

## ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА НА КОРАБЛЕ-СПУТНИКЕ НА СОХРАНЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КУЛЬТУРЫ ХЛОРЕЛЛЫ

*В. Е. Семенов, М. Г. Владимирова*

При освоении космического пространства, когда экипажи космонавтов вынуждены будут находиться в полетах в течение многих месяцев и, возможно, лет, а также при высадке на другие планеты в качестве одного из вариантов жизнеобеспечения людей предполагается создание в герметических кабинах экологической системы, в значительной мере имитирующей условия жизни на Земле (Второй советский космический корабль, 1960; Гюрджян, 1961; Mangelsdorf, 1959; Stile, 1960; Nakamura, 1959).

При этом существенная роль отводится фотосинтезу зеленых растений, в частности фотосинтезу микроскопических одноклеточных водорослей, которые могут быть использованы для регенерации воздуха, а также для обеспечения экипажа корабля пищей (Nakamura, 1959; Ничипорович, 1961; Strughold *et al.*, 1959). Поэтому необходимо было изучить сохранение жизнеспособности водорослей после воздействия на них комплекса условий космического полета.

Такие исследования, проведенные под руководством профессора А. А. Ничипоровича, явились частью медико-биологических экспериментов, осуществляемых на искусственных спутниках Земли (Жуков-Вережников и др., 1961).

Не затрагивая вопросов физической характеристики космической радиации и ее возможного биологического действия, подробно рассмотренных Гюрджяном (1961), остановимся на работах, касающихся воздействия жестких излучений на одноклеточные зеленые водоросли.

Из литературы известно, что одноклеточные организмы, как правило, оказываются значительно менее чувствительными к облучению, чем клетки сложноорганизованных форм (Александр,

1959). В частности, весьма высокая резистентность к радиации, по сравнению с высшими растениями и животными, отмечена Годвардом (Godward, 1960) для различных видов водорослей. При этом автор особо подчеркивает высокую резистентность хлореллы, выживающей при таких экспериментальных дозах облучения, как 1 000 000 *rad*. В то же время, в ряде работ (Gilet, Ozenda, 1960; Мусаев, 1961; Schwarze, Frandsen, 1960) отмечается заметное подавление роста, выцветание хлорофилла, разрушение клеток при облучении  $\gamma$ - и  $x$ -лучами уже при дозах 20—25 тыс. *r*. Меньшие дозы облучения (от 1—5 до 20 тыс. *r*), дающие некоторую временную стимуляцию роста культур, также вызывают значительные изменения в клетках водорослей, о чем можно судить по обесцвечиванию клеток и изменению их формы и размера. При этом наиболее чувствительным к облучению, по-видимому, оказывается фотосинтетический процесс выделения кислорода, как это было показано Циллем и Тольбертом (Zill u. Tolbert, 1958).

При дозах облучения выше 20—25 тыс. *r* происходит задержка в восстановлении нормального роста водорослей, пропорциональная увеличению радиации. Так, Гиле (1960) наблюдал в культурах *Scenedesmus* при облучении их рентгеновыми лучами с общей дозой 160 000 *r* возобновление роста только на 39-й день.

С другой стороны, известно, что при невысоких летальных дозах облучения гибель клеток может наступать не сразу, а в результате развивающейся, иногда длительно, реакции последействия. Как было показано для дрожжей (Тарусов, 1960), в результате реакции последействия гибель клеток может наступать на 3—15-м делении после  $\gamma$ -облучения, а это свидетельствует о том, что первые клеточные деления нельзя рассматривать как признак отсутствия поражения. Мусаев (1961) наблюдал полную гибель клеток хлореллы после облучения в 200 тыс. *r* и выше только на 15—20-е сутки культивирования.

Таким образом, в результате воздействия жестких излучений, а также всего комплекса условий космического полета в культуре водорослей может наступить гибель клеток или произойти подавление роста и частичная и обратимая депрессия фотосинтеза; могут также возникнуть глубокие нарушения метаболизма с изменением интенсивности фотосинтеза, процессов деления и образованием мутантных форм.

Следовательно, для выяснения воздействия космических лучей и всего комплекса космического полета на клетки водорослей было необходимо подвергнуть культуру, экранированную в космическом пространстве, детальному изучению не только сразу после полета, но и в дальнейшем в ряде опытов по росту, развитию и сохранению наследственных свойств такой культуры.

