

**ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ МАЛОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ
НА ПРОЯВЛЕНИЕ РЕАКЦИИ РАДИОТРОПИЗМА У ГРИБОВ**Т. И. Тугай¹, Н. Н. Жданова¹, Т. И. Редчиц¹,В. А. Желтоножский², Л. В. Садовников²¹Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины, Киев,²Институт ядерных исследований НАН Украины, Киев

Разработан экспресс-метод и модельная градиентная система воздействия γ -излучения на рост гиф микромицетов. Изучено более 200 штаммов микрогрибов (37 видов, 20 родов). Показано, что около 20 % из них, споры которых выделены из высокорadioактивных субстратов 5-километровой зоны ЧАЭС и помещений 4-го блока, обладают свойством позитивного радиотропизма.

С помощью экспресс-метода, разработанного в отделе физиологии и систематики микромицетов ИМВ НАН Украины, было изучено более 200 штаммов грибов (37 видов 20 родов), среди которых около 20 % обладали свойством направленного роста к источнику ионизирующего излучения (ИИИ), который квалифицировался нами как позитивный радиотропизм. Это свойство было присуще штаммам, выделенным из загрязненных почв, лесных подстилок и других высокорadioактивных субстратов в первые годы после Чернобыльской аварии.

В продолжение этих исследований в 2002 г., когда radioактивность таких субстратов снизилась на несколько порядков, авторами было изучено 10 видов микроскопических грибов, изолированных с поверхности свежесделанных "горячих" частиц и из помещений 4-го блока ЧАЭС, а также из загрязненных радионуклидами почв 5-километровой зоны.

Наиболее активные штаммы, выделенные в течение первых пяти лет после аварии, не утратили этого свойства в течение более чем 10-летнего хранения в коллекции отдела.

Ответные тропические реакции грибов наблюдались при очень низких мощностях ионизирующего излучения. Последнее свидетельствует о том, что грибы обладают высокочувствительными сенсорными механизмами, которые способны реагировать на такое слабое воздействие.

Чернобыльская катастрофа привела к радионуклидному загрязнению огромных территорий. Существенная часть выбросов на территории 30-километровой зоны пришлось на долю мелкодисперсных частиц сложного радиоизотопного состава, имеющих высокую удельную radioактивность "горячих" частиц. При изучении в лабораторных условиях способности грибов разрушать "горячие" частицы разного типа [1] была установлена способность ряда видов (*Penicillium roseo-purpureum-147*, *Cladosporium cladosporioides-4*) активно обрастать и разрушать "горячие" частицы. В процессе выполнения работы был обнаружен направленный рост грибных гиф к "горячим" частицам, что послужило отправной точкой изучения явления радиотропизма у грибов. Для проведения исследований по распространенности этого явления был разработан экспресс-метод с использованием искусственного точечного источника γ -излучения ^{109}Cd , позволяющий исследовать наличие этого свойства на большом числе штаммов [2].

В процессе выполнения этих исследований было установлено, что свойство позитивного радиотропизма в подавляющем большинстве случаев было присуще штаммам, выделенным из почв, загрязненных радионуклидами. Было выдвинуто предположение, что некоторые почвенные микромицеты, постоянно встречающиеся в 30-километровой зоне, могут принимать участие в процессах биогенного разрушения "горячих" частиц, заметно ускоряя процессы их естественного radioактивного распада.

16-летний мониторинг микобиоты почв 10-километровой зоны и более чем 6-летний мониторинг высокорadioактивных помещений 4-го блока ЧАЭС позволил выявить ряд

особенностей изменения обнаруженных микромицетов [3]. Так, за годы исследования в пределах 10-километровой зоны наблюдалось несколько этапов в развитии почвенных микрогрибов. Период 1986 – 1988 гг. характеризовался резким снижением (почти на порядок) количества почвенной грибной биомассы, при этом количественным и качественным доминированием меланинсодержащих видов. Установлено, что их частота встречаемости составляла 50 – 80 %. В этот период радиоактивность поверхностных слоев почвы колебалась от 10^{-3} до 10^{-8} Ки/кг.

