

Влияние диссимметриатора на выживаемость и продолжительность жизни нематод *Caenorhabditis elegans* штамм N18

Руководитель эксперимента

Профессор РАЕ, почетный доктор наук, к.б.н. МГУ Прохоров Л.Ю.

Методы исследования

Чашки с нематодами для облучения располагаются на поверхности диссимметриатора. Чашки Петри пластмассовые диаметром 35 мм с 3-мя вставками из ПВХ колец, диаметром 14 мм. В каждое кольцо заливается агаровая подложка, закладывается питание для нематод и помещается по 1-3 нематоды.

Для эксперимента сформировали две группы чашек: 1) контроль; 2) чашки, стоящие на диссимметриаторе. Контрольные чашки ставили на расстоянии 3.5 м от диссимметриатора. Облучение диссимметриатором составляло от 1 до 5 ч в сутки, в среднем 2.9 ч/сут. Каждая группа состояла из 7 чашек по 38 нематод в группе. Предварительно сформирована одна линия нематод для посева взрослых одиночных нематод в чашки Петри с кольцами. Возраст нематод на начало действия диссимметриатора 6 сут.

Первоначальный высев нематод производили из подготовленного пула нематод с определенной продолжительностью жизни 5 суток по 1-3 нематоды в одно кольцо. Для обеспечения более пологой кривой выживания и лучшего выявления особенностей действия того или иного фактора на жизненные характеристики нематод, чаши с посевами нематод помещали перед началом эксперимента в холодильник на несколько часов при температуре 5 - 7 градусов.

Для эксперимента чашки извлекали из холодильника, 7 опытных чашек ставили на диссимметриатор (Рис. 2), а контрольные 7 чашек размещали на расстоянии 3.5 м от него.

После проведения облучения опытных чашек, обе группы чашек помещали обратно в холодильник при 5-7С.. Далее ежедневно чашки вынимали из холодильника, переносили в стерильный ламинарный шкаф, где с помощью микроскопа производили подсчет оставшихся живых нематод и добавление, при необходимости, воды для предотвращения высыхания агаровой подложки. Опытные чашки ставили на диссимметриатор, а контрольные – на расстоянии 3.5 м от него. После завершения облучения те и другие чашки возвращали обратно в холодильник при температуре 5-7С.

В течение эксперимента подбирали время облучения нематод диссимметриатором от 1 до 5 ч, чтобы установить оптимальную величину и максимально допустимое значение. Определили, что 5 часов не является токсическим временем и не ухудшает жизнеспособность нематод. Определили оптимальное время 3 часа. Фактическое среднее облучение составило 2.9 ч/сут.

Результаты

Результаты приведены на рисунках 1 и 2, а также в таблицах 1 и 2. На рис. 1 видно, что кривая выживаемости нематод при облучении их диссимметриатором Кутушова М.В. лежит выше, чем кривая выживаемости контрольных нематод, не подвергшихся такому же облучению.

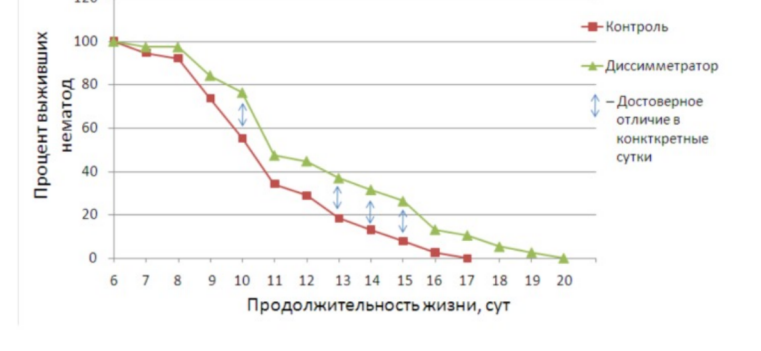


Рисунок 1. Выживаемость нематод при действии диссимметриатора Кутушова М.В.

В нескольких точках кривой на 10, 13, 14 и 15 сутки число живых нематод под действием диссимметриатора достоверно выше, чем в контроле. Это говорит о повышении выживаемости нематод при действии диссимметриатора Кутушова.

Средняя продолжительность жизни (СПЖ) нематод под действием диссимметриатора составляет 13.5 сут, что достоверно выше, чем в контроле (11.3 сут) на 2.2 сут или на 19.3% при уровне значимости $p=0.002$, а максимальная продолжительность жизни (МПЖ) – больше на 17.6% (С диссимметриатором – 20 сут, в контроле – 17 сут).

Отличие определяли по формуле: $\Delta = ((СПЖД-СПЖК)/СПЖК) \times 100\%$, где СПЖД и СПЖК – средняя продолжительность нематод при действии диссимметриатора и в контроле, соответственно. Аналогично вычисляли отличие МПЖ.