## ХАРАКТЕРИСТИКА КУЛЬТУРЫ И УСЛОВИЯ ОПЫТА

Опыты проводились на культуре *Chlorella pyrenoidosa*, которая по сравнению с культурой *Chlorella vulgaris* значительно более чувствительна к воздействию внешних факторов (Мусаев, 1961).

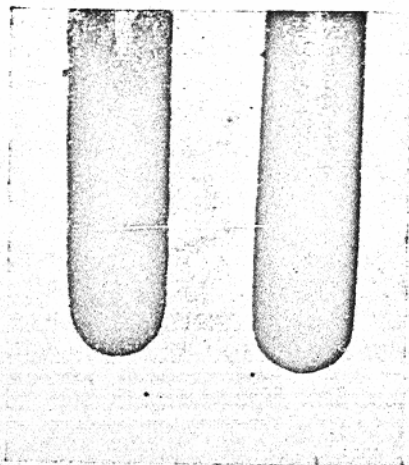


Рис. 1. Ампулы из органического стекла с культурой хлореллы на косом агаре и в жидкой среде

Поскольку известно (Александр, 1959), что клетки, находящиеся в активном физиологическом состоянии, более чувствительны к радиации, в опыте использовались как культуры в неактивном состоянии — в виде штриха на косом агаре, так и культуры на жидкой питательной среде, взятые в период их интенсивного роста. Все варианты опыта ставились в двух повторностях. Культура в жидкой среде, взятая при различной плотности суспензии, разливалась в стеклянные ампулы, которые затем запаивались в специальные чехлы из прозрачной пленки (рис. 2) для предотвращения попадания жидкости в кабину в случае повреждения. Ампулы закреплялись в блок-штативе (рис. 3), располагаемом во время опыта в катапультируемой капсуле таким образом, что суспензия водорослей могла

Таблица 1

Варианты культуры хлореллы, использованные в опыте

№ варианта	№ повторности	Характеристика варианта		
		ампула	среда	число клеток в 1 мл суспензии
I	1	Органическое стекло, в темноте	Агар-агар	Штрих
	2			
II	1	То же	Жидкая среда	37,5 · 10 <sup>6</sup>
	2			
III	1	Стекло, на свету	»	232,0 · 10 <sup>6</sup>
	2			
IV	1	То же	»	37,5 · 10 <sup>6</sup>
	2			
V	1	»	»	3,0 · 10 <sup>6</sup>
	2			