После 1988 г. отмечено увеличение количества биомассы микромицетов; наблюдалось количественное и качественное преобладание светлопигментированных видов грибов. Частота встречаемости меланинсодержащих видов не превышала 5 - 8 %.

В настоящее время наблюдаются значительные изменения в качественном составе радионуклидов почвы, в степени деструкции топливных частиц в различных по составу почвах, отмечено увеличение ионообменных форм ^{90}Sr , что приводит к соответствующим изменениям в почвенной микобиоте.

Целью данного исследования было изучить наличие свойства позитивного радиотропизма у микромицетов, выделенных в 2002 г. (через 16 лет после аварии) из природных экониш, антропогенная нагрузка в которых изменилась по отношению к таковой в первые годы после аварии на ЧАЭС. Кроме того, необходимо было проверить, сохраняется ли это свойство у грибов после длительного хранения в музее на сусло-агаре.

Материалы и методы

Данные исследования проведены с использованием γ -излучения изотопа ^{123}Te . Этот источник γ -излучения был выбран в связи с тем, что он является практически чистым γ -излучателем с энергией γ -квантов 159 кэВ и K_{α} -излучения с энергией 27 кэВ; энергия этих излучений теллура близка к энергии γ -квантов ранее используемого нами изотопа ^{109}Cd , и соответственно они имеют близкие коэффициенты поглощения для питательной среды, в которую высаживаются споры микромицетов.

Для проведения исследований была создана следующая модельная система.

Источник излучения находится в алюминиевой капсуле, которая может перемещаться по вертикальному каналу по резьбовому соединению с шагом 1 мм. Таким образом, имеется возможность выбора различной удаленности источника от свинцового коллиматора толщиной 5 мм с диаметром коллимирующего отверстия 1 мм, что позволяет регулировать, по необходимости, поток γ -квантов на выходе коллиматора. В эксперименте использовались два типа коллиматоров – цилиндрический и клинообразный (градиентный). Именно с помощью клинообразного коллиматора был создан градиент потока γ -квантов в плоскости дна чашки Петри на выходе коллиматора, где и помещали, строго фиксируя ее положение относительно коллиматора, пластиковую чашку Петри, в которой, используя голодную агаризованную среду, изучали рост грибов. Посев грибов проводили как сухими спорами, так и суспензией конидий в среде Чапека с 100 мг/л сахарозы. Посев проводили в бороздки, находящиеся на расстоянии от 1 до 10 мм от коллиматора во взаимно перпендикулярных направлениях, что давало возможность наиболее точно определить величину потока γ -квантов, на которую реагируют ростковые гифы изучаемых грибов.

С помощью коллиматора, создающего градиент потока γ -квантов, показано, что около 20 % из изученных авторами в этом году штаммов грибов обладали свойством позитивного радиотропизма.

Результаты и обсуждение

Для проведения данной работы были отобраны четыре группы штаммов грибов, различающихся как по времени их выделения, так и по особенностям экониш, из которых они были выделены.

В первую группу вошли штаммы грибов, выделенные в 2002 г. с поверхности топливных “горячих” частиц. Перечень выделенных штаммов и характеристика частиц представлены в табл. 1.

Таблица 1. Виды микромицетов, выделенные с поверхности “горячих” частиц для исследования свойств радиотропизма

Вид	Штамм	Радиоактивность субстрата на момент выделения, Бк/част.	Наличие тропических реакций к ИИИ ^{123}Te активностью на выходе коллиматора, Бк
<i>Penicillium steckii</i>	2	$(6,0 \pm 0,1) \cdot 10^4$	$(1,5 \pm 0,2) \cdot 10^4$ позитивная реакция
<i>Penicillium hirsutum</i>	1	$^{137}\text{Cs} - 80\%$ $^{134}\text{Cs} - 0,2\%$ $^{90}\text{Sr} - 20\%$ $^{154+155}\text{Eu} - 0,1\%$	$(3,5 \pm 0,2) \cdot 10^4$ позитивная реакция
<i>Penicillium hirsutum</i>	3	$(1,5 \pm 0,1) \cdot 10^6$	$(3,5 \pm 0,2) \cdot 10^4$ $(6,5 \pm 0,3) \cdot 10^4$ позитивная реакция
<i>Alternaria alternata</i>	7	$^{137}\text{Cs} - 78\%$ $^{134}\text{Cs} - 0,01\%$ $^{90}\text{Sr} - 20\%$ $^{154+155}\text{Eu} - 1,0\%$	$(3,5 \pm 0,2) \cdot 10^4$ $(6,5 \pm 0,3) \cdot 10^4$ не выявлено
<i>Botrytis cinerea</i>	5a	$^{241}\text{Am} - 1,0\%$ Kx(U) - 0,2%	$(3,5 \pm 0,2) \cdot 10^4$ $(6,5 \pm 0,3) \cdot 10^4$ не выявлено

