

В. КАРЕЛИНА

ОТНОШЕНИЕ *PARAMAECIUM CAUDATUM* К ЯДАМ НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ ЕЕ ОНТОГЕНИИ

(Представлено академиком И. И. Шмальгаузенем 5 V 1948)

Клетка в своем развитии проходит строго закономерные этапы; каждый этап развития клетки характеризуется различными морфологическими и физиологическими признаками. Следовательно, клетка не является равноценной в этом отношении на разных этапах своей онтогении. Если это так, то при постоянных внешних условиях развития клеток при воздействии на них (в разные этапы их развития) одними и теми же дозами повреждающих агентов клетки должны реагировать различно в зависимости от онтогенетической стадии.

Первые работы в этом направлении были проведены в лаборатории Б. Токина (6). Г. Горбуновой (2) было установлено изменение чувствительности *Paramaecium caudatum* к хинину в период между двумя последовательными делениями. В. Трофимович (7) в своей работе отмечает, что наиболее чувствительными к KCN туфельки оказываются в первые часы деления. Аналогичные факты были установлены А. Коваленко (3) при действии кристаллического фитонцида лука на инфузории. Очень интересные работы вышли из лаборатории Полянского. Т. Маркова (5) изучила действие KCl, CaCl₂, KCN и CuSO₄ на *P. caudatum* на разных стадиях развития и получила принципиально тот же результат.

Объектом нашего исследования служила *Paramaecium caudatum*. Для опыта был выведен клон от одной особи. Инфузории культивировались в минеральной среде Лозинского. Состав среды: NaCl 0,1%, KCl 0,001%, CaCl₂ 0,001%, MgSO₄ 0,001%, NaHCO₃ 0,002%. Приготовленный раствор стерилизовался в автоклаве в течение 30 мин. при давлении 1,5 атм. Для питания инфузорий использовались дрожжи *Saccharomyces ellipsoideus*. Дрожжи росли на пивном сусле с агар-агаром. Культура находилась при температуре 17°С. В условиях эксперимента время, протекающее между двумя последовательными делениями, равнялось 23 час. Для опыта использовались инфузории через 2, 6, 12 и 21 час после деления.

Опыты ставились следующим образом. Из культуры *Paramaecium caudatum* вылавливались инфузории в момент деления. Каждая делящаяся особь отсаживалась в отдельное часовое стекло с питательной средой. Отмечалось время разделения инфузорий на две дочерние. Через определенный промежуток времени, согласно задачам опыта, две дочерние инфузории пересаживались в солонку, избыток питательной среды отсасывался пипеткой; после этого солонка заполнялась раствором соли определенной концентрации. Этот момент фиксировался пуском секундомера. Все наблюдения и манипуляции производились под бинокулярной лупой: смерть инфузорий регистрирова-

лась после полного прекращения движения ресничек, не возобновлявшегося после нескольких встряхиваний солонки.

Время от момента действия токсического вещества до момента смерти инфузории являлось критерием чувствительности. Во всех опытах было использовано по 50 инфузорий. Все опыты ставились при одинаковых условиях.

1. Действие Na_2SO_4 и MgSO_4 . В качестве действующих агентов были взяты сульфат натрия и сульфат магния. На этом этапе исследований для доказательства физиологической неравноценности клетки на разных этапах онтогенеза выбор агентов может быть вполне эмпирическим.

Для опыта были установлены концентрации солей, которые приводили бы инфузорию быстро к гибели и в то же время давали бы возможность точно учесть время, протекающее от момента действия яда до момента гибели инфузории. Такой концентрацией для Na_2SO_4 оказалась 1,5%. Высчитывалась средняя чувствительность для инфузорий различного возраста. Результаты приведены в табл. 1.

Таблица 1

Возраст инфузории в час.	Число опытов	Пределы вариаций	$M \pm m$ в мин.
2	50	0—85	$20,6 \pm 2,43$
6	50	5—90	$27,7 \pm 2,16$
12	50	5—120	$34,7 \pm 4,67$
21	50	5—85	$37,2 \pm 2,75$

Наиболее чувствительными к Na_2SO_4 оказались 2-часовые инфузории, а наиболее резистентными—инфузии 21-часового возраста, т. е. старые инфузории. Разница между средними выживания инфузорий 21-часового возраста и 2-часовых является реальной, так как она превышает свою ошибку в 4,5 раза. У инфузорий 6- и 12-часовых чувствительность по сравнению с 2-часовыми падает, но она выше, чем у инфузорий 21-часового возраста.