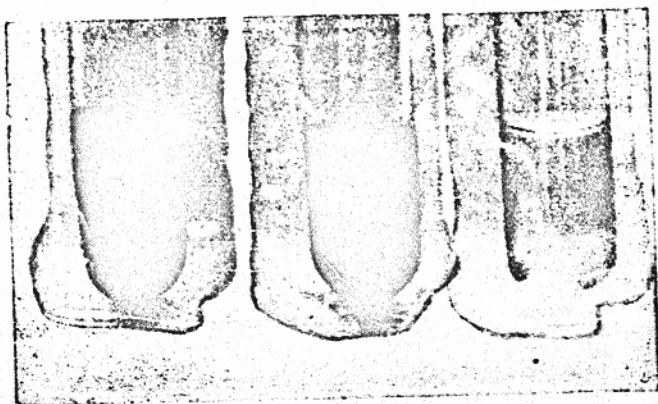


Рис. 2. Защитные чехлы на стеклянных ампулах с суспензией хлореллы

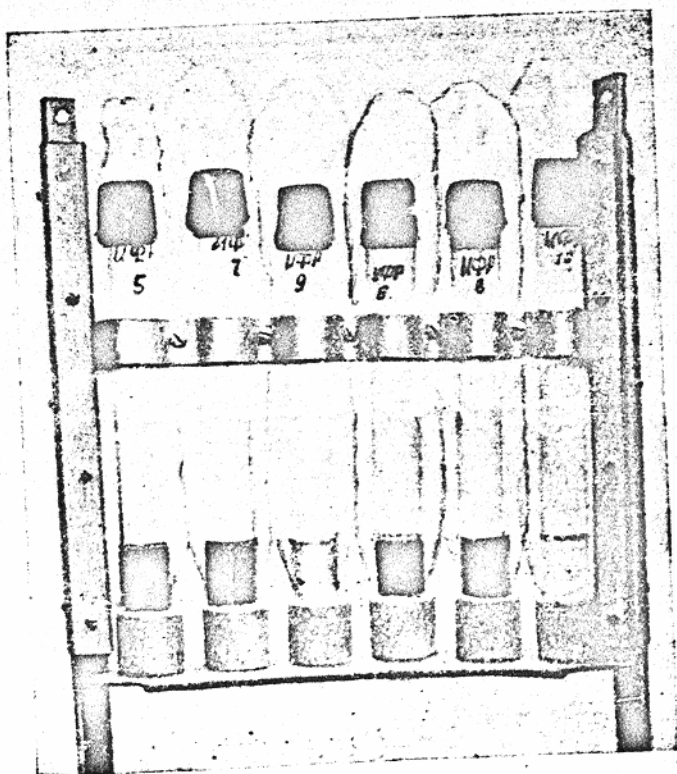


Рис. 3. Блок-штатив с ампулами с суспензией хлореллы в жидкой среде

освещаться во время киносъемок и телепередач с корабля. Культура на скошенном агаре и один из вариантов культуры на жидкой среде экспонировались в темноте в ампулах из органического стекла (рис. 1), размещенных в контейнере вместе с другими микроорганизмами. В табл. 1 приведена характеристика всех вариантов опыта.

Параллельно с опытными готовился контрольный комплект ампул, также в двух повторностях. До экспонирования в космическом пространстве опытный и контрольный комплекты хранились в рефрижераторе при температуре 5—10°, во время экспонирования опытных ампул в космическом пространстве контрольные ампулы сохранялись на Земле в тех же условиях температуры, в темноте или при освещении светом такой же интенсивности и с такими же интервалами, что и опытные ампулы.

### ИЗУЧЕНИЕ КУЛЬТУР, ЭКСПОНИРОВАВШИХСЯ В КОСМИЧЕСКОМ ПРОСТРАНСТВЕ, СРАЗУ ПО ВОЗВРАЩЕНИИ ИХ НА ЗЕМЛЮ

Состояние клеток водорослей, побывавших в космическом полете, определялось сразу же по их возвращении на Землю путем изучения внешних признаков, микроскопического наблюдения и выяснения сохранения фотосинтетической активности методом Винклера по сравнению с контрольными образцами.

При изучении внешнего состояния культуры не было обнаружено ни слипания клеток в комки, ни хлопьевидного осадка, ни других ненормальных явлений, свидетельствовавших о заболевании культуры. Отмечено лишь, что в опытных вариантах III, IV и V произошла слабая этиоляция суспензии по сравнению с контрольными.

Результаты микроскопического анализа, представленные в виде рисунков (рис. 4, а—д), говорят о том, что все культуры, бывшие в опыте, отличаются от контрольных наличием разрушенных клеток. Относительно большее количество разрушенных клеток обнаружено в вариантах с меньшей плотностью суспензии.

#### Протоколы микроскопического анализа к рис. 4

(номера вариантов соответствуют вариантам, указанным в табл. 1)

##### *а — исходная культура хлореллы.*

Клетки ярко-зеленые, с резко очерченными четкими краями. сочные, в основном молодые, недавно разделившиеся, среднего и несколько ниже среднего размера. Около 8—15% крупных, делящихся клеток. Пиреноид четкий.

##### *б — II вариант.*

##### *1-я повторность*

Опыт — Клетки в основном средних размеров, ярко-зеленые. четкие, но есть пустые, разрушенные клетки, попадаются осколки.

**Контроль** — Клетки ярко-зеленые с четкими краями. Пиреноид есть. Клетки в основном среднего размера и несколько большего, есть делящиеся.

*2-ая повторность*

**Опыт** — Очень много разрушенных, «расплывшихся» клеток: осколки, капли зеленой протоплазмы. Клетки без пиреноида, средних размеров и мелкие.

**Контроль** — Клетки в основном среднего размера, изредка — делящиеся. Все клетки ярко-зеленые, с резко очерченными краями, оптически полные. Пиреноида нет. Культура очень однородная.

*в — III вариант.*

*1-ая повторность*

**Опыт** — Клетки ярко-зеленые, с резко очерченными краями, четкие, пиреноид есть — небольшой. Клетки в основном среднего и несколько меньшего размера, есть делящиеся и только что разделившиеся. Встречаются «рыхлые» губчатые клетки.

**Контроль** — Культура равномерная в отношении размера клеток. Клетки в основном молодые, среднего размера, ярко-зеленые, с резко очерченным краем. Есть делящиеся клетки на 4 и более.