Выделенные из первой частицы штаммы *P. steckii*-2, *P. hirsutum*-1 проявили позитивный радиотропизм; выделенные из второй топливной “горячей” частицы, грибы прореагировали на ^{123}Te так: *P. hirsutum*-3 проявил позитивный тропизм к ИИИ, а *Alternaria alternata*-7 и *Botrytis cinerea*-5a радиотропизма не проявили. Изотопный состав “горячих” частиц приведен в третьей колонке табл. 1.

Выделение грибов в активном состоянии с поверхности высокорadioактивных частиц, имеющих столь широкий спектр радионуклидов в своем составе, может свидетельствовать в пользу того, что эти грибы потенциально могут принимать участие в процессах биогенной трансформации такого рода частиц в почве.

Направленный рост гиф к источнику излучения обнаружен только у светлопигментированных грибов представителей рода *Penicillium*: *P. steckii* и *P. hirsutum*-1 проявили радиотропную реакцию при одном, а *P. hirsutum*-3 при двух уровнях радиоактивности источника ^{123}Te .

На рис. 1 представлены штаммы *P. hirsutum*-1 и 3. Стрелочка указывает на местоположение источника. Слева представлены фотографии опыта (рост при воздействии γ -излучения), справа – контроль (без воздействия γ -излучения), т.е. штаммы выращены одновременно в одинаковых условиях, за исключением воздействия ИИИ.

Во вторую группу исследуемых штаммов вошли грибы, выделенные в 2002 г. из радиоактивных помещений 4-го блока ЧАЭС. Общая радиационная характеристика помещений на момент выделения (май - август 2002 г.) представлена в третьей колонке табл. 2.

Радиотропные реакции проявили три из исследуемых штаммов: *P. westlingii*-8₁, *P. lanosum*-10₂ и *Cl. cladosporioides*-10₁.

У штаммов *P. lanosum*-10₂ и *Cl. cladosporioides*-10₁ свойство позитивного радиотропизма было выявлено при двух уровнях радиоактивности (см. табл. 2), а *P. westlingii*-8₁ проявил отрицательную радиотропную реакцию. На рис. 2 представлены фотографии радиотропных реакций у штаммов *P. lanosum*-10₂, *Cl. cladosporioides*-10₁ (справа – контроль, слева – опыт).

