

γ -射线对酵母菌 *Saccharomyces cerevisiae* 的生理影响*

薛禹谷 刘心明

(中国科学院微生物研究所)

Pacinatti 和 Parceli 于 1899 年首先证实了镭射线的杀菌作用,二十世纪四十年代以后,辐射对微生物影响的研究工作越来越多。这些研究,有的已超出了研究微生物学本身的范围,微生物常被作为研究一般放射生物学的某些基本规律和机制的材料。关于射线对微生物的影响,不少报导^[1,2,3,5,9,10]认为是综合性的作用,它决定于微生物细胞的抗辐射能力,受损害细胞的发育和修复过程,后者又取决于细胞的内、外条件和射线的类型等等。本文报告 γ -射线对发酵型酵母菌的一些生理上的影响,包括 γ -射线对酵母菌存活率,细胞繁殖, O_2 的吸收和 CO_2 的释放。

一、材料与方 法

菌种:系中国科学院微生物研究所保藏的 *Saccharomyces cerevisiae*, 菌系 \mathcal{A} , 菌号: 2.576。

菌液制备和干重测定:将预先培养在斜面上的菌种接种在 10 Brix 麦芽汁洋菜培养基上,在 28°C 培养 48 小时后,将菌体用无菌自来水洗下,抽滤,再用无菌自来水清洗三次,按菌体湿重配制成 2% 的菌悬液,同时留部分湿菌在 105°C 下烘干到恒重,以测定干重。

射源和照射方法:所用射源为 Co^{60} , 剂量率为 130 伦/秒,照射方法先将菌悬液 10 毫升注入 20 × 1.9 厘米大试管中,充分摇匀后进行照射,各种剂量处理用时间长短进行调节。

二、实验结果

(一) γ -射线对酵母菌存活率的影响

将受不同剂量 γ -射线(25Kr, 50Kr, 100Kr, 150Kr)照射过的 2% 菌悬液(湿菌含水量为 68.6%),稀释成不同稀释度,采用 10^{-7} 作为测定的稀释度,将菌液摇匀后取出三个 0.05 毫升的菌液分别加在三个略为晾干的 10 Brix 麦芽汁洋菜培养基上,涂匀,按平板法测定。在 28°C 培养 48 小时后计数生长菌落数,换算成每毫升含菌数,六次重复,结果见表 1 及图 1。

本文 1962 年 9 月 7 日收到。

* 本工作在 1960 年,经苏联专家 T. C. Ремезова 指导,后经施履吉先生指导,特此一并致謝。

表 1 不同剂量 γ -射线对酵母菌存活率的影响

处 理 (Kr)	每毫升含菌数 ($\times 10^6$)	存 活 率 (%)	存活菌数对数
对 照	6.58	100	9.82
25	4.79 ± 0.09	72.9 ± 1.4	9.68 ± 0.01
50	3.82 ± 0.15	58.1 ± 2.3	9.58 ± 0.02
100	1.92 ± 0.10	29.2 ± 1.5	9.28 ± 0.02
150	1.01 ± 0.08	15.3 ± 1.2	9.00 ± 0.03

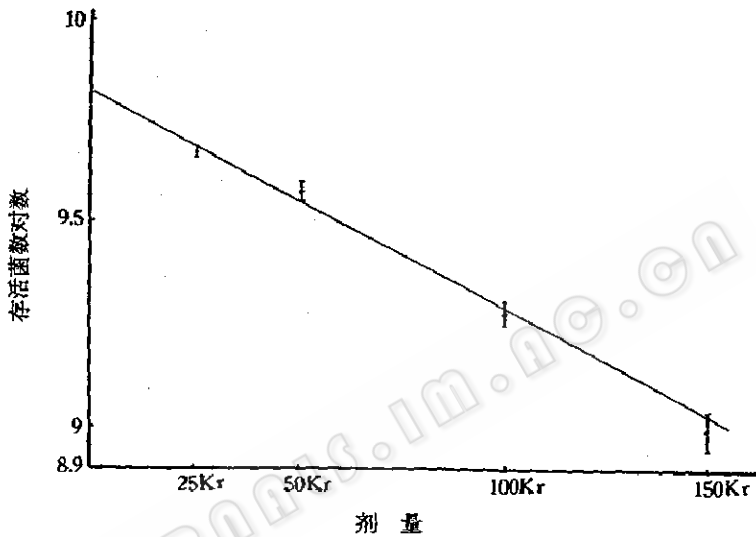


图 1 不同剂量 γ -射线与酵母存活菌数对数的关系

从表 1, 图 1 结果可以看到, 在本实验条件下经不同剂量 γ -射线照射后, 酵母菌存活菌数的对数, 随剂量增大而显著下降, 在我们所用的剂量范围内二者成直线关系。按 Lea^[6] 的理论, 生物群对辐射剂量来说, 死亡个体增加率与生物群中活着的个体数成正比, 即:

$$\frac{dn'}{dD} = K(n_0 - n') = Kn$$

从而可以积分导出照射后存活细胞的数目:

$$n = n_0 e^{-KD}$$

式中 n' 表示在剂量变化下机体的死亡数, D 表示照射剂量, n_0 表示开始时机体数, n 表示照射后活细胞数, e 是自然对数的底, K 是常数。根据上述公式和我们的实验结果计算得到本工作所用材料的半致死剂量 (LD_{50}) 是 57.6Kr, 平均致死剂量 (LD_{63}) 是 83.3Kr。