*2-ая повторность*

**Опыт** — Клетки в основном средние и мельче. Нормально окрашены, края четкие. Встречаются зернистые, крупные клетки, иногда разрушенные с расплывшейся протоплазмой. Пиреноид есть.

*г — IV вариант.*

*1-ая повторность*

**Опыт** — Клетки нормально окрашены, молодые, среднего размера с четким пиреноидом и резко очерченными краями; редко, но есть разрушенные клетки.

**Контроль** — Клетки нормально окрашены, в основном средние и ниже среднего размера. Иногда встречаются и крупные, зернистые. Очень редко — пустые оболочки.

*2-ая повторность*

**Опыт** — Культура загрязнена, много разрушенных клеток, бактерий. Клетки мелких и средних размеров ярко-зеленые.

**Контроль** — Ярко-зеленые клетки, среднего размера и мельче. Края резко очерчены, пиреноид четкий. Есть крупные, зернистые, делящиеся клетки.

*д — V вариант.*

*1-ая повторность*

**Опыт** — Клетки среднего размера и несколько больше, много мелких, у большей части клеток края несколько размыты. Много клеток зернистых, разрушенных и полуразрушенных с расплывшейся протоплазмой. Есть единичные делящиеся клетки.

**Контроль** — Клетки ярко-зеленые, главным образом среднего размера, есть мельче и крупнее. Изредка — очень крупные,

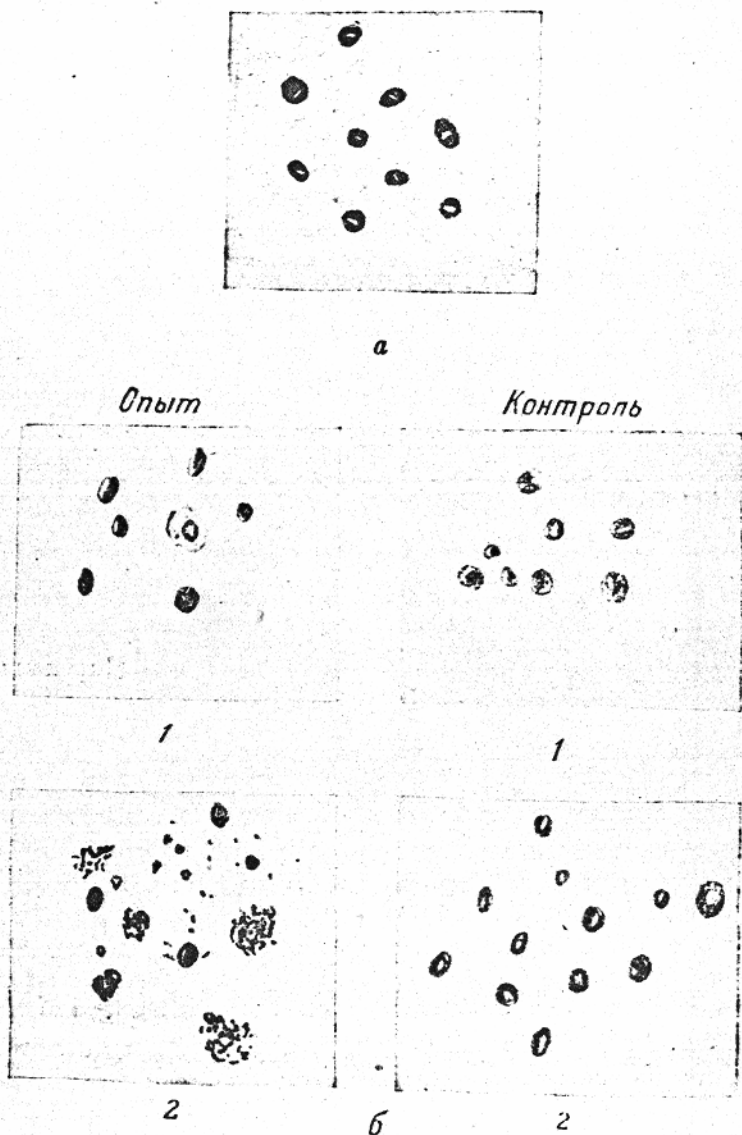
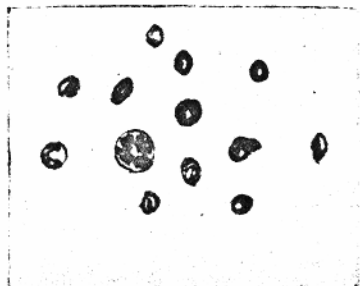
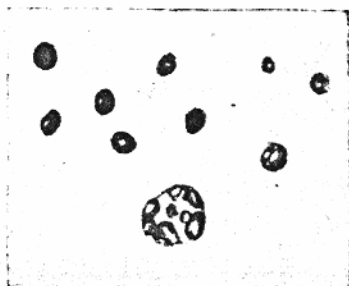