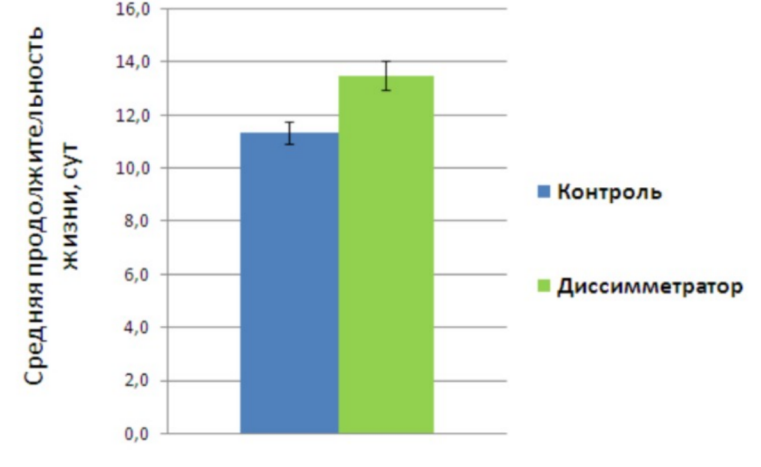


Рисунок. 2. Средняя продолжительность жизни нематод под действием диссимметриатора Кутушова М.В. Показаны ошибки среднего арифметического.

Параметр	Контроль	Диссим- метратор
Средняя ПЖ,сут	11,3	13,5
Ошибки среднего	0,4	0,6
Отличие СПЖ в процентах		19,3
Достоверность отличия (p) по Т-тесту для СПЖ		0,002
Максимальная ПЖ, сут	17	20,0
Отличие МПЖ в процентах		17,6
Исходное число нематод	38	38

Таблица 1. Различные жизненные параметры нематод. Желтым цветом выделено достоверное отличие по Т-критерию Стьюдента при уровне значимости $p<0.05$. ПЖ – продолжительность жизни, СПЖ – средняя продолжительность жизни, МПЖ – максимальная продолжительность жизни.

ПЖ нематод, сут	Время действия диссиммет- ратора, ч	Число нематод в контроле	Число нематод под действием диссиммет- ратора	Отличие числа нематод в данные сутки, %	Достове- рность отличия, p
6	1	38	38		
7	1	36	37	2,8	0,40
8	5	35	37	5,7	0,30
9	1	28	32	14,3	0,21
10	3	21	29	38,1	0,02
11	2	13	18	46,2	0,12
12	5	11	17	54,5	0,14
13	3	7	14	100,0	0,04
14	3	5	12	160,0	0,02
15	3	3	10	233,3	0,02
16	3	1	5	400,0	0,05
17	0	0	4		
18	0		2		
19	0		1		
20	0		0		

Таблица 2. Различные параметры нематод. Отличие числа живых нематод в группе с диссимметриатором и в контроле. Желтым цветом выделены достоверные отличия по Т-критерию Стьюдента при уровне значимости $p<0.05$. ПЖ – продолжительность жизни.

Обнаружено постепенное увеличение разницы между числом нематод в группе при облучении диссимметриатором с числом нематод в группе без обработки, с увеличением времени их жизни (Табл. 2). Отличие определяли по формуле: $\Delta = ((ND-NK)/NK) \times 100\%$, где ND и NK – число нематод при действии диссимметриатора и в контроле, соответственно, в конкретные сутки жизни. Достоверность отличия числа нематод в данные сутки рассчитывали между группами чашек, при этом учитывали число нематод в каждой чашке. Выявлено достоверное отличие в нескольких сутках жизни нематод (Табл. 2).

Выводы

- Диссимметриатор Кутушова М.В. не оказывает вредного воздействия на нематоды при однократном непрерывном облучении за время не менее 5 часов.
- Повышается выживаемость нематод при периодическом ежесуточном действии диссимметриатора Кутушова М.В. от 1 до 5 ч в сутки.
- За время облучения диссимметриатором нематод в среднем 2.9 ч/сут средняя продолжительность жизни достоверно увеличилась на 19.3%, а максимальная продолжительность жизни возросла на 17.6%.
- В нескольких точках кривой выживания на 10, 13, 14 и 15 сутки число живых нематод под действием диссимметриатора достоверно выше, чем в контроле.
- В течение жизни происходит постепенное увеличение разницы между числом живых нематод в группе при облучении диссимметриатором с числом нематод в группе без обработки от 2.8% до 400% и более в конкретные сутки.
- Предварительные результаты показывают положительное действие диссимметриатора на жизнеспособность взрослых нематод, в результате которого возможно увеличение их средней и максимальной продолжительности жизни.
- В связи с проведением только одного эксперимента желательно проведение дополнительно еще двух экспериментов для получения более достоверного результата.