

УДК 577.34

**ВЛИЯНИЕ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ НА ПОКОЯЩИЕСЯ ЯЙЦА И
ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ ВЕТВИСТОУСОГО РАЧКА *Moina macroscopa***

© 2016 г. Е. С. Задереев^{1,2}, Т. С. Лопатина¹, Т. А. Зотина¹, Н. А. Оськина²,
Д. В. Дементьев¹, М. В. Петриченков³

Представлено академиком РАН А.Г. Дегерменджи 21.05.2015 г.

Поступило 13.07.2015 г.

Исследовали влияние γ -облучения на способность покоящихся яиц планктонного рачка *Moina macroscopa* к реактивации и на параметры жизненного цикла вылупившихся из облученных яиц животных. Обнаружили, что γ -облучение в широком диапазоне доз (от фонового уровня до 100 Гр) не влияло на выживаемость яиц и смертность животных, вылупившихся из облученных яиц. Однако при превышении поглощенной дозы, равной 40 Гр, резко снижался репродуктивный потенциал животных, вылупившихся из облученных яиц.

Естественный природный фон радиоактивного излучения является неотъемлемой частью жизнедеятельности живых организмов. Ситуация изменилась с середины XX века, когда в результате антропогенных активностей в окружающую среду попало большое количество техногенных радионуклидов [1]. Предприятия ядерно-топливного цикла, как правило, располагаются рядом с водными объектами, поэтому одним из мест концентрирования техногенных радионуклидов, становятся донные отложения [2].

¹Институт биофизики Сибирского отделения Российской Академии наук, Красноярск
E-mail: egor@ibp.ru

²Сибирский федеральный университет, Красноярск

³Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера Сибирского отделения Российской Академии наук, Новосибирск

Планктонные ракообразные являются одним из ключевых звеньев в трофических сетях водных экосистем. Многие планктонные ракообразные при наступлении неблагоприятных условий образуют покоящиеся яйца, которые способны к длительному нахождению в состоянии покоя [3]. На дне водоемов покоящиеся яйца формируют скопления, которые служат источником генетического разнообразия и пополняют популяцию после периодов снижения численности [4].

Несмотря на очевидную важность покоящихся стадий для функционирования зоопланктона, исследования по оценке чувствительности покоящихся яиц к различным токсикантам единичны [5]. При этом отсутствуют работы по оценке влияния ионизирующего излучения на выживаемость покоящихся яиц и параметры жизненного цикла животных вышедших из облученных яиц.

В настоящей работе мы исследовали влияние облучения ионизирующим излучением покоящихся яиц планктонного рачка *Moina macroscopa* на способность покоящихся яиц к реактивации и на параметры жизненного цикла вылупившихся из облученных яиц животных.

В качестве модельного объекта в работе использовали ветвистоусого рачка *M. macroscopa*. Все эксперименты с животными проводили в термостате с постоянной температурой 26°C и заданным фотопериодом: 16 ч – день и 8 ч – темнота. В качестве среды культивирования рачков использовали отстаиванную водопроводную воду. В качестве корма использовали

одноклеточную зеленую водоросль *Chlorella vulgaris*, которую выращивали в накопительном режиме культивирования в колбах объемом 500 мл на среде Тамия. Перед использованием в качестве кормового субстрата водоросли концентрировали центрифугированием (1200 g). Концентрацию клеток водорослей определяли с помощью счетчика частиц CASY TTC (“SCHÄRFE SYSTEM GmbH”, Германия).

Покоящиеся яйца для экспериментов получали в накопительном режиме культивирования популяции *M. macrocopa* (объем среды – 4 л, концентрация корма – 1 млн клеток/мл, периодичность смены среды – раз в трое суток). Полученные покоящиеся яйца хранили в темноте при температуре 4°C.

