, the relative biological effectiveness, the forms of cell death.

В результате первых исследований радиобиологов [1], было установлено, что ионизирующие излучения – мощный фактор воздействия на рост, развитие и обмен веществ живых организмов. Действие на организм гамма-излучения подобно действию других видов ионизирующих излучений. Оно может вызывать лучевое поражение организма, вплоть до его гибели. Характер влияния гамма-излучения зависит от энергии гамма-квантов и пространственных особенностей облучения, например, внешнего или внутреннего. Под влиянием гамма-облучения у растений, животных или микроорганизмов меняется слаженный обмен веществ, ускоряется или замедляется (в зависимости от дозы) течение физиологических процессов, наблюдаются сдвиги в росте, развитии [2].

Возникновение у растений под влиянием ионизирующего излучения всякого рода аномалий, уродств обусловлено в большинстве случаев тем, что клетки образовательных тканей отдельных участков в силу тех или иных причин теряют способность к делению [2]. Было показано, что плотноионизирующие излучения, характеризующиеся более высокими значениями линейных потерь энергии (ЛПЭ), были более эффективными по многим показателям [8; 9]. Многими авторами получена уникальная информация

о мутагенных и летальных эффектах высоких доз внешнего облучения, продуктов ядерного деления ^{235}U , неорганических и органических соединений в модельных растворах, компонентов природных и промышленных вод на водоросли различного происхождения [4-6]. Широкий ареал распространения, присутствие как в водоемах, так и почвах сделало хлореллу удобным объектом биологического мониторинга состояния природных экологических систем [7]. Жизненный цикл хлореллы подробно описан В. А. Шевченко [4]. Но радиобиологические характеристики этого объекта изучены недостаточно полно. Поэтому представляло интерес выявить некоторые закономерности действия ионизирующего излучения разного качества на клетки хлореллы, облученные на разных стадиях роста.

Материалы и методы

В качестве объекта исследований выбрана одноклеточная зеленая водоросль *Chlorella vulgaris*. Облучение суспензии клеток проводили гамма-квантами ^{60}Co на установке «Исследователь» (мощность дозы – 28,3 Гр/мин, ЛПЭ = 0,2 кэВ/мкм). Из-за малого пробега альфа-частиц клетки хлореллы подвергали воздействию плотноионизирующего излучения

следующим образом. Небольшую каплю суспензии (0,1 мл) концентрацией 2×10^6 кл/мл помещали на поверхность голодного агара, после чего жидкая среда выпаривалась, а оставшийся монослой клеток подвергался воздействию альфа-частиц ^{239}Pu (мощность дозы – 270 Гр/мин, ЛПЭ = 120 кэВ/мкм).

В задачи исследования входило изучение закономерностей действия ионизирующего излучения на культуру хлореллы, облучаемой в разных стадиях роста. Для этого нами была проведена оценка времени выхода клеток хлореллы на разную стадию роста при оптимальных условиях культивирования. Выявлено, что при оптимальных условиях культивирования клетки выходят на стационарную фазу на 8 сутки (концентрация клеток составляла 10^8).

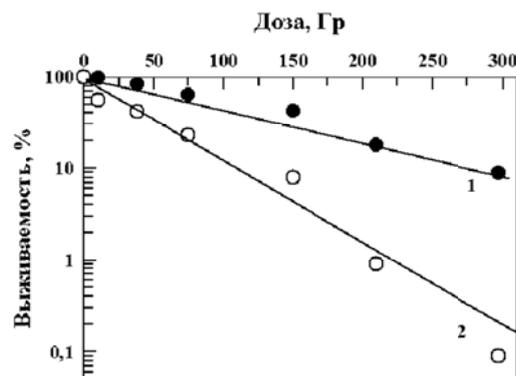
Для облучения клеток в логарифмической стадии роста хлореллу культивировали в жидкой среде Тамия следующего состава: KNO_3 – 5,0; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 2,5; KH_2PO_4 – 1,25, сульфат железа или FeSO_4 – 0,003 г/л при постоянном перемешивании в течение 2-3 суток. Для протококковых водорослей, к которым относится хлорелла, эта питательная среда считается [7] наиболее пригодной. Питательная среда и раствор всех солей готовятся на дистиллированной воде и не подвергаются стерилизации. Для избежания образования осадка навеску каждого вещества сначала растворяют в небольшом количестве воды, а затем растворы сливают вместе в указанной выше последовательности и доливают воду до соответствующего объема. Перед внесением водорослей приготовленная среда разбавляется в два раза дистиллированной водой. Нарращивание культуры водоросли производилось в специально разработанном для этих целей многокуветном культиваторе КВМ-05. Засев водоросли производится с начальной плотностью 0,1-0,15 единиц оптической плотности (Р), значение которой постоянно регистрируется в процессе культивирования измерителем плотности суспензии ИПС-

