

Summary

The present work concludes the study on the electric map of the plant organism in ontogenesis. The applied portion comprised the development electrophysiologic techniques of traits (tomato marker forms), total combining capacity (maize stocks) thermoresistance (maize stocks and hybrids), unspecific ecological resistance (wild, ancestor and cultivated forms of tomato and maize) competing capacity (maize stocks and hybrids). The electrophysiologic express-methods of stimulation modes of presowing treatment of farm plant seeds by physical factors (γ and laser irradiation) are elaborated. The effects of the stimulation of plant growth, development and productivity when a weak electrical current is allowed to pass through the plants according to their native and optimized electrophysiologic polarity, as well as when the plants are exposed to outer periodic factors at the resonancing frequency of the endogenic oscillations of plant bioelectric potentials, have been discovered. The results presented in previous papers regarding the problems of the plant electric map (I-III) are generalised. The identification of the energy-information canal geometry, the evidence of the constant electric activity presence, the matrix principle of the electrophysiologic stereopolarity formation, the presentation of the plant electric map as its energy-information "image" transmitted to a distance and the electrophysiologic oscillator as a "wave gene", the capacity of electric signals to transmit the information about the stereospecific structure of the objects and their other problems have been underlined among the key ones.

И.О. Растимешина

УСТОЙЧИВОСТЬ *STREPTOMYCES CANOSUS* 71 К ВОЗДЕЙСТВИЮ КОМБИНИРОВАННОГО ОБЛУЧЕНИЯ

*Институт микробиологии АН Молдовы,
ул. Академией, 1, Кишинев, Молдова, MD – 2028*

Введение

В последнее время ведется широкий поиск физических и химических факторов, усиливающих реакцию клеток на облучение ионизирующей радиацией [1–3]. Исследование закономерностей модификации радиобиологических реакций важно и в теоретическом аспекте при интерпретации полученных данных и выявлении первичных механизмов действия [4].

Для получения любого типа мутаций необходимо подобрать оптимальную дозу излучения, дающую высокий процент выхода мутантов при относительно высокой выживаемости облучаемого организма. Необходимость выбора оптимальной дозы требует предварительного анализа летального и мутагенного действия излучений. При этом установление зависимости выживаемости и частоты мутаций от дозы излучений дает ценную информацию об организации генетического аппарата клетки, характере действия мутагена и работе репарационной системы клетки [5].

Анализ радиочувствительности бактерий представляет интерес не только потому, что позволяет объяснить механизмы потери или приобретения устойчивости к действию радиации, но и потому, что на его основе могут быть сделаны определенные выводы относительно общности и различий в механизмах действия ультрафиолетовой (УФ) и проникающей радиации [6, 7].

Целью данной работы было изучение устойчивости стрептомицета *Streptomyces canosus* 71 к γ - и УФ- облучению, а также к комбинированному воздействию этих факторов.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования являлся стрептомицет *Streptomyces canosus 71* из Национальной коллекции микроорганизмов АН Молдова.

В качестве мутагенных факторов использовали γ - и УФ-лучи. γ -облучение проводилось в Институте генетики АН Молдовы на радиационно-химической установке РХМ- γ -20 с активностью 12750 Кюри и мощностью 0,67 Гр/с. Источником γ -лучей являлся радиоактивный Co^{60} . Дозы γ -облучения составляли 200, 400, 600, 800 и 1000 Гр.

Обработку культуры ультрафиолетовым излучением проводили на установке, дающей УФ-лучи с длиной волны 260 нм, в дозах 300, 900, 1800, 3600, 5400 и 7200 эрг/мм².

Для проведения комбинированного облучения были выбраны две дозы γ -излучения (800 и 1000 Гр) и три дозы УФ-излучения (1800, 3600 и 5400 эрг/мм²). Исследуемую культуру обрабатывали γ -, а затем УФ-лучами в указанных дозах.

Облучению подвергали водную суспензию воздушных спор стрептомицета, которую готовили по методике Кузнецова [8]. После облучения суспензию рассеивали на плотную среду Чапека с глюкозой и на 7–10 сутки учитывали выживаемость и морфологическую изменчивость.

Выживаемость спор определяли визуально путем подсчета относительного числа колоний, образованных выжившими после обработки спорами. Мутагенный эффект облучения определяли по появлению морфологических мутаций.

Результаты исследований и обсуждение.