(二) γ -射线对酵母细胞繁殖的影响

将不同 γ -射线剂量处理的 2% 菌液的稀释液每隔二小时按平板法测定其存活菌数, 三次重复, 结果见图 2a。

酵母细胞增长曲线中对数期的线段的方程式如下:

$$n = n_{c0} e^{Kc}$$

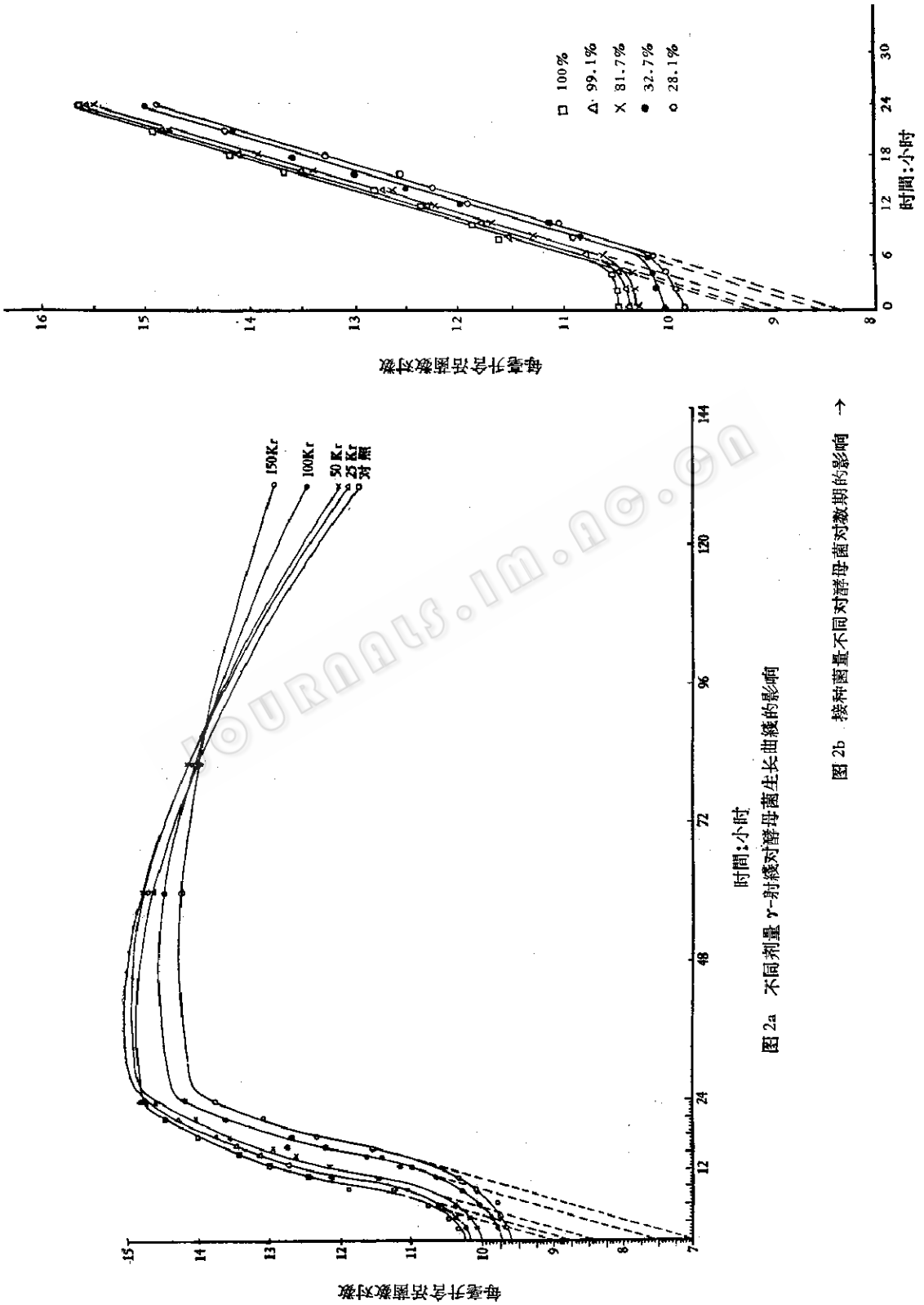


图 2a 不同剂量 γ -射线对酵母菌生长曲线的影响

图 2b 接种菌量不同对酵母菌对数期的影响

式中 n 是在时间 t 时的酵母菌个体数, n_{c0} 是理论上生长开始时酵母菌个体数, K 是常数, e 是自然对数的底, t 是时间。由图 2a 我们可以定出对照和各种处理增长曲线中对数期部分的 n , n_{c0} , K 和 t , 从而求得各个曲线对数部分的方程式。 n_{c0} 是增长曲线的对数线段延伸线在活菌数对数轴上截距的反对数, K 值是增长曲线之对数线段的斜率。这些方程式的 K 和 n_{c0} 值分别列于表 2a 和 2b。统计分析的结果说明这些 K 值间并无显著的差别(见表 2a, 2b)。

表 2a 不同剂量 γ -射线对酵母菌对数期 K 值影响差异显著性的比较

处 理 (Kr)	K 值	重复次数	与对照间差异显著性的比较
对 照	0.619 ± 0.0051	3	
25	0.621 ± 0.0075	3	$t = 0.46 \quad d.f = 6 \quad P > 0.05$
50	0.638 ± 0.0036	3	$t = 1.75 \quad d.f = 6 \quad P > 0.05$
100	0.573 ± 0.0033	3	$t = 1.64 \quad d.f = 6 \quad P > 0.05$
150	0.615 ± 0.0022	3	$t = 2.23 \quad d.f = 6 \quad P > 0.05$

表 2b $t = 0$ 时不同剂量 γ -射线对酵母菌的 n_{c0} 的影响

处 理 (Kr)	理论存活菌数的对数 ($\log n_{c0}$)	理论存活菌数 ($n_{c0} \times 10^7$)	占对照的百分数(%)
对 照	9.10	125.9	100
25	8.85	70.79	55.4
50	8.55	35.48	28.1
100	7.60	3.981	3.16
150	7.15	1.413	1.12