03. Для достижения стационарной стадии роста клетки наращивали на питательной среде указанного состава в специальном культиваторе КВМ-05 в течение 6 суток. Облучение клеточной суспензии гамма-квантами проводили на 7 сутки после культивирования. Специальные опыты показали, что облучение клеток в виде суспензии или монослое клеток приводило к идентичным результатам.

После облучения клетки высевали на предметные стекла в слой голодного агара. Действие излучения оценивали по выживаемости и типам инактивации клеток методом микроколоний. Выживаемость определялась по количеству клеток, сохранивших способность к делению относительно контрольного образца. Выжившими для репродуктивной формы гибели считали клетки, образовавшие микроколонии из 10 и более клеток. Для теста гибель клеток без деления – погибшими считали клетки, не поделившиеся ни одного раза, а выжившими – клетки, поделившиеся за 6 часов хотя бы один раз.

Результаты и обсуждение

На рис. 1 представлены кривые зависимости выживаемости клеток хлореллы, облученных в логарифмической стадии роста, от продолжительности облучения разными видами излучений. На рис. 1 кривая 1 получена сразу после облучения клеток γ -квантами, а кривая 2 – после облучения альфа-частицами. Видно, что выживаемость хлореллы, облученной альфа-частицами, ниже, чем клеток, облученных такой же дозой гамма-квантов. Поскольку кривые выживаемости после обоих видов излучения были экспоненциальными, значение относительной биологической эффективности (ОБЭ), определяемых отношением изоэффективных доз на кривых выживаемости после гамма- и альфа-облучения, не зависело от уровня выживаемости, для которого оно рассчитывалось. В данном случае ОБЭ альфа излучения равна 3.



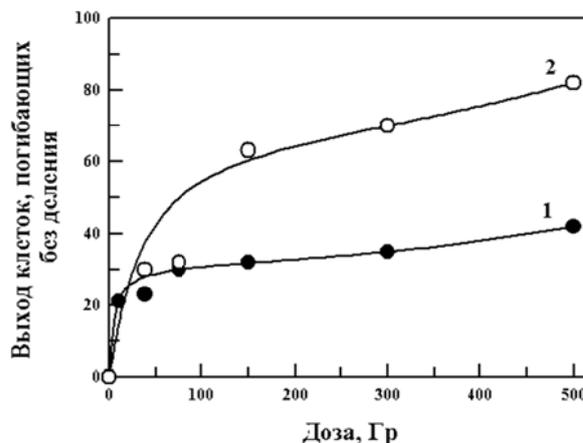
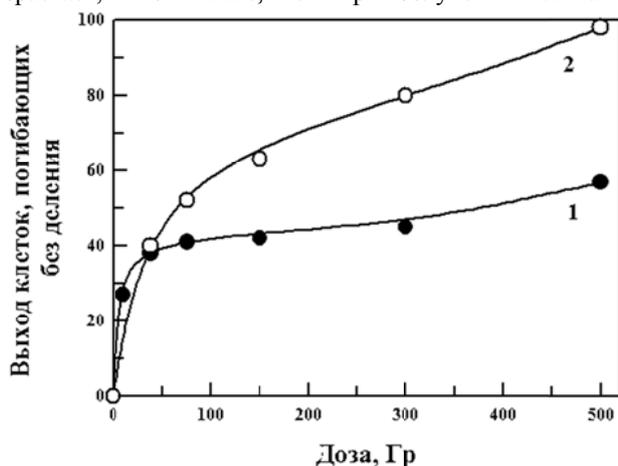
На рис. 2 и 3 представлены зависимости типов поражения клеток хлореллы, облученных в логарифмической (рис. 2) и стационарной (рис. 3) стадиях роста, от дозы ионизирующего излучения. Видно, что и в первом и во втором случаях, при облучении хлореллы альфа-частицами выход клеток, погибающих без деления, резко возрастает, причем выход этих повреждений больше для плотноионизирующего, чем редкоионизирующего излучения.