В результате изучения морфологической изменчивости *Streptomyces canosus 71* на среде Чапека с глюкозой обнаружено 3 типа колоний: I – круглые, $d = 4–5$ мм, воздушный мицелий белый, в центре аспорогенный кратер (1,5–2 мм), II – круглые, $d = 2,5–3$ мм, воздушный мицелий белый, в центре выпуклые, III – карликовые, $d = 0,5–1$ мм. Вариант I преобладал в популяции (69,77–78,2%).

Использование мутагенных факторов привело к увеличению количества морфологически измененных вариантов и появлению новых форм. После обработки спор стрептомицета γ - и УФ-лучами в популяции было выявлено 12 типов колоний, различающихся размером, формой, цветом воздушного мицелия и степенью его образования. Применяя классификацию и терминологию Кузнецова [9], их можно сгруппировать в 4 варианта и 8 подтипов варианта IV (альтерколерного).

Результаты исследований показывают, что при сочетании действий двух факторов (γ - и УФ-лучей) частота морфологически измененных форм возрастает по сравнению с частотой этих форм, возникших от действия одних только УФ- или γ -лучей. Так, после γ -облучения у *S. canosus 71* было выявлено 8, а после УФ-облучения – 7 типов колоний. В результате комбинированного облучения были получены 10 типов колоний, 4 из которых ранее не встречались; тогда как колонии VII и VIII типов, появившиеся после обработки штамма γ - и УФ-лучами в отдельности, не были обнаружены в популяции стрептомицета после комбинированного воздействия этих факторов.

Обычно частота морфологических мутаций, индуцируемая только УФ-лучами, достигнув пика на определенном уровне гибели спор, начинает падать [10]. Этот же эффект наблюдался в наших опытах и для γ -облучения (рис. 1). Однако при сочетании действий γ - и УФ-лучей частота морфологически измененных форм не только не падает, но и намного превосходит частоту мутаций, вызванную одними лишь УФ-лучами (рис. 2), что согласуется с литературными данными, полученными для комбинации УФ-лучей и химических мутагенов [11]. Нашими исследованиями было обнаружено, что при используемых дозах γ -излучения от 200 до 1000 Гр зависимость выживаемости спор *S. canosus 71* от дозы выражена в форме сигмоидной кривой, которая может быть интерпретирована как многоударная, то есть гибель клетки вызвана поражением нескольких чувствительных участков, либо существует некоторая гетерогенность по радиочувствительности в популяции клеток (рис. 3). Сходный результат был получен при обработке данной культуры высокими дозами γ -излучения [14].

Было обнаружено, что при используемых дозах УФ-облучения до 7200 эрг/мм² зависимость гибели клеток от дозы носит экспоненциальный характер. Как видно из рис. 4,а, выживаемость штамма довольно низкая при малых дозах облучения.

Изучение летального эффекта комбинированного облучения показало, что гибель спор изучаемого штамма при сочетании действий γ - и УФ-лучей возрастает по сравнению с гибелью спор при воздействии одного лишь УФ-излучения (рис. 4,б). При сочетании УФ-облучения с γ -облучением в дозе 1000 Гр отмечено более резкое убывание количества выживших клеток *S. canosus 71*, чем для дозы 800 Гр.

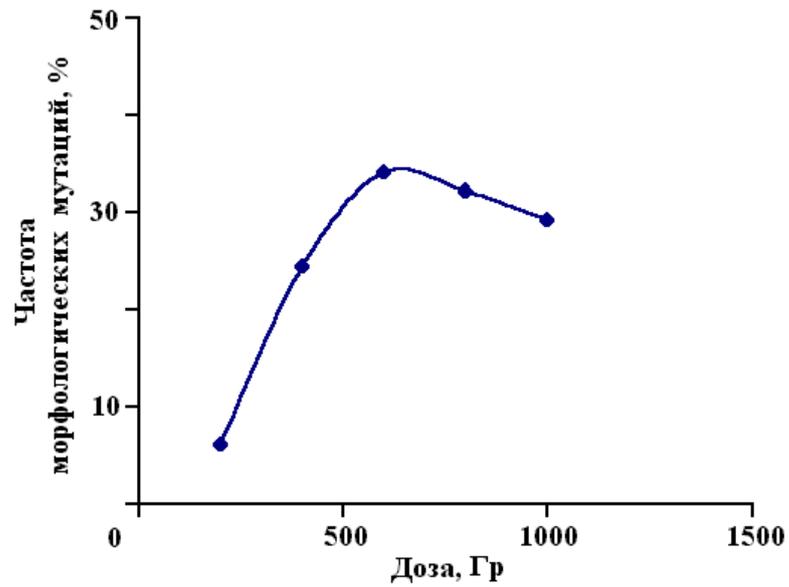


Рис. 1. Зависимость частоты морфологических мутаций в клетках *S. canosus* 71 от дозы γ -облучения.