Рис. 4. (стр. 196, 197, 198) Сравнительно-морфологическая характеристика культуры хлореллы, экспонировавшейся в космическом пространстве (табл. 1)

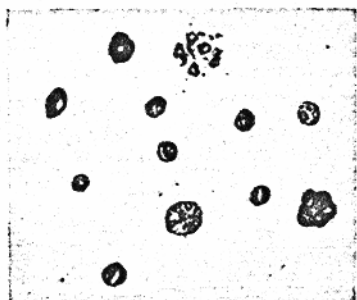
а -- исходная культура хлореллы; б -- II вариант.



Опыт 1



Контроль



Опыт 2

в

Опыт



1

Контроль



1



2



2

Рис. 4. (продолжение)

ε — III вариант; ε — IV вариант

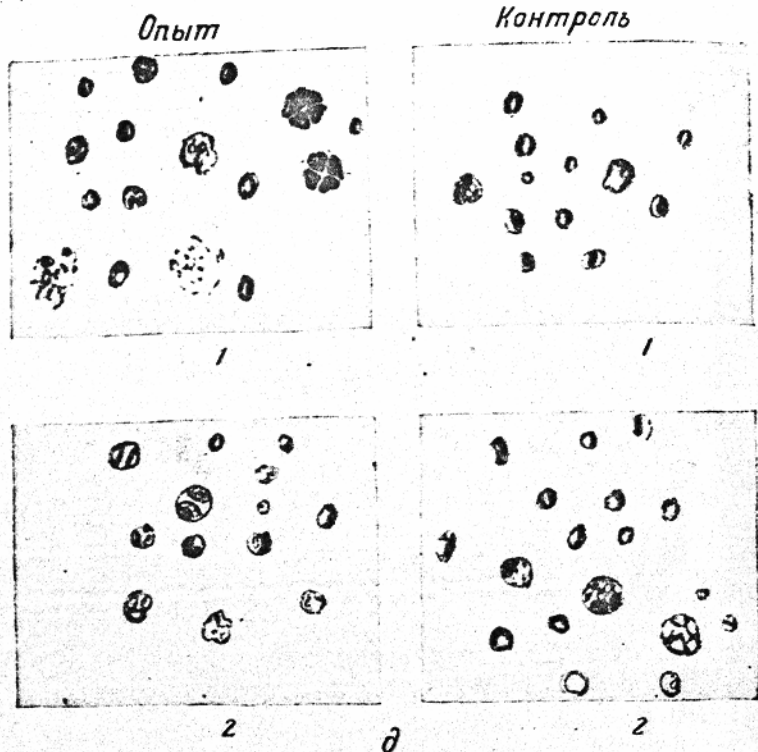


Рис. 4 (окончание)  
 а - V вариант

зернистые клетки. Края резко очерченные. Переноид есть. Встречаются делящиеся клетки. Разрушенных нет.

*2-ая повторность*

Опыт — Клетки ярко-зеленые. Есть делящиеся, «бугристые» в основном среднего размера. Встречаются светло-зеленые клетки.

Таблица 2

Определение интенсивности фотосинтеза клеток водорослей после экспонирования их в космическом пространстве по сравнению с контрольными

№ варианта	Число клеток в 1 см <sup>3</sup> при экспозиции по методу Винклера		Количество мг/О <sub>2</sub> на 1 млн. клеток при двухчасовой экспозиции	
	опыт	контроль	опыт	контроль
I	0,38 · 10 <sup>6</sup>	0,26 · 10 <sup>6</sup>	4,21 · 10 <sup>-3</sup>	1,15 · 10 <sup>-3</sup>
III	0,79 · 10 <sup>6</sup>	0,92 · 10 <sup>6</sup>	2,28 · 10 <sup>-3</sup>	3,15 · 10 <sup>-3</sup>
V	0,21 · 10 <sup>6</sup>	0,22 · 10 <sup>6</sup>	1,43 · 10 <sup>-3</sup>	6,82 · 10 <sup>-3</sup>

**Контроль** — Клетки среднего размера и крупные. Ярко-зеленые, часто хроматофор прилегает к оболочке. Края резко очерчены, пиреноид четкий. Есть крупные зернистые клетки и делящиеся.

