

Дж. А. ГРИГОРЯН

ЗАВИСИМОСТЬ ТЕПЛОУСТОЙЧИВОСТИ *PARAMECIUM* *CAUDATUM* ОТ РАЗНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ЦИСТЕИНА В СРЕДЕ

За последние годы в литературе появилось много работ по изучению действия разных химических веществ на устойчивость клеток многоклеточных организмов к высоким и низким температурам [1, 2, 3, 9]. Подобного характера наблюдения проводились также на одноклеточных организмах. В настоящее время известно, что изменения в их теплоустойчивости происходят не только при смене температурного режима, но и при действии «нетемпературных» факторов среды [5, 10, 11, 15].

Существует предположение о том, что в устойчивости клеток к высоким и низким температурам большую роль играют серусодержащие вещества в них. Так, при замораживании и при повреждении нагревом у растительных клеток наблюдается снижение содержания SH-групп и эквивалентное повышение SS-групп [16, 17, 18].

В литературе отсутствуют сведения о действии серусодержащих веществ на теплоустойчивость одноклеточных организмов.

Представляло интерес выяснить, оказывает ли какое-либо влияние на теплоустойчивость инфузорий, культивируемых при разных температурах, включение в среду серусодержащего вещества. В качестве такого в настоящей работе была выбрана аминокислота цистеин.

Материал и методика. Исследования проводились на двух клонах (кл. 6 и 7) *Paramecium caudatum*, культивируемых на эквilibрированной солевой среде Лозина-Лозинского [13]. Культуры каждого клона велись при температурах 4—5° («холодные»), 14—15° («средние») и 28—29° («теплые»). При каждой температуре выращивались три линии обоих клонов: в нормальной среде (контрольные линии), в 0,12% (1,2·10³) и в 0,5% (5·10³) растворах цистеина, приготовленных на среде Лозина-Лозинского (опытные линии).

Опытные линии содержались в растворах разных концентраций цистеина не менее чем три недели (первая серия опытов). С целью изучения зависимости теплоустойчивости парамеций от длительности действия разных концентраций цистеина ставились также опыты, в которых инфузорий помещали в растворы цистеина только на время определения теплоустойчивости (II серия опытов). При сравнении результатов двух серий опытов результаты II серии принимались за 100%.

Определение теплоустойчивости проводилось по методике Полянского [14]. Критерием теплоустойчивости служила продолжительность выживания инфузорий при летальной температуре 39°. Результаты опытов обрабатывались статистически. Вычислялось среднее значение времени выживания простейших при летальной температуре и его

ошибка. При сравнении данных различных опытов определялись доверительные границы между двумя средними при уровне значимости 95%, пользуясь формулой для сравнения двух выборок [4].

Опыты с линиями каждого клона повторялись 2—3 раза. В каждом наблюдении регистрировался срок гибели не менее 100 инфузорий.

Результаты опытов приведены в виде графиков, на которых теплоустойчивость контрольных линий принималась за 100%.

Результаты. Влияние цистеина на теплоустойчивость «холодных» линий P. caudatum.

I серия опытов. «Холодные» линии клонов 6 и 7 подвергались действию 0,12 и 0,5% растворов цистеина (рис. 1а).