Исследовали чувствительность покоящихся яиц к действию ионизирующего излучения от трех точечных радиоактивных источников ^{137}Cs разной мощности в диапазоне доз γ -облучения от фонового уровня до 100 Гр. Для каждого опыта отбирали неповрежденные эфиппиумы, содержащие по два оплодотворенных покоящихся яйца *M. macrocopa*. Для каждого уровня поглощенной дозы было протестировано от 60 до 100 покоящихся яиц. Для облучения покоящиеся яйца помещали на дно пластиковой конической микропробирки Eppendorf (объем 1.5 мл), содержащей 0.5 мл воды. Разные дозы облучения получали путём изменения времени экспозиции (источники 1 и 2) и изменения расстояния до источника излучения (источник 3). Погрешность измерений при использовании высоких

доз излучения (80–100 Гр) была существенно больше, чем при использовании малых доз в связи с близким расположением образцов к источнику. Облучение покоящихся яиц проводили в темноте при температуре 4–10°C.

Мощность поглощённой дозы от точечных источников γ -излучения, время, за которое были накоплены дозы, и характеристика покоящихся яиц, использованных для проведения экспериментов, представлены в табл. 1.

После облучения яйца помещали в ёмкости с 500 мл среды и концентрацией корма 400 тыс. клеток/мл, которые ставили в термостат при 37°C. Каждые трое суток среду меняли на свежеприготовленную. С первого дня и до прекращения реактивации яиц ежедневно подсчитывали количество вылупившихся из яиц животных. Для каждой облученной партии яиц для индивидуального культивирования было отобрано по 20 вышедших из яиц ювенильных самок (размер 0.45–0.65 мм).

Индивидуальное культивирование самок проводили в 20 мл среды и с концентрацией корма в среде, равной 200 тыс. клеток/мл. Среду раз в сутки меняли на свежеприготовленную. Эксперименты продолжали до гибели всех тестируемых животных. Концентрация корма, 200 тыс. клеток/мл, была выбрана с целью создания пищевых условий, не лимитирующих рост и партеногенетическое размножение рачков [6].

Для каждой самки фиксировали время появления первой и последующих кладок, подсчитывали количество потомков в каждой кладке,

определяли половой состав потомства и регистрировали время смерти самки x (в сутках).

Полученные данные использовали для расчета чистой скорости воспроизводства (R_0) и скорости роста популяции (r) [7]: $R_0 = \sum_{x=0}^{\infty} l_x \cdot m_x$, где

l_x – доля животных доживших до возраста x , m_x – средняя плодовитость самок в возрасте x .

Скорость роста популяции определяли на основе итерационного решения уравнения Эйлера–Лотки: $\sum_{x=0}^{\infty} e^{-rx} \cdot l_x \cdot m_x = 1$.

Влияние облучения на реактивацию покоящихся яиц, на показатели чистая скорость воспроизводства и скорость роста популяции оценивали с помощью корреляционного анализа; на показатели средняя продолжительность жизни и количество отрождённых кладок – непараметрического медианного теста по программе STATISTICA 8.0.

Ионизирующее излучение в исследованном диапазоне доз облучения не оказало систематического влияния на реактивацию покоящихся яиц ($r = 0.13$, $p = 0.547$, рис. 1). Для трех использованных источников излучения и всего диапазона доз облучения в среднем $88 \pm 7\%$ яиц реактивировалось в течение двух недель после начала экспериментов.

Ионизирующее излучение также не оказало достоверного влияния на среднюю продолжительность жизни животных, вышедших из облученных покоящихся яиц ($p = 0.09$). Средняя продолжительность жизни для всей

выборки исследуемых животных составила 10.4 ± 3.7 сут. Максимальная и минимальная продолжительность жизни составили 20 и 2 сут соответственно.

Влияние дозы облучения было зафиксировано для репродуктивных параметров самок, вышедших из облученных яиц. Количество отрождённых кладок (рис. 2А, $p = 0.0001$), R_0 (рис. 2Б, $r = -0.78$, $p < 0.001$) и расчетная скорость роста популяции (рис. 2В, $r = -0.92$, $p < 0.001$) резко снижались при дозах облучения покоящихся яиц, равных 80 и 100 Гр. Эффективная поглощенная доза облучения, при которой происходило снижение репродуктивных показателей в два раза по сравнению с контрольными показателями (ED_{50}), составила 47, 24 и 44 Гр для количества отрожденных кладок, R_0 и скорости роста популяции соответственно.