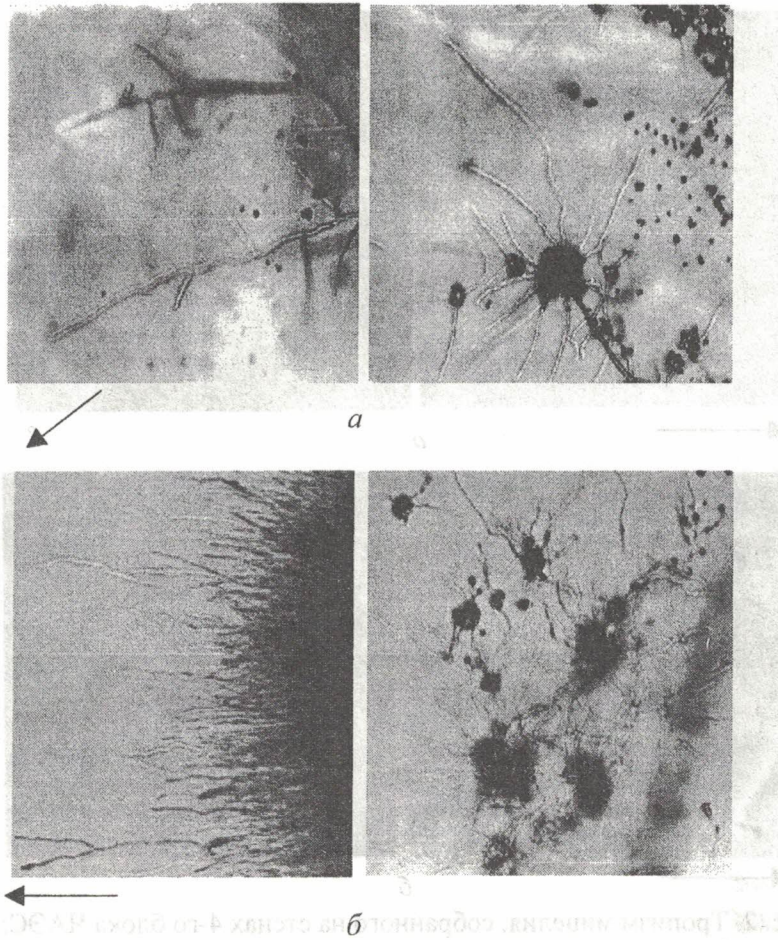


Рис. 1. Тропизм микрогрибов, выделенных с поверхности “горячих” частиц:
а - *P. hirsutum*-3; б - *P. hirsutum*-1.

Таблица 2. Виды микромицетов, выделенные со стен помещений 4-го блока ЧАЭС

Вид	Штамм	Радиационная характеристика помещения. Мощность экспозиционной дозы, мР/ч	Наличие тропических реакций к ИИИ ^{123}Te активностью на выходе коллиматора, Бк
<i>Aspergillus Versicolor</i>	6 ₁	17	не выявлено
<i>Penicillium Westlingii</i>	8 ₁	20	$(1,5 \pm 0,2) \cdot 10^4$ отрицательная реакция
<i>Penicillium lanosum</i>	10 ₂	20	$(3,5 \pm 0,2) \cdot 10^4$ $(6,5 \pm 0,3) \cdot 10^4$ позитивная реакция
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	10 ₁	20	$(3,5 \pm 0,2) \cdot 10^4$ $(6,5 \pm 0,3) \cdot 10^4$ позитивная реакция
<i>Cladosporium sp.</i>	6 ₁	17	не выявлено
<i>Verticillium dahliae</i>	7 ₁	100	не выявлено

Таким образом, в этой группе наличие тропической реакции обнаружено у двух из четырех светлопигментированных штаммов и у одного из двух темнопигментированных штаммов.

В третью группу вошли штаммы, проявившие свойство позитивного радиотропизма сразу после выделения их из соответствующих радиоактивных субстратов, а затем длительное время (до 15 лет) хранившиеся на сусло-агаре. Исследуемые штаммы представлены в табл. 3.