Для сульфата магния была взята концентрация 0,27%. Средние цифры чувствительности представлены в табл. 2.

Результаты опытов показывают, что при действии сульфата магния, так же как и при действии сульфата натрия, наиболее чувствительными оказались 2-часовые инфузории. У 6-часовых чувствительность несколько падает. Наименее чувствительными являются 12-часовые. У инфузорий 21-часовых чувствительность несколько повышается по сравнению с 12-часовыми. Разница $M_{12} - M_2$ является реальной, так как превышает свою ошибку в 3,2 раза.

Таблица 2

Возраст инфузории в час.	Число опытов	Пределы вариаций	$M \pm m$ в мин.
2	50	0—85	$16,0 \pm 2,29$
6	50	0—95	$19,4 \pm 3,37$
12	50	5—120	$30,5 \pm 3,81$
21	50	5—120	$27,2 \pm 4,2$

После смерти инфузории (после прекращения движения ресничек) наблюдается фиксация ее. При действии MgSO_4 форма тела сохраняется у инфузорий в течение 2 суток; происходит лишь незначительное набухание тела. При действии Na_2SO_4 после смерти также наступает фиксация структур, но через 12, 24 часа форма тела часто становится шарообразной; в единичных случаях на поверхности появляются «вздутия», содержащие протоплазму, и инфузория лопаается.

Таким образом, чувствительность *Paramecium caudatum* на разных стадиях онтогенеза при воздействии исследованных повреждающих агентов изменяется закономерно.

2. О витальной окраске инфузорий разного возраста. Мы исследовали действие одной и той же концентрации витальной краски (нейтральной красной) в течение одних и тех же промежутков времени на *Paramecium caudatum* разного возраста.

Эти материалы, нам кажется, представляют несколько больший интерес, чем исследование влияния тех или иных солей, кислот и щелочей на клетку, так как вопросы о реакциях, наблюдаемых при витальном окрашивании (интенсивность гранулообразования и др.), школой Д. Н. Насонова очень доказательно связаны с жизнедеятельностью клетки вообще. Сотрудниками Д. Н. Насонова установлено, что при действии различных факторов (высокая температура, механическое воздействие, наркотики, электрический ток и др.), которые подавляют ту или иную жизненную функцию клетки (что неизбежно связано с понижением интенсивности обмена в ней), имеет место подавление процессов гранулообразования.

Механизм распространения витального красителя в клетке до сих пор остается неясным. Д. Н. Насоновым и В. Александровым было высказано предположение, что отщепление различных веществ в клетке имеет защитное для клетки значение. „Этот защитный эффект, — пишут Д. Н. Насонов и В. Александров, — достигается снижением концентрации красителя, диффузно распространенного по всей массе живого вещества“. Механизм накопления витальных красителей в клетке также остается невыясненным. В настоящее время общепринято считать, что гранулы, появляющиеся в клетке при витальном окрашивании, являются новообразованием.

Среди многочисленных объектов, бывших у разных исследователей при испытании витальных красок, нас особенно интересуют инфузории и, в частности, *Paramecium caudatum*.

П. Макаров⁽⁴⁾ наблюдал образование „гранул красителя“ при окраске нейтральной красной *Vorticella microstoma*, *Colpidium colpoda*, *Opalina ranarum* и *Paramecium caudatum*. Образование гранул при витальном окрашивании *P. caudatum* наблюдали В. Александров⁽¹⁾ и др.

Свои исследования мы проводили на *Paramecium caudatum* того же клона, который был использован в первой части нашего сообщения. В качестве витального красителя мы брали нейтральную красную в концентрации 0,001%. Перед опытом вылавливались особи в момент деления и отсаживались в часовые стекла с питательной средой. Одна из сестринских инфузорий окрашивалась нейтральной красной через 2 часа, другая — через 12 час. после деления. Для окраски инфузории пересаживались в солонку, питательная среда по возможности отсасывалась, и солонка наполнялась раствором нейтральной красной. Через 5 мин. тупелька осторожно пипеткой переносилась на предметное стекло, на котором находились нитчатые водоросли. Нитчатые водоросли ограничивали движение инфузории, что давало возможность лучше наблюдать ее. Инфузория с водорослями покрывалась покровным стеклом, наблюдения производились под микроскопом Рейхерт, увеличение 20×15.