Мы использовали три источника излучения разной мощности. В результате одинаковые дозы облучения были накоплены при разной длительности воздействия ионизирующей радиации. Мы подобрали время облучения таким образом, чтобы источники разной мощности создавали, в том числе, и одинаковые дозы облучения. В области используемых нами доз эффект мощности на исследуемых параметрах рачков не проявился: для поглощенных доз облучения до 20–40 Гр облучение разной мощности не оказывало влияния на исследуемые параметры.

Наши результаты показывают, что для ветвистоусых ракообразных, даже в случае облучения покоящихся яиц, репродуктивные параметры

являются наиболее чувствительными к действию ионизирующей радиации. Сходные результаты были получены и другими авторами. Например, было показано, что снижение размера отрождённой кладки у самок *Daphnia magna* происходит при дозе облучения выше 0.1 Гр. При этом дозы облучения до 1–2 Гр не влияют на выживаемость и соматическую скорость роста рачков [8]. Для этого же вида было показано, что дозы облучения от 0.1 до 20 Гр оказывают незначительное (однако регистрируемое) воздействие на смертность живых особей, массовая смертность начинается при дозах облучения 100 Гр и выше [9].

Работы по облучению покоящихся яиц ракообразных единичны. В эксперименте, проведенном на международной космической станции (МКС), проверяли способность покоящихся яиц ветвистоусых ракообразных, переносить условия открытого космоса. Несмотря на высокие перепады температур и действие ионизирующего излучения (накопленная доза 2–3 Гр) часть покоящихся яиц сохранила способность к реактивации [10].

Следует отметить, что данные о влиянии ионизирующего излучения на водных беспозвоночных фрагментарны и неполны [11]. Наша работа закрывает существенный пробел в этой области исследования. С одной стороны данные подтверждают устоявшееся мнение о высокой устойчивости беспозвоночных к действию ионизирующего излучения. В результате проведенных исследований нами показано, что облучение в диапазоне доз от фонового уровня до 100 Гр не влияло на выживаемость покоящихся яиц и

продолжительность жизни вышедших из них животных. С другой стороны, мы впервые показали, что облучение покоящихся яиц влияет на репродуктивные параметры вылупившихся из них животных. Полученные данные, позволяют предположить, что накопление техногенных радионуклидов в донных осадках может оказывать существенное воздействие на функционирование водных экосистем, через негативные хронические эффекты на скопления покоящихся яиц.

Авторы благодарны анонимному рецензенту за ценные замечания.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект 14-14-00076.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hu, Q.H., Weng, J.Q., Wang, J.S., *Journal of Environmental Radioactivity*, 2010, Vol. 101, pp. 426–437.
2. Kansanen, Ph., Jaakkola, T., Kulmala, S., Suutarinen, R., *Hydrobiologia*, 1991, Vol. 222, pp. 121-140.
3. Alekseev, V.R., de Stasio, B.T., Gilbert, J.J. (Eds.), *Diapause in Aquatic Invertebrates Theory and Human Use*, Netherlands: Springer, 2007, 257 p.
4. Brendonck, L., Meester, L., *Hydrobiologia*, 2003, Vol. 491, pp. 65–84.
5. Alekseev, V., Makrushin, A., Hwang, J.Sh., *Marine Pollution Bulletin*, 2010, Vol. 61, pp. 254–258.
6. Задереев, Е.С., Губанов, В.Г., *Журнал Общей Биологии*, 1996, Т.57, С. 360-367.
7. Krebs, C.J., *Ecology: the experimental analysis of distribution and abundance*, New York: Harper & Row, 1985, 800 p.
8. Gilbin, R., Alonzo, F., Garnier-Laplace, J., *Journal of Environmental Radioactivity*, 2008; Vol. 99, pp. 134–145.
9. Sarapultseva, E.I., Bychkovskaya, I.B., *International Journal of Low Radiation*, 2010, Vol. 7, pp.1 – 9.
10. Novikova, N., Gusev, O., Polikarpov, N., Deshevaya, E., Levinskikh, M., Alekseev, V., Okuda, T., Sugimoto, M., Sychev, V., Grigoriev, A., *Acta Astronautica*, 2011, Vol. 68, pp. 1574–1580.