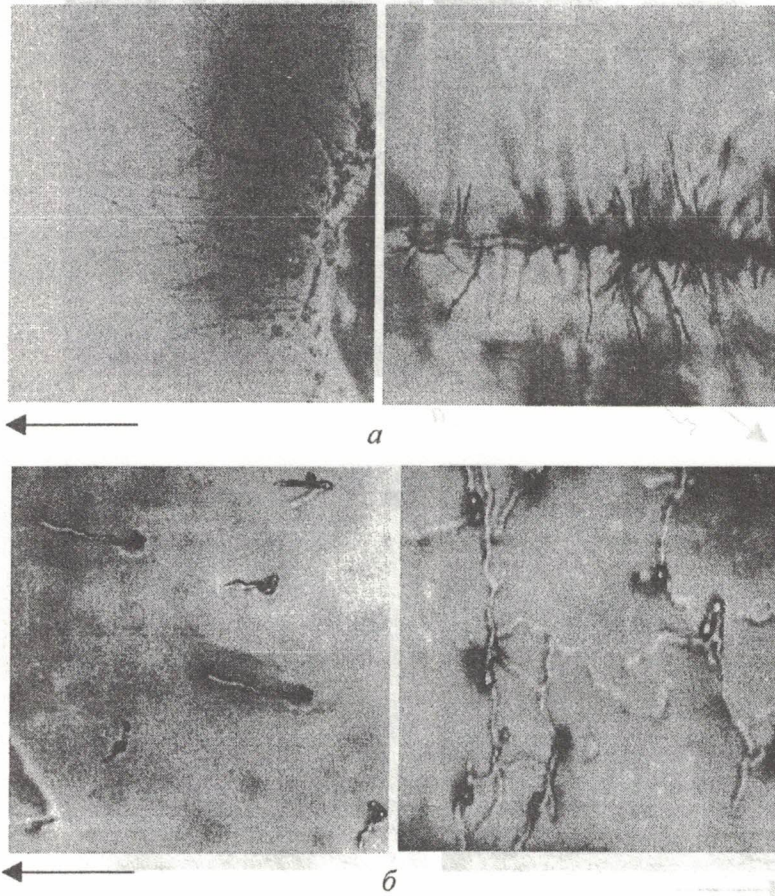


Рис. 2. Тропизм мицелия, собранного на стенах 4-го блока ЧАЭС:
 а - *Cl. cladosporioides*-10; б - *P. lanosum*-10.

Таблица 3. Виды микромицетов для исследования радиотропизма, выделенные из различных радиоактивных объектов

Вид	Штамм	Место и время выделения	Радиоактивность объекта на момент выделения	Наличие тропических реакций к ИИИ ^{123}Te активность на выходе коллиматора, Бк
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	4	Почва 10-километровой зоны ЧАЭС, 1986 г.	$4,05 \cdot 10^7$ (Бк/кг)	$(8,0 \pm 0,2) \cdot 10^4$ положительная
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	5	Поверхность частицы реакторного графита, 1994 г.	$3,6 \cdot 10^6$ (Бк/кг)	$(5,3 \pm 0,2) \cdot 10^4$ $(8,0 \pm 0,2) \cdot 10^4$ положительная
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	60	Помещение объекта "Укрытие", 1997 г.	$\alpha - 50$ (Бк/см ²) $\beta - 500$ (Бк/см ²)	$(8,0 \pm 0,2) \cdot 10^4$ положительная
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	1941	Почва "Рыжего леса", 1994 г.	$3,2 \cdot 10^6$ (Бк/кг)	$(8,0 \pm 0,2) \cdot 10^4$ $(10,0 \pm 0,2) \cdot 10^4$ положительная
<i>Penicillium roseo-purpureum</i>	147	Почва "Рыжего леса", 1987 г.	$1,4 \cdot 10^6$ (Бк/кг)	$(7,5 \pm 0,2) \cdot 10^4$ $(10,0 \pm 0,2) \cdot 10^4$ положительная

Мы остановили свой выбор именно на этих штаммах, так как *Cl. cladosporioides-4* и *P. roseo-purpureum-147* были выделены из высокорadioактивных почв более чем 15 лет назад, они разрушали “горячие” частицы в модельной системе. Вид *Paecilomyces lilacinus-1941* является биоиндикатором высоко- и среднезагрязненных радионуклидами почв (от 10^{-3} до 10^{-7} Ки/кг). Штамм *Cl. cladosporioides-5* был выделен с поверхности реакторного графита, а *Cl. sphaerospermum-60* – из внутренних помещений объекта “Укрытие”. Этот вид доминировал в большинстве изученных нами помещений “саркофага”.

Все эти штаммы в нашей модельной системе проявили способность направленного роста к гамма-излучению источника ^{123}Te . На рис. 3 представлены фотографии штаммов *Paecilomyces lilacinus-1941* и *Cl. cladosporioides-4*.