Измерение фотосинтеза опытных и контрольных культур методом Винклера показало снижение фотосинтетической активности клеток в опытных вариантах (табл. 2).

Экспозиция всех вариантов проводилась в трех повторностях в течение двух часов при освещении  $10 \times 10^3$  люкс на поверхности склянок.

Таким образом, условия космического полета вызвали в культуре хлореллы изменение функционального и морфологического состояния клеток, находившихся во время опыта в виде суспензии на жидкой среде, в то время, как водоросли, находившиеся в виде штриха на косом агаре, сохранили интенсивную зеленую окраску, не изменились морфологически и обладали высокой фотосинтетической активностью.

Опыты по изучению роста культур водорослей, экспонированных в космическом пространстве, и по выявлению мутантных форм должны были ответить на вопрос, насколько глубоким оказалось воздействие условий космического полета на жизнеспособность и основные физиологические функции хлореллы.

### ИЗУЧЕНИЕ РОСТА ХЛОРЕЛЛЫ В КУЛЬТУРЕ ПОСЛЕ ЭКСПОНИРОВАНИЯ В КОСМИЧЕСКОМ ПРОСТРАНСТВЕ

Опыты по выращиванию культур *Chlorella* проводились в условиях, обеспечивающих интенсивный рост водорослей (Владими-

Таблица 3

Сравнительная характеристика скорости роста опытных и контрольных образцов культуры *Chlorella pyrenoidosa*

№ варианта	Образец	Количество клеток по ходу роста культуры, млн/мл			
		засев	2-й день	4-й день	6-й день
I	Опыт	0,46	4,37	143,7	338,2
	Контроль	0,31	2,40	125,0	382,5
II	Опыт	0,67	12,85	124,7	437,5
	Контроль	0,61	13,90	206,0	383,7
III	Опыт	6,40	50,80	255,3	494,0
	Контроль	12,00	66,90	364,5	438,5
IV	Опыт	1,55	16,85	169,8	398,5
	Контроль	1,97	27,20	243,9	468,3
V	Опыт	0,29	1,60	92,5	355,0
	Контроль	0,43	4,45	137,5	385,0

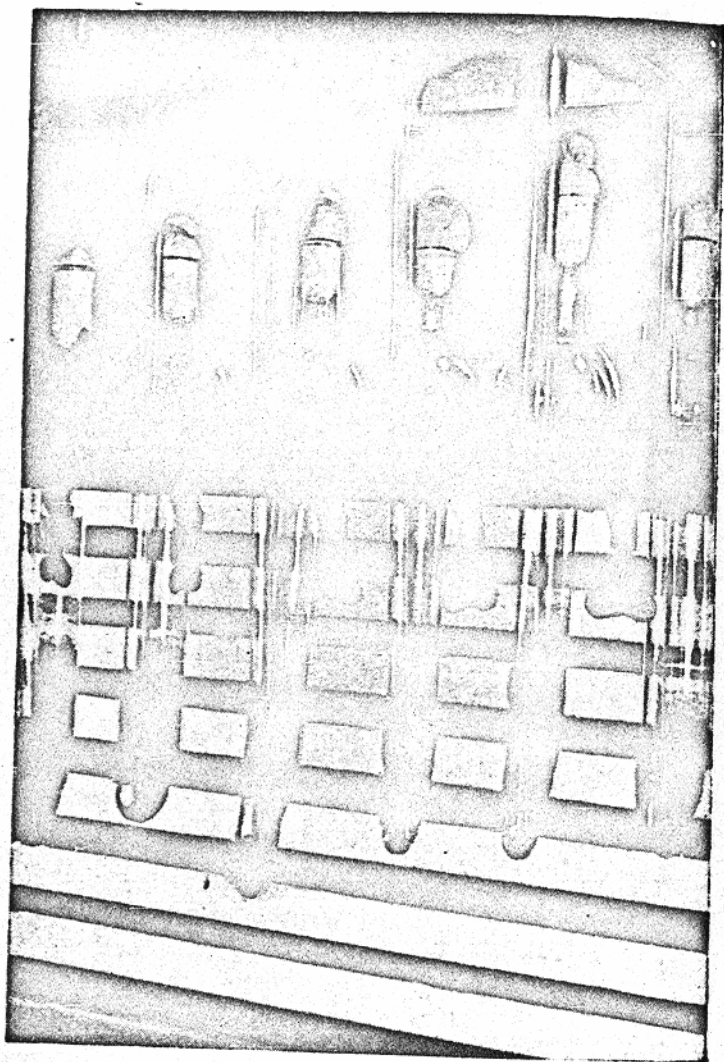


Рис. 5. Сосуды для культивирования водорослей, обеспечивающие их интенсивный рост