11. Dallas, L.J., Keith-Roach, M., Lyons, B.P., Jhaa A.N., *Radiation Research*, 2012, Vol. 177, pp. 693–716.

Таблица 1. Условия экспериментов по γ -облучению покоящихся яиц *Moina macroscora*

Мощность дозы, мГр/ч	Расстояние до источника, см	Время облучения, ч	Поглощённая доза, Гр	Время нахождения яиц в состоянии покоя до начала эксперимента, мес.
Источник 1, 0.315	0.4	312	0.10	1
	0.4	672	0.21	
	0.4	1032	0.32	
	0.4	1416	0.44	
	0.4	1824	0.57	
	0.4	2328	0.73	
Источник 2, 4.15	1.5	45	0.19	12
	1.5	95	0.39	
	1.5	212	0.88	
	1.5	404	1.67	
	1.5	504	2.09	
	1.5	570	2.37	
Источник 3, 38 (на расстоянии 15 см)	20.2	48	1	15
	14.3	48	2	
	6.4	48	10	
	4.5	48	20	
	3.2	48	40	
	2.3	48	80	
	2.0	48	100	

ПОДПИСИ К РИСУНКАМ

Рис. 1. Влияние облучения покоящихся яиц *M. macroscopa* от точечных источников ^{137}Cs (чёрные квадраты – источник 1, белые – источник 2, серые – источник 3) на их реактивацию в благоприятных условиях.

Рис. 2. Влияние облучения покоящихся яиц *M. macroscopa* от точечных источников ^{137}Cs (обозначения как на рис. 1) на параметры роста и размножения вылупившихся из них животных. Количество отрожденных кладок ($M \pm m, n = 20$) – (А), чистая скорость воспроизводства – (Б) и скорость роста популяции – (В). Кривые получены путем аппроксимации экспериментальных данных с помощью экспоненциального сглаживания.