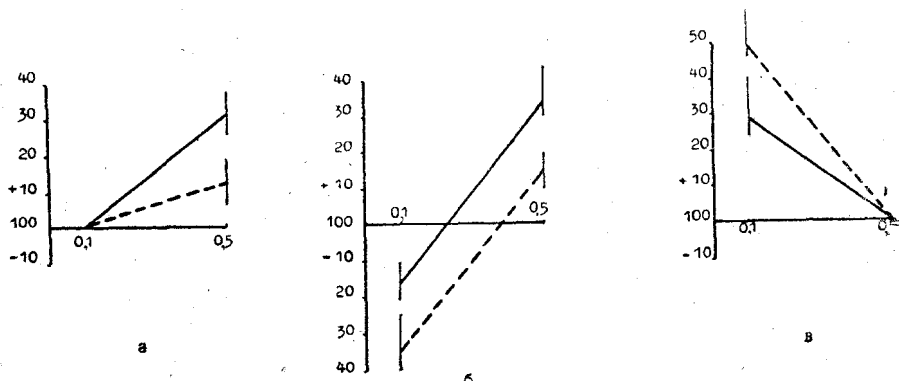


Рис. 1. Влияние цистеина на теплоустойчивость *Paramecium caudatum*, культивируемых при 4—5°C. По оси абсцисс—концентрация цистеина (в %); по оси ординат—изменение времени выживания инфузорий (в % к контролю). А—изменение теплоустойчивости адаптированных к цистeinу линий; Б—изменение теплоустойчивости линий, на которые цистеин действовал лишь в момент определения теплоустойчивости; В—сравнение теплоустойчивости адаптированных к цистeinу линий с таковой линий, подвергнутых действию цистеина. (Время выживания адаптированных линий принималось за 100%). Сплошная линия—клон 6, штриховая линия—клон 7. Вертикальные черточки—95%-е доверительные интервалы средних.

После длительного культивирования в 0,12% растворе у линий клона 6 наблюдается незначительное повышение теплоустойчивости, у линий клона 7 изменения в теплоустойчивости не имеют места.

При длительном действии 0,5% раствора цистеина наблюдается повышение уровня теплоустойчивости у обоих клонов.

II серия опытов. Под влиянием 0,12% раствора цистеина, добавленного в момент испытания теплоустойчивости (рис. 1 б), устойчивость к действию летальной температуры снижается, а 0,5% раствор вызывает резкое повышение теплоустойчивости. В отношении обоих клонов результаты однозначные.

На рис. 1 показаны результаты сравнения теплоустойчивости адаптированных к цистeinу линий с линиями, подвергшимися воздействию его лишь в момент испытания теплоустойчивости. Оказалось, что в процессе адаптации к 0,12% раствору цистеина теплоустойчивость резко по-

вышалась, а при варианте с 0,5% раствором изменений не наблюдалось.

Влияние цистеина на теплоустойчивость «средних» линий P. caudatum.

I серия опытов. «Средние» линии обоих клонов подвергались воздействию 0,12 и 0,5% растворов цистеина в течение трех недель (рис. 2а). Сравнительно низкая концентрация (0,12%) не вызывает каких-либо изменений в теплоустойчивости «средних» линий инфузорий. Адаптация к 0,5% раствору приводит к значительному снижению теплоустойчивости. Результаты у обоих клонов однозначные.

II серия опытов. Кратковременное действие 0,12% раствора цистеина, т. е. добавление его лишь в момент испытания теплоустойчивости, приводит к снижению устойчивости к летальной температуре. Это особенно выражено у линий клона 6. В варианте с 0,5% раствором этот показатель у линий клона 7 падает ниже таковой контроля, а у линий клона 6 он не меняется (рис. 2б).

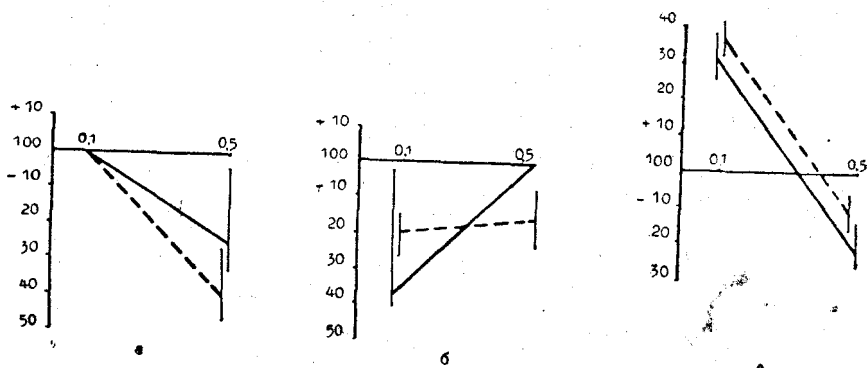


Рис. 2. Влияние цистеина на теплоустойчивость *P. caudatum*, культивируемых при 14—15°C. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

Сравнение первой и второй серий опытов показывает, что в процессе адаптации к 0,12% раствору цистеина теплоустойчивость у обоих клонов повышается, а при адаптации к сравнительно высокой концентрации (0,5%) она падает ниже таковой контроля. У обоих клонов результаты получились сходные (рис. 2в).