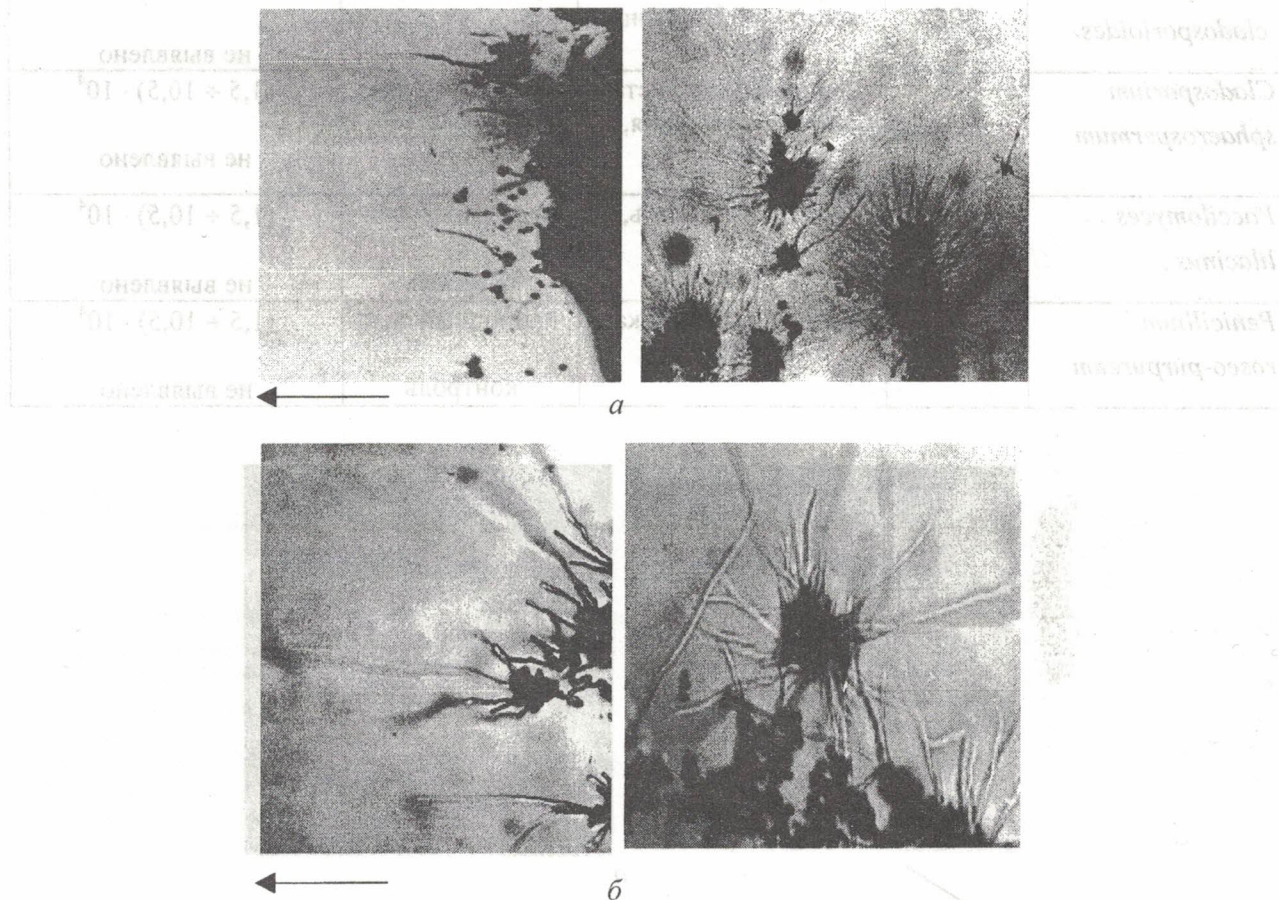


Рис. 3. Грибы из музея Института микробиологии и вирусологии НАН Украины:
а - *Paecilomyces lilacinus-1941*; б - *Cl. cladosporioides-4*.

Следовательно, даже после длительного хранения эти штаммы не утратили свойства позитивного радиотропизма. Однако следует отметить, что уровни радиоактивности, при которых наблюдали радиотропные реакции ростковых гиф, у разных штаммов различные.

Четвертую группу составили музейные штаммы, выделенные из чистых территорий и не обладающие признаком позитивного радиотропизма. В табл. 4 представлены сведения об этих штаммах. Следует заметить, что штамм *Cl. cladosporioides-396* был выделен в 1957 г.

На рис. 4 представлены фотографии *Cl. cladosporioides-396* и *Paecilomyces lilacinus-101*. У всей этой группы штаммов не обнаружено направленного роста гиф к источнику радиоактивного излучения.