рова, Семененко, 1962) на жидкой минеральной среде в сосудах с продуванием суспензии воздухом, обогащенным углекислотой (рис. 5). Засев всех вариантов проводился одинаковым по объему

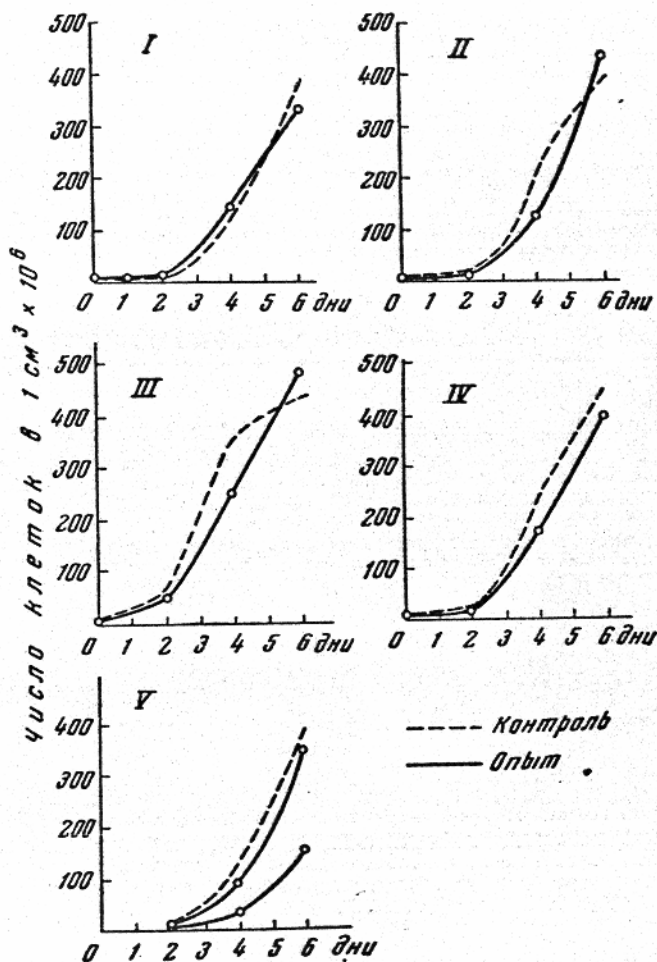


Рис. 6. Кривые роста опытных и контрольных культур хлореллы при выращивании их после экспонирования опытных образцов в космическом пространстве

Римские цифры — варианты опытов

количеством посевного материала и, следовательно, контрольные и опытные образцы одного и того же варианта могли отличаться не по общему начальному числу клеток, а лишь по числу жизнеспособных клеток.

Сравнительная характеристика опытных и контрольных образцов *Chlorella* по числу клеток, сухому весу и интенсивности фотосинтеза (по выделению  $O_2$ ) на 6-й день культивирования

№ варианта	Плотность суспензии, млн. клеток на 1 мл				Сухой вес, мг				Интенсивность фотосинтеза, мг $O_2$ на 1 млн. клеток	
	исходная		в конце опыта		на 1 см <sup>3</sup> суспензии		на 100 млн. клеток		опыт	контроль
	опыт	конт-роль	опыт	конт-роль	опыт	конт-роль	опыт	конт-роль		
I	0,46	0,31	338,2	382,5	3,8	3,7	1,1	1,0	$5,3 \cdot 10^{-3}$	$5,3 \cdot 10^{-3}$
II	0,67	0,61	437,5	383,7	4,3	4,6	1,0	1,2	—	—
III	6,4	12,2	494,0	438,5	5,6	5,7	1,1	1,3	$10,4 \cdot 10^{-3}$	$11,9 \cdot 10^{-3}$
IV	1,55	1,97	398,5	468,3	4,7	4,8	1,2	1,1	—	—
V	0,29	0,43	355,0	385,0	4,4	4,8	1,2	1,2	$1,2 \cdot 10^{-3}$	$9,2 \cdot 10^{-3}$

По ходу роста культур проводился подсчет числа клеток под микроскопом и нефелометрически, в конце опыта учитывался сухой вес культуры и интенсивность фотосинтеза клеток хлореллы. Результаты опытов приведены в табл. 3, на рис. 6 и в табл. 4.