Кроме того, обнаружены разные типы гибели клеток, – как без деления, так и после первого или

второго деления. Количественное соотношение типов инактивации менялось с увеличением дозы облучения. Так, при дозах от 10 до 50 Гр преобладала гибель после второго деления, а при дозах от 100 до 300 Гр – гибель клеток до деления. Это согласуется с данными, полученными ранее другими исследователями [7; 8], показавшими, что при облучении хлореллы редкоионизирующим излучением гибель после первой споруляции преобладала вплоть до дозы в 250 Гр. Таким образом показано, что ОБЭ плотноионизирующего излучения для хлореллы равна 3. При

облучении хлореллы альфа-частицами выход клеток, погибающих без деления, с увеличением дозы резко возрастает, и он выше, чем при облучении гамма-

квантами. При этом аналогичные эффекты наблюдаются при облучении хлореллы как в логарифмической, так и в стационарной фазах роста.



ЛІТЕРАТУРА

1. Ярмоненко С. П. Радиобиология человека и животных / С. П. Ярмоненко, А. А. Вайнсон. – М. : Высшая школа, 2004. – 549 с.
2. Капульцевич Ю. Г. Количественные закономерности лучевого поражения клеток / Ю. Г. Капульцевич. – М. : Атомиздат, 1978. – 230 с.
3. Гродзинский Д. М. Защита растений от лучевого поражения / Д. М. Гродзинский, И. Н. Гудков. – М., Атомиздат, 1973. 232 с.
4. Шевченко В. А. Радиационная генетика одноклеточных водорослей / В. А. Шевченко. – М. : Наука, 1979. – 256 с.
5. Wong M. H. Effects of cobalt and zinc to *Chlorella pyrenoidosa* in soft and hard water / M. H. Wong // Microbiosis. – 1980. – V. 28. – P. 19–25
6. Жмур Н.С. Методика определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водоросли / Н. С. Жмур, Т. Л. Орлова / Федеральный реестр. Фр. 1.39.2001.00284. – М. : «Акварос», 2001. – 44 с.
7. Соколов М. С. Биогеоэкологические критерии экологического нормирования / М. С. Соколов, О. Д. Филипчук, Л. В. Цаценко // Сельскохозяйственная биология. – 1998. – № 3. – С. 3–24.
8. Векшина Л. К. Влияние плотниоизирующей радиации на хлореллу / Л. К. Векшина, И. С. Сакович, В. А. Шевченко // Радиобиология. – 1974. – Т. XIV, Вып. 3. – С. 386–389.
9. Петин В. Г. Сравнительное изучение ОБЭ α -излучения дрожжевых клеток в различных стадиях роста / В. Г. Петин, Н. М. Кабакова // Радиобиология. – 1977. – Т. XVII, Вып. 1. – С. 31–36

Рецензенти: **Петін В. Г.**, д.мед.н., професор;
Жураковська Г. П., д.мед.н., пров. наук. співробітник.

© Ляпунова О. Р., Комарова Л. М., 2012

Дата надходження статті до редколегії: 19.04.2012 р.

ЛЯПУНОВА Олена Романівна – аспірант Обнінського інституту атомної енергетики – філії Національного ядерного університету МІФІ.

Коло наукових інтересів: закономірності комбінованої дії рідко- і міцноіонізуючого випромінювання на рослини.

КОМАРОВА Людмила Миколаївна – д.б.н., професор Обнінського інституту атомної енергетики – філії Національного ядерного університету МІФІ.

Коло наукових інтересів: закономірності комбінованої дії іонізуючого випромінювання з іншими факторами навколишнього середовища, вивчення процесів відновлення клітин після комбінованих впливів.