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать ряд обобщений.

1. С помощью модельной системы, создающей градиент потока γ -квантов в объеме агаризованной среды для воздействия на рост грибов, было установлено, что шесть из 11 изученных нами штаммов (10 видов), выделенных в 2002 г., проявили свойство направленного

ного роста гиф к источнику ионизирующего излучения при активности потока на выходе коллиматора в диапазоне от $1,5 \cdot 10^4$ до $10,5 \cdot 10^4$ Бк.

Таблица 4. Виды микромицетов для исследования радиотропизма, выделенные из объектов окружающей среды

Вид	Штамм	Место и время выделения	Радиоактивность субстрата на момент выделения	Наличие тропических реакций к ИИИ ^{123}Te активность на выходе коллиматора, Бк
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	396	Черноземные почвы восточной Украины, 1957 г.	природный фон контроль	$(1,5 \div 10,5) \cdot 10^4$ не выявлено
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	3176	Дерново-подзолистая почва, Феофания, 1997 г.	природный фон контроль	$(1,5 \div 10,5) \cdot 10^4$ не выявлено
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	101	Крым, Коктебель, 2000 г.	природный фон контроль	$(1,5 \div 10,5) \cdot 10^4$ не выявлено
<i>Penicillium roseo-purpureum</i>	100	Воздух, библиотека, 1999 г.	природный фон контроль	$(1,5 \div 10,5) \cdot 10^4$ не выявлено

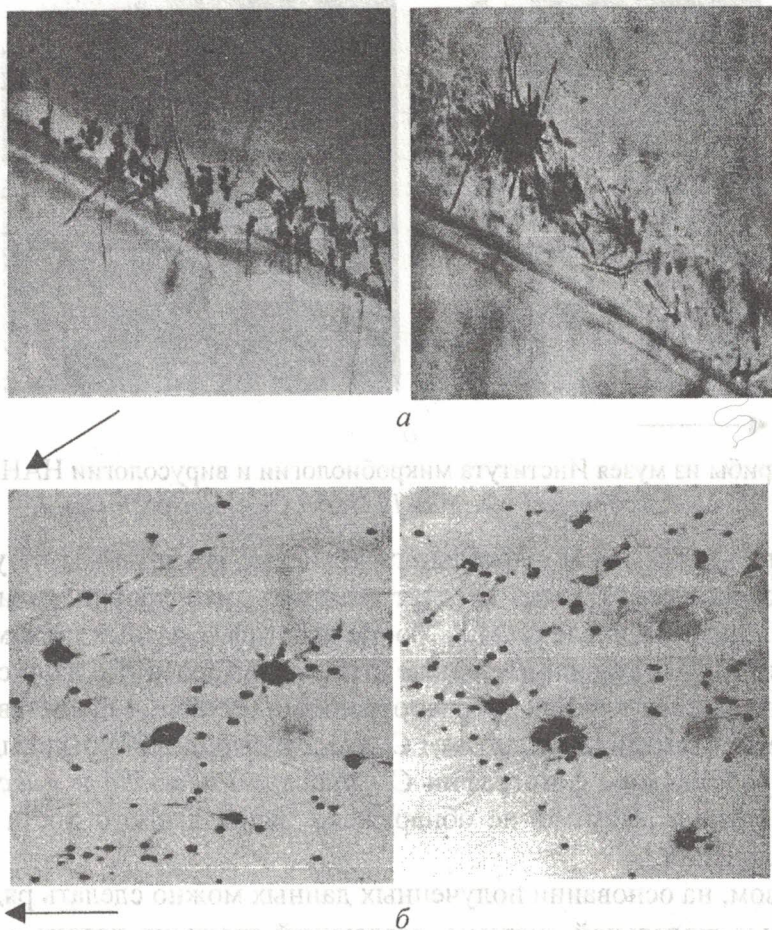


Рис. 4. Штаммы микрогрибов, не проявившие радиотропизм:
а - *Cl. cladosporioides*-396; б - *Paecilomyces lilacinus*-101.