Влияние цистеина на теплоустойчивость «теплых» линий P. caudatum.

I серия опытов. «Теплые» линии клонов 6 и 7 подвергались воздействию 0,12 и 0,5% растворов цистеина. При длительном воздействии 0,12% раствора теплоустойчивость «теплых» линий оказывается ниже таковой контрольных, тогда как адаптация к 0,5% раствору повышает теплоустойчивость на 30—40%. Результаты опытов у линий обоих клонов однозначны (рис. 3а).

II серия опытов. Добавление 0,12 и 0,5% растворов цистеина лишь в момент испытания теплоустойчивости приводит к снижению таковой у

«теплых» линий обоих клонов, причем 0,12% раствор снижает ее больше, чем 0,5%. (рис. 3б).

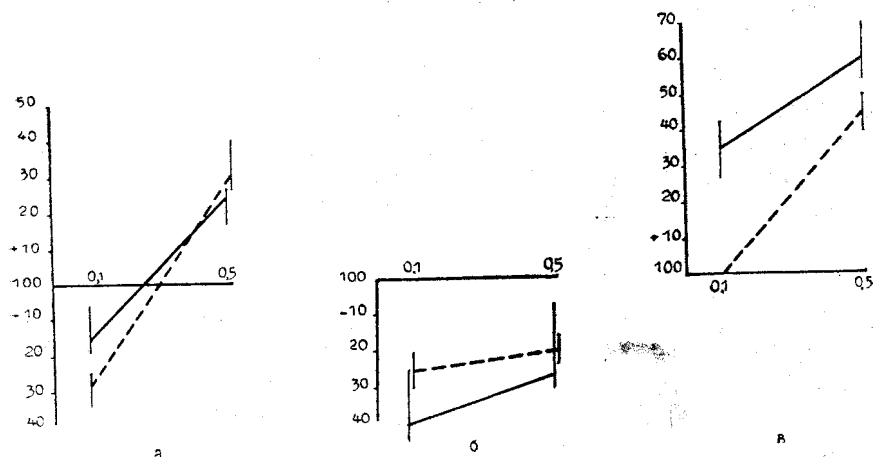


Рис. 3. Влияние цистеина на теплоустойчивость *P. caudatum*, культивируемых при 28—29°C. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

При сравнении этих двух серий оказывается, что адаптация к 0,12% раствору цистеина приводит к повышению теплоустойчивости у линий клона 6, а у линий клона 7 она остается на уровне таковой контроля. Адаптация к 0,5% раствору цистеина вызывает резкое повышение теплоустойчивости у линий обоих клонов (рис. 3в).

Приведенный экспериментальный материал показывает, что действие цистеина вызывает неспецифическое изменение теплоустойчивости *P. caudatum*. Эти изменения зависят от различных одновременно действующих факторов среды, в частности от предшествующего температурного режима культивирования инфузорий. Такую зависимость удалось обнаружить также другим исследователям [6, 10, 11, 12].

Наши опыты показали, что в процессе адаптации к цистеину наибольшее повышение теплоустойчивости наблюдается у линий, адаптированных к крайним температурам культивирования, 4—5° и 28—29° (рис. 1в, 3в).

Большое значение в изменении теплоустойчивости имеет также концентрация цистеина. Так, при крайних температурах культивирования (4° и 28°) сравнительно высокая концентрация (0,5%) больше повышает теплоустойчивость, чем низкая (0,12%).