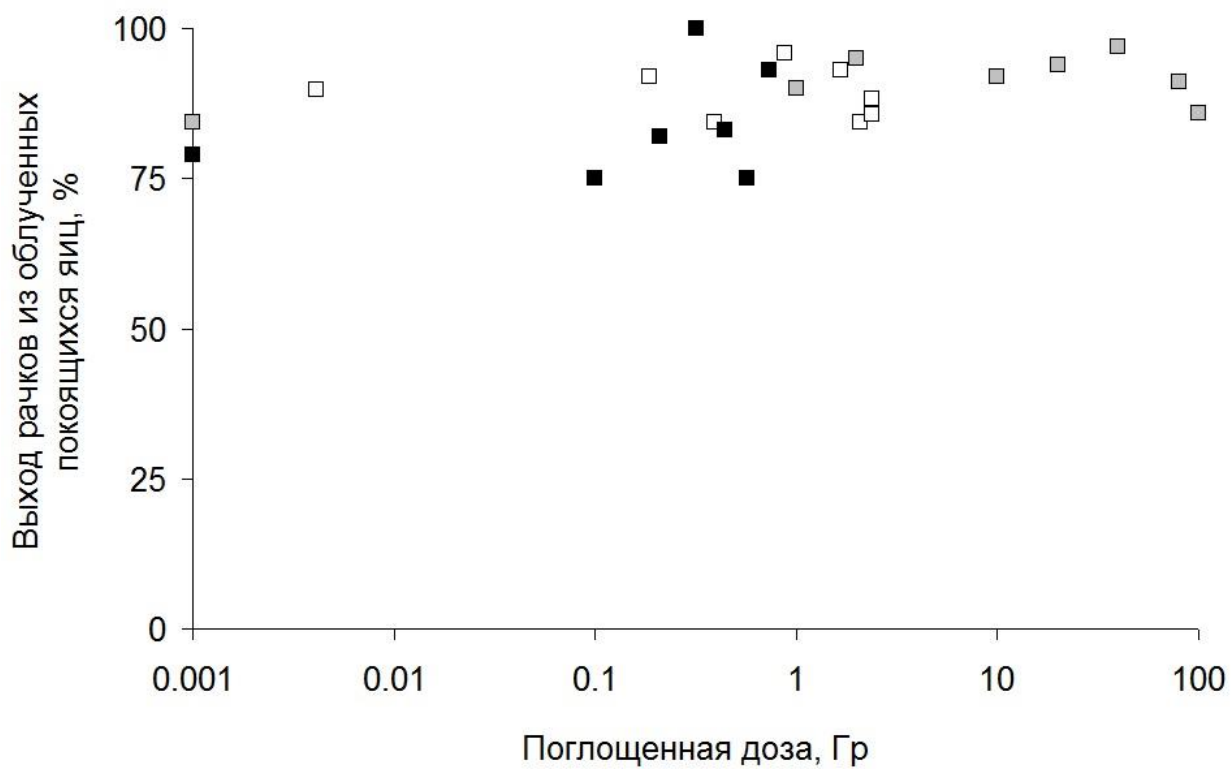


Рис. 1. Задереев и др., ДАН

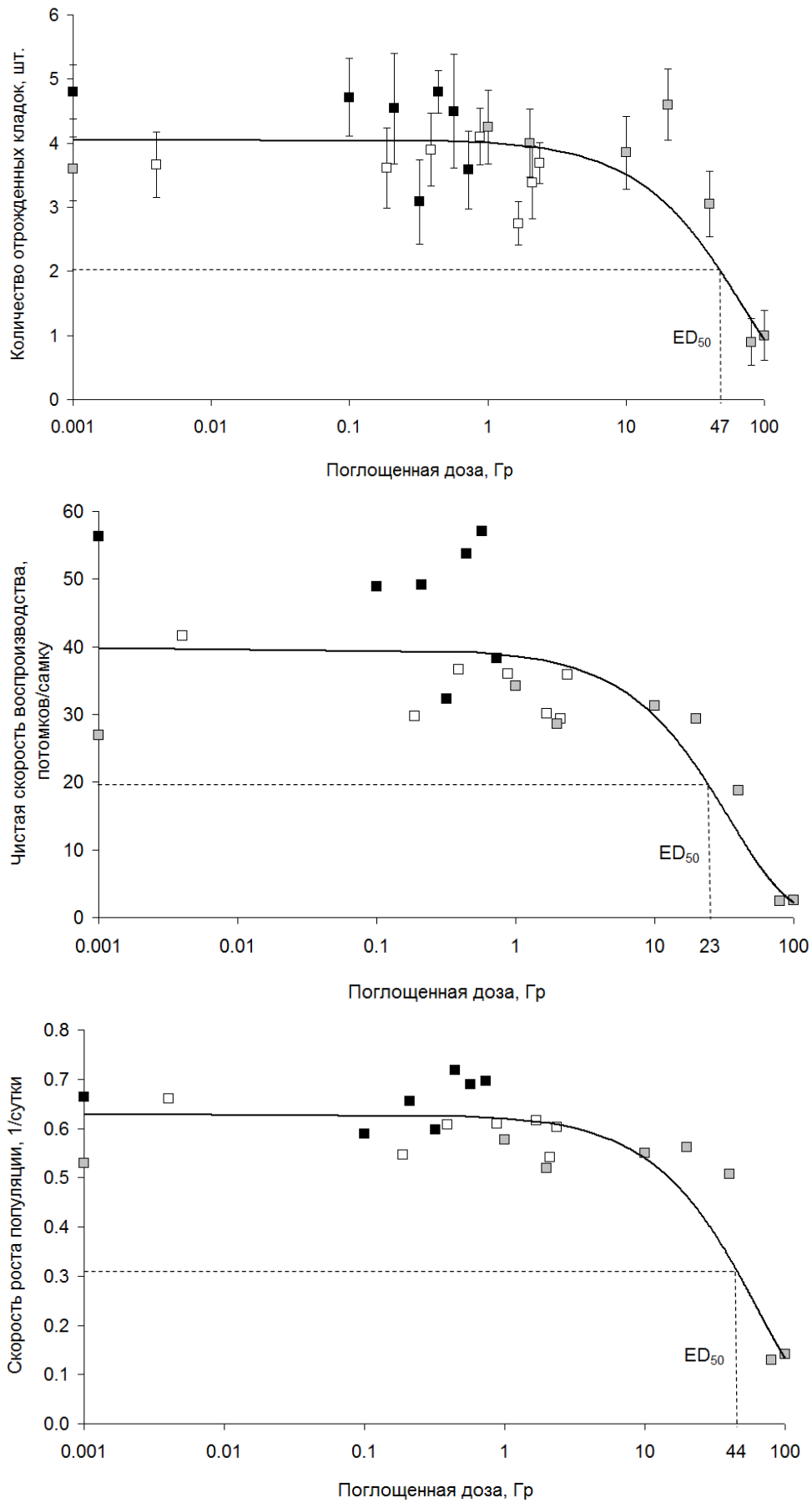


Рис. 2. Задереев и др., ДАН

**THE EFFECT OF γ -RADIATION ON RESTING EGGS AND LIFE CYCLE
OF CLADOCERAN *MOINA MACROCOPA***

Zadereev E.S., Lopatina T.S., Zotina T.A., Oskina N.A., Dementyev D.V.,

Petrichenkov M.V.

ABSTRACT

We investigated the effects of γ -irradiation on the survival of resting eggs of cladoceran *Moina macrocopa* and on the parameters of the life cycle of animals hatched from irradiated eggs. It was shown that γ -irradiation in a wide range of doses (from the background level to 100 Gy) had no effect on survival of eggs and mortality of animals hatched from irradiated eggs. However, exceeding the absorbed dose of 40 Gy sharply decreased reproductive potential of the animals hatched from irradiated eggs.

СТРАНИЦА ДЛЯ ПЕРЕВОДЧИКА

покоящиеся яйца - resting eggs

параметры жизненного цикла – life cycle parameters

облученные яйца – irradiated eggs.

Планктонный рачок - zooplankton

ветвистоусый рачок – cladocera

отстоянная водопроводная вода –aged tap water

накопительный режим культивирования – batch culture

эфиппиум – ehippial egg

вылупившиеся из яиц животные – hatched neonates

ювенильные самки – juvenile females

первая и последующие кладки – first and subsequent clutches

чистая скорость воспроизводства – net reproductive rate