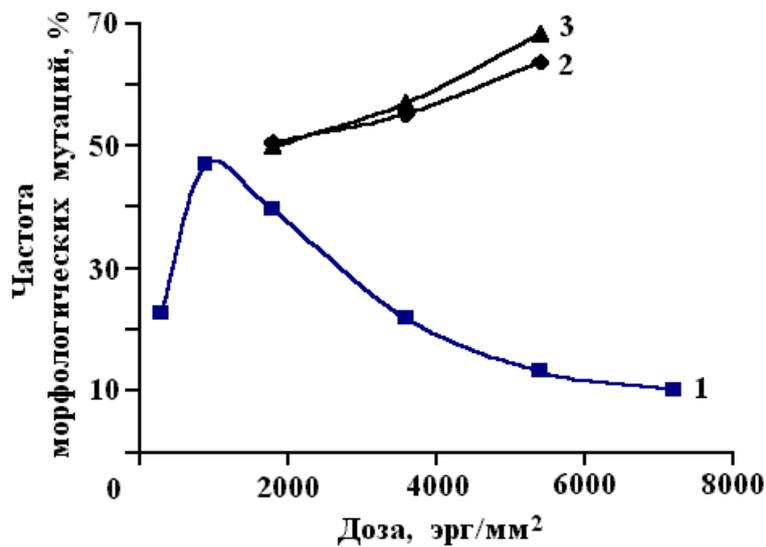
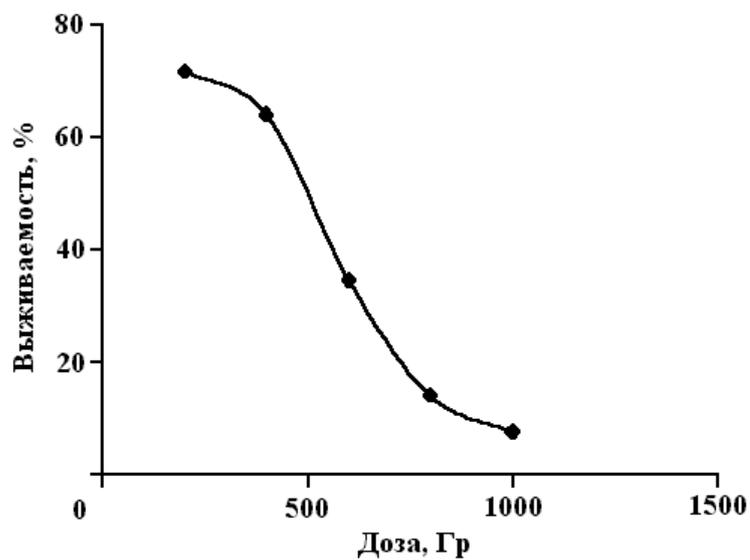


Рис. 2. Зависимость частоты морфологических мутаций в клетках *S. canosus* 71 от характера и дозы облучения. 1 – УФ-лучи; 2 – γ - (в дозе 800 Гр) + УФ-лучи; 3 – γ - (в дозе 1000 Гр) + УФ-лучи.



а

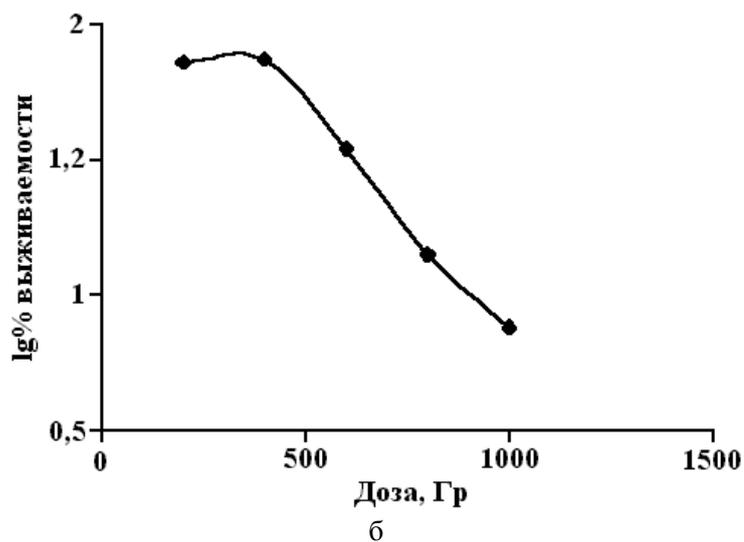


Рис. 3. Зависимость выживаемости (а) и логарифма выживаемости (б) спор *S. canosus* 71 от дозы γ -облучения.