Через 5 мин. после начала окрашивания у инфузории 2- и 12-часового возрастов наблюдалась легкая, быстро исчезающая диффузная окраска протоплазмы. Интенсивно окрашиваются пищеварительные вакуоли. В эндоплазме почти равномерно распределены „гранулы красителя“ различной величины.

Мы сравнивали количество „гранул красителя“, которые появились за 5 мин. прокрашивания протоплазмы, у 2- и 12-часовых инфузорий. Оказалось, что через 5 мин. после начала опыта в эндоплазме 2-часовых инфузорий появилось много гранул красителя. У 12-часовых инфузорий за этот же промежуток времени гранул красителя образо-

валось значительно меньше, и они были редко разбросаны по всей эндоплазме. Провести точный количественный учет образования гранул в первом и во втором случаях невозможно, но ошибиться в качественной оценке нельзя, ибо разница весьма демонстративна.

Всего мы изучили 50 инфузорий 2-часового и 50 инфузорий 12-часового возрастов. У 85% инфузорий 2-часового возраста после окраски нейтральной красной (в течение 5 мин.) мы наблюдали более интенсивное гранулообразование, чем у инфузорий 12-часового возраста. 90% старых особей за 5 мин. окраски нейтральной красной образовали, по сравнению с молодыми, мало гранул.

Приводим схематические рисунки инфузорий, на которых нанесено расположение „гранул красителя“, с фотографий, выполненных с живого материала (рис. 1). При фотографировании вся инфузория не может оказаться в фокусе и, хотя гранулы находятся во всей толще эндоплазмы, видеть их отчетливо можно только на отдельных участках тела инфузории. Но как мы уже отмечали, гранулы витального красителя расположены приблизительно равномерно во всей плазме инфузории; это дает возможность по количеству гранул в отдельных участках тела ту-

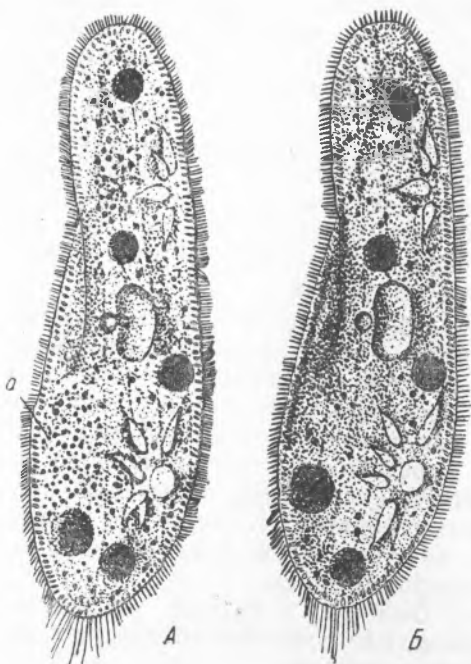


Рис. 1. Гранулообразование у инфузорий разного возраста после 5-минутного окрашивания нейтральной красной. А — инфузория 2-часового возраста, гранул много (см. участок *a*); Б — инфузория 12-часового возраста, гранул много, редко разбросаны

фельки судить об интенсивности гранулообразования в целом. Вследствие всех указанных причин приведенные рисунки дают менее отчетливую картину, чем наблюдения под микроскопом. Эти наблюдения позволяют сделать вывод о более интенсивном гранулообразовании у молодых инфузорий.

Лаборатория динамики развития организма
Института экспериментальной медицины
Академии Медицинских Наук СССР
Ленинград

Поступило
5 V 1948

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. Александров, Архив анат., гист. и эмбр., 22, № 1 (1939). ² Г. Горбунова, Биол. журн., 6, № 2 (1937). ³ А. Коваленок, ДАН, 48, № 6 (1945). ⁴ П. Макаров, Арх. анат., гист. и эмбр., 19, № 1—2 (1938). ⁵ Т. Маркова, Зоол. журн., 24, в. 1 (1945). ⁶ Б. Токин, Биол. журн., 3, № 2 (1934). ⁷ В. Трофимович, там же, 5 (1936).