2. Исходя из того, что в состав выделенных в 2002 г. "горячих" частиц входят изотопы ^{137}Cs – 80 %, ^{134}Cs – 0,2 %; ^{90}Sr – 20 %, $^{154+155}\text{Eu}$ – 1,0 %, а также ^{241}Am – 1,0 % и изотопы урана и плутония, предполагаем, что грибы, выделенные в активном состоянии с поверхности этих "горячих" частиц и проявившие свойство позитивного радиотропизма, потенциально могут быть биодеструкторами и принимать участие в процессах биогенной трансформации такого рода частиц в почве.

3. После длительного хранения на сусло-агаре изученные наиболее активные радиотропные штаммы из коллекции отдела не утратили свойства позитивного радиотропизма. Полученные данные свидетельствуют в пользу того, что это свойство закреплено у исследуемых штаммов конститутивно.

4. Ответные реакции грибов наблюдались при очень низких мощностях дозы радиации, и, следовательно, грибы обладают высокочувствительными сенсорными механизмами по отношению к такому слабому внешнему раздражителю, как γ - и рентгеновское излучение ^{123}Te при малой его интенсивности.

Исходя из энергетических характеристик используемого нами источника γ -излучения, поток квантов при прохождении в объеме питательной среды индуцирует радиотропную реакцию, оказывая воздействие посредством передачи энергии по принципу фотоэлектрического эффекта, при этом возникает вторичное фотонное излучение светового диапазона, энергия которого, исходя из состава материалов на которых происходит рассеяние, составляет порядка 1 - 2 эВ. Такое вторичное фотонное излучение также может быть одним из индукторов радио- фототропной реакции, которую мы наблюдали у исследуемых грибов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Василевская А.И., Жданова Н.Н., Гаврилюк В.И. Динамика содержания грибного мицелия в почвах стационаров 30-км Зоны ЧАЭС // Микробиол. журн. - 1993. - Т. 55, № 4. - С.8 - 15.
2. Жданова Н.Н., Василевская А.И., Артышкова Л.В., Гаврилюк В.И. Динамика комплексов микромицетов загрязненных радионуклидами почв // Микология и фитопатология. - 1990. - Т. 24, № 6. - С.504 - 512.
3. Жданова Н.Н., Лашко Т.Н., Редчиц Т.И. и др. Взаимодействие почвенных микромицетов с "горячими" частицами в модельной системе // Микробиол. журн. - 1991. - Т. 53, № 4. - С.3 - 9.
4. Великанов Л.Л., Сидорова И.И. Некоторые биохимические аспекты в экологии грибов // Успехи микробиологии. - 1983. - №18. - С. 112 - 132.
5. Жданова Н.Н., Василевская А.И. Меланинсодержащие микромицеты в экстремальных условиях. - Киев: Наук. думка, 1988. - 194 с.

ВПЛИВ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ МАЛОЇ ІНТЕСИВНОСТІ НА ПРОЯВ РЕАКЦІЙ РАДІОТРОПІЗМУ У ГРИБІВ

Т. І. Тугай, Н. М. Жданова, Т. І. Редчиць, В. О. Желтоножський, Л. В. Садовников

Розроблено експрес-метод та модельну градієнтну систему впливу γ -випромінювання на проростання гіфів мікромицетів. Вивчено більш як 200 штамів мікрогрибів (37 видів та 20 родів). Показано, що приблизно 20 % з них, спори яких було вилучено з високорадіоактивних субстратів з 5-кілометрової зони ЧАЕС та приміщень 4-го блока, проявляють позитивний радіотропізм.

INFLUENCE OF LOW LEVEL IONIZING IRRADIATION ON SPREAD OF POSITIVE RADIOTROPISM AMONG FUNGI

T. I. Tugay, N. N. Zhdanova, T. I. Redchits, V. A. Zheltonozhsky, L. V. Sadovnikov

Express method and model gradient system of γ -ray action on the gifes micromycetes growth were developed. More then 200 stammes (37 formes, 20 family) were studied. It was shown that about 20 % of them, the spores of which were extracted from highly radioactive substractes in 5 km Chernobyl zone and the premises of the 4-th reactor unit, have positive radiotropism properties.

Поступила в редакцию 09.04.03,
после доработки – 08.07.03.