Имеет значение также продолжительность действия цистеина: при длительном культивировании в нем наблюдается повышение теплоустойчивости инфузорий, тогда как добавление этого агента лишь в момент испытания теплоустойчивости или снижает ее или не вызывает изменений.

Зависимость теплоустойчивости инфузорий от длительности воздействия и от концентрации действующего агента нами было обнаружено также при действии таких агентов, как спирт, мочеви́на, сахароза и т. д. [6—8].

В изменении теплоустойчивости разные клоны ведут себя по-разному. Результаты опытов хотя и однозначны в отношении обоих клонов—генотипические различия между ними все же проявляются.

Ереванский государственный университет,
кафедра зоологии

Поступило 6.V 1970 г.

Ձ. Ա. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ

PARAMECIUM CAUDATUM-ի ՋԵՐՄԱԿԱՅՈՒՆՈՒԹՅԱՆ ԿԱԽՎԱԾՈՒԹՅՈՒՆԸ ՄԻՋԱՎԱՅՐՈՒՄ ՑԻՍՏԵՆԻ ՏԱՐՔԵՐ ԽՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻՑ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրվել է ցիստեինի տարբեր խտության լուծույթների (0,12 և 0,5%) ազդեցությունը *P. caudatum*-ի ջերմակայունության վրա: Ինֆուզորիայի երկու կլոնների (գենետիկորեն մաքուր գծեր) կուլտուրաները պահվել են ջերմության տարբեր պայմաններում՝ 4°, 14° և 28°C-ում: Ցիստեինի ներգործության ժամկետը պարզելու նպատակով փորձերը կատարվել են երկու տարբերակներով. 1) ինֆուզորները ենթարկվել են ցիստեինի ազդեցությանը ջերմակայունությունն ստուգելու մոմենտին, 2) ինֆուզորները նախօրոք 3—4 շաբաթ տեղավորվել են ցիստեինի տարբեր խտության լուծույթների մեջ:

Փորձերի արդյունքները ցույց տվեցին, որ ցիստեինի ազդեցության տակ *P. caudatum*-ի ջերմակայունությունը ենթարկվում է փոփոխման, որը խստորեն կախված է՝

ա) ջերմակայունության փորձարկմանը նախորդող ջերմային ռեժիմից. բ) ցիստեինի լուծույթի խտությունից. գ) ցիստեինի ներգործության երկարատևությունից:

Չնայած երկու կլոնների վրա կատարված փորձերի արդյունքների նմանության՝ երկան են գալիս կլոնների գենետիկական առանձնահատկություններ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Альтергот В. Ф. Сб. Клетка и температура среды. М.—Л., 1964.
2. Асахина Е. Сб. Клетка и температура среды. М.—Л., 1964.
3. Бандас Е. Л., Бобвич М. А. Цитология, т. 3, 1, 1961.
4. Бейли Н. Статистические методы в биологии. М., 1962.
5. Григорян Дж. А. Цитология, т. 6, 1, 1964.
6. Григорян Дж. А. Цитология, т. 6, 5, 1964.
7. Григорян Дж. А. Цитология, т. 7, 2, 1965.
8. Григорян Дж. А. Цитология, т. 10, 7, 1968.
9. Дрегольская И. Н. Цитология, т. 3, 4, 1961.
10. Ирлина И. С. Цитология, т. 5, 3, 1963.
11. Ирлина И. С. Сб. Морфология и физиология простейших. 1963.
12. Ковалева Н. Е. Цитология, т. 4, 3, 1962.
13. Лозина-Лозинский Л. К. (Lozina-Lozinsky L. K.). Arch. f. Protistenk. Bd. 74., 1, 1931.
14. Полянский Ю. М. Зоол. журн., 36, 11, 1957.
15. Сопина В. А. Цитология, т. 5, 3, 1963.
16. Levitt J. Theor. Biol. 3, 1962.
17. Левит Дж. (Levitt J.). Клетка и температура среды. М.—Л., 1964.
18. Waisel J., H. Kohn and Levitt J. Plant Physiol., 37, 1932.