Сравнение опытных и контрольных культур водорослей по кинетике роста, накоплению ими органического вещества, по морфологии, размерам и сухому весу клеток, а также по активности фотосинтетического выделения кислорода показывает, что различия между опытными и контрольными культурами находятся в пределах ошибки измерения. Исключение составляет вариант V, отличающийся при определении фотосинтеза низкой фотосинтетической активностью клеток и давший резкое расхождение повторностей по характеру роста (рис. 6, V).

Рассмотрение всех полученных материалов приводит к заключению, что отклонения в состоянии культур водорослей, находившихся в течение 24 часов в полете на космическом корабле, от контрольных культур, наблюдавшиеся при первичной обработке, практически были полностью сняты при культивировании водорослей в активных условиях.

О том, что в культурах хлореллы не произошло глубоких необратимых изменений, свидетельствует и попытка выявления мутантных форм, для получения которых пробы опытных и контрольных образцов высевались на чашки Петри с агаризованной минеральной средой и на агаризованное суело (1° Блг.). Видимого изменения колоний, позволяющего провести выделение мутантных

форм, не сказались: во всех опытных и контрольных вариантах были получены однородные по цвету, форме и размеру колонии водорослей. Аналогичные результаты получены авторами при повторных испытаниях хлореллы.

В опыте, проведенном в ноябре 1960 г. в США на спутнике «Дискаверер XVII», как сообщает Балбон (Bulbon, 1961), также не было обнаружено изменений в культуре водорослей.

## ВЫВОДЫ

1. Культура водорослей *Chlorella pyrenoidosa*, находившаяся в полете на втором советском космическом корабле в течение 24 часов, не подверглась действию губительных факторов во время запуска корабля, полета и приземления его, сохранила после этого жизнеспособность и не обнаруживает необратимых изменений в основных физиологических процессах: фотосинтезе, росте, развитии и размножении.

2. Сразу же после возвращения на Землю культуры отличались пониженной активностью фотосинтеза, имели значительное число разрушенных клеток. Однако после шестидневного выращивания их в активных условиях водоросли полностью приблизились к контрольным и обычным культурам.

## ЛИТЕРАТУРА

- Александр П. Ядерное излучение и жизнь. Атомиздат, 1959.
- Владимирова М. Г., Семенов В. Е. Интенсивная культура водорослей. Изд-во АН СССР, 1962.
- Второй советский космический корабль. Материалы, опубликованные в газете «Правда», Изд-во «Правда», 1960.
- Гюрджян А. А. Успехи современной биологии, 51, 4, 1961.
- Гюрджян А. А. Искусственные спутники земли. № 12, 1962.
- Жуков-Вережников Н. Н., Майский И. Н., Яздовский В. И. и др. Искусственные спутники земли. № 11, 1961.
- Мусаев К. Ю. Всесоюзное совещание по культивированию одноклеточных водорослей. Тезисы докл. Л., 1961.
- Ничипорович А. А. О производственной культуре одноклеточных водорослей. Изд-во «Знание», 1961.
- Тарусов Б. Н. В кн.: «Физико-химические и структурные основы биологических явлений». Изд-во АН СССР, 1960.
- Bulbon E. Aviat Week a. Space Technol., 74, 1, 1961.
- Gilet R., Ozenda P. C. R. Acad. Sci., 250, 8, 1960.
- Godward M. B. E. Nature (London), 185, 4714, 1960.
- Mangelsdorf J. Paper Amer. Soc. Mech. Engrs., 1959. NAV-56.
- Nakamura H. Publ. by Japan Astron. Soc. (J. A. S.), 1959.
- Schwarze P. und Frandsen N. O. Naturwissenschaften, 47, 2, 1960.
- Still E. W. J. Brit. Intern. Soc., 17, 8, 1960.
- Strughold H., Benson O. New Engl. J. Med., 261, 10, 1959.
- Zill L. P. und Tolbert N. E. Arch. Bioch. a. Biophys., 76, 196, 1958