скорость роста популяции – population growth rate

средняя продолжительность жизни – average life span

количество отрождённых кладок – the number of hatched clutches

поглощенная доза – absorbed dose

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Полное название учреждения, в котором выполнено исследование:

Институт биофизики СО РАН

Адрес для переписки:

660036 Красноярск, Академгородок, Институт биофизики СО РАН,

Задереев Егор Сергеевич

Тел. (3912) 494358, факс (3912)433-400; E-mail: egor@ibp.ru

Авторы:

Задереев Егор Сергеевич, 660036, г. Красноярск, Академгородок, 20а-15, тел. (3912) 494358 (р), E-mail: egor@ibp.ru

Лопатина Татьяна Станиславовна, 660001, Красноярск, ул. Копылова 78-49, тел. (3912) 495839, e-mail: lopatinats@mail.ru

Зотина Татьяна Анатольевна, г.Красноярск, ул.Новосибирская, 35-152, тел. (391)2494572, e-mail: t_zotina@ibp.ru

Оськина Наталия Александровна, 660036, Красноярск, Академгородок, 50/50, Институт биофизики СО РАН, Сл. тел.: 8 (391) 249-58-39, E-mail: Oskina_nata@mail.ru

Дементьев Дмитрий Владимирович, 660036, Красноярск, Академгородок, 50/50, Институт биофизики СО РАН, Сл. тел.: 8 (391) 249-45-72, Факс: 8 (391) 243-34-00, E-mail: dementyev@gmail.com

Петриченков Михаил Владимирович, Институт ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН, Новосибирск, 630090, 8 383 339-46-34, эл. почта: petrmv@gmail.com