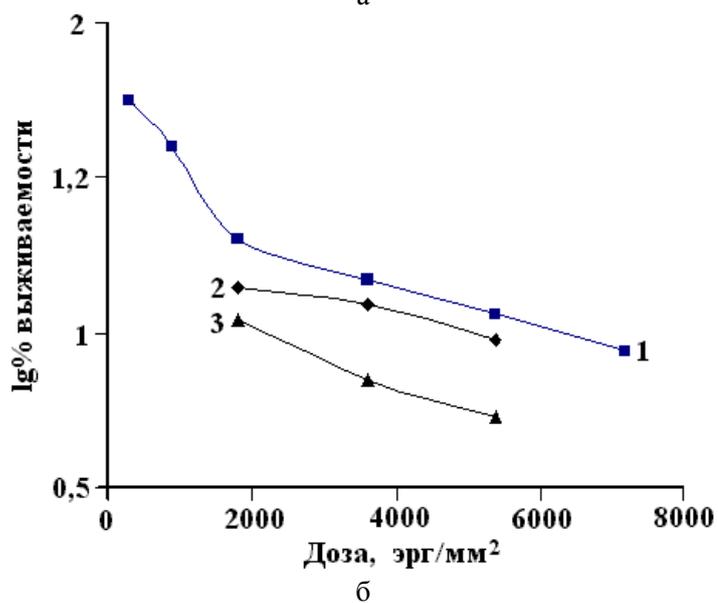
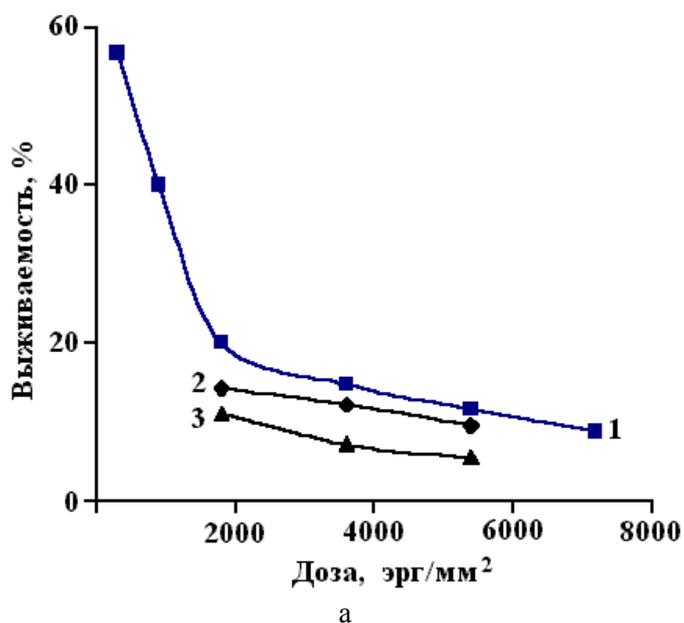


Рис. 4. Зависимость выживаемости (а) и логарифма выживаемости (б) спор *S. canosus* 71 от характера и дозы облучения. 1 – УФ-лучи; 2 – γ (в дозе 800 Гр) + УФ-лучи; 3 – γ (1000 Гр) + УФ-лучи.

Известно, что по кривой выживаемости можно оценить дозы, вызывающие гибель любой доли клеток [15]. Данные по выживаемости спор стрептомицета были обработаны при помощи пробит-анализа, в результате были получены значения для летальных доз – LD₁₀, LD₃₇, LD₅₀, LD₉₀.

Из таблицы видно, что при комбинированном воздействии γ - и УФ-лучей на споры стрептомицета летальные дозы обнаруживаются на более низких уровнях облучения. Так, средняя летальная доза LD₃₇ составляет 244,9 эрг/мм², 33,1 эрг/мм² и 24,5 эрг/мм² для УФ-лучей и комбинированного воздействия соответственно. На уровне LD₁₀ различие между летальными дозами значительно, так, величина LD₁₀ для УФ-облучения в 19–22 раза превосходит эту величину для комбинированного облучения. На уровне LD₉₀ величина летальной дозы УФ-облучения превышает таковую для комбинированного воздействия лишь в 1,7–3,1 раза.

Летальные дозы радиации у Streptomyces canosus 71 при γ -, УФ-облучении и комбинированном воздействии

Летальные дозы	Тип облучения			
	γ -облучение, Гр	УФ-облучение, эрг/мм ²	Комбинированное воздействие	
			УФ (эрг/мм ²)+ + γ (800 Гр)	УФ (эрг/мм ²)+ + γ (1000 Гр)
LD ₁₀	245,5	34,7	1,8	1,5
LD ₃₇	407,4	244,9	33,1	24,5
LD ₅₀	467,7	457,1	83,2	56,2
LD ₉₀	901,6	6456,5	3715,4	2187,8

Таким образом, была изучена устойчивость штамма *Streptomyces canosus 71* к воздействию γ -, УФ- и комбинированного облучения. Обнаружено увеличение мутабельности штамма по морфологическим признакам, а также снижение уровня выживаемости стрептомицета под действием комбинированного облучения, по сравнению с γ - и УФ-облучением в отдельности. Различия в летальном действии УФ-лучей в отдельности и в сочетании с γ -лучами относительно штамма *S. canosus 71* резко проявляются в диапазоне низких доз и гораздо менее – при высоких дозах облучения.

Автор выражает благодарность сотруднику Института генетики, к.б.н. И.М. Романовой и сотруднику МолдГУ, к. б. н. М.И. Караману за содействие в проведении эксперимента, а также сотруднику Института микробиологии, к. б. н. С.А. Бурцевой за помощь в подготовке статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жураковская Г.А., Петин В.Г. Влияние мощности дозы на синергизм комбинированного действия ионизирующего излучения и гипертермии // Радиобиология. 1987. Т. 27. Вып. 4. С. 487–492.
2. Юров С.С., Шелкаева Н.В. К вопросу о механизмах синергизма при действии на биологические объекты-радиации и химических веществ // Проблема синергизма в радиобиологии. Мат. всесоюз. конф. Пущино, 1990. С. 53–62.
3. Кару Т.Й., Пятибрат Л.В., Календо Г.С. Влияние излучения He-Ne лазера на выживаемость клеток *HeLa*, подвергнутых действию ионизирующей радиации // Радиобиология. 1992. Т. 32. Вып. 2. С. 202–206.
4. Комаров В.П., Петин В.Г., Скворцов В.Г. Роль последовательности воздействия ультразвука и ионизирующей радиации на выживаемость дрожжевых клеток // Радиобиология. 1981. Т. XXI. Вып. 1. С. 9–13.
5. Ладыгин В.Г., Ладыгина О.Н. Летальное и мутагенное действие γ -излучения на клетки двойных пигментных и нефотосинтезирующих мутантов *Chlamydomonas reinhardtii* // Радиобиология. 1985. Т. XXV. Вып. 2. С. 267–270.

6. Скавронская А.Г. Мутации у бактерий. М., 1967. С. 120–188.
7. Никитин Д.И., Таштемирова М.А., Питрюк И.А., Сорокин В.В., Оранская М.С., Никитин Л.Е. Высокая устойчивость к ионизирующей радиации некоторых олиготрофных бактерий // Микробиология. 1993. Т. 62. Вып. 6. С. 1064–1071.
8. Кузнецов В.Д. Спонтанная изменчивость актиномицетов – продуцентов антибиотиков и стабилизация их биосинтетической активности и таксономических свойств. Автореф. дис. М., 1975.
9. Дриняев В.А., Стерлина Т.С., Березкина Н.Е. и др. Авермектины: естественная изменчивость штамма-продуцента *Streptomyces avermitilis* ВКМ Ас 1301 // Биотехнология. 1993. № 11–12. С. 21–25.
10. Захаров И.А., Кривиский А.С. Радиационная генетика микроорганизмов. М., 1972. С. 150–153.
11. Алиханян С.И. Селекция промышленных микроорганизмов. М., 1968. С. 201–205.
12. Сборник методик по генетике микроорганизмов. М., 1970. С. 20–25.
13. Кудряшов Ю.Б., Беренфельд Б.С. Основы радиационной биофизики. М., 1982. С. 45–56.
14. Растимешина И.О., Рудик В.Ф., Бурцева С.А. Изменение физиолого-биохимических свойств *Streptomyces canosus* 71 под воздействием γ -излучения // Анналы МолдГУ, Кишинев, 1997. С. 127–129.
15. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М., 1985. С. 313–316.

Поступила 16.02.2000

Summary

The resistance of *Streptomyces canosus* 71 against γ -, UV- and combined radiation was studied. Under the combined irradiation the frequency of morphological mutations rose strongly as compared with frequency of morphologically changed forms caused by the γ - and UV- rays. The cell death of *S. canosus* 71 caused by the combined irradiation also increased. Under the influence of combined irradiation the lethal doses were discovered on much lower levels of radiation.