由表 2a 的统计分析可以看出各种剂量处理的 K 值与对照都无统计上显著的差异。平均的 K 值是 0.613 ± 0.0061 。

为了便于了解 γ -射线对酵母菌生长曲线影响的本质, 我们进行了接种菌量不同时菌数增长的实验¹⁾。结果列于图 2b。各接种菌量的 K 值和统计分析的结果列于表 2c。由表 2c 可以看出各接种菌量的 K 值间是没有显著差别的。平均 K 值是 0.616 ± 0.0089 。

比较不同 γ -射线剂量实验组和不同接种菌量实验组所得的 K 值, 不难看出它们之间是没有显著差别的。

表 2c 接种菌量不同对酵母菌的对数期 ($t = 14$ 小时) K 值影响差异显著性的比较

菌 量 (%)	K 值	重复次数	与 100% 菌量间差异显著性的比较
100	0.599 ± 0.0229	3	
94.1	0.598 ± 0.0045	3	$t = 0.23 \quad d.f = 6 \quad P > 0.05$
81.7	0.611 ± 0.0288	3	$t = 0.11 \quad d.f = 6 \quad P > 0.05$
32.7	0.645 ± 0.0266	3	$t = 2.62 \quad d.f = 6 \quad P > 0.05$
28.1	0.627 ± 0.0087	3	$t = 1.87 \quad d.f = 6 \quad P > 0.05$

1) 参加本实验的尚有尹光琳同志。

(三) γ -射线对酵母菌 O_2 吸收和 CO_2 释放的影响

各种处理的菌液是用 Warburg 氏 (瓦氏) 检压法来作氧的吸收 (Q_{O_2}) 及二氧化碳释放 (Q_{CO_2}) 测定的。在测定 Q_{O_2} 时, 在瓦氏瓶中放 1 毫升 2% 被测菌液, 中央小管内放入 10% KOH 溶液 0.1 毫升, 侧管中放 2% 葡萄糖溶液 1 毫升, 水槽温度为 25℃。在瓦氏瓶内温度与水槽温度平衡时, 将葡萄糖液倒入瓦氏瓶内开始测量。测定时间 60 分钟, 摇速 110 次/分。测定 Q_{CO_2} 时, 仅中央小管中以 pH 5.6 的磷酸缓冲液代替测量 Q_{O_2} 时的 KOH, 其他条件同前。 Q_{O_2} 和 Q_{CO_2} 的单位均是微升/毫克·小时。测量重复次数由 4 次到 8 次, 测得结果列于表 3a 和 3b。

表 3a 不同剂量 γ -射线对酵母菌吸收 O_2 的影响以及与对照间差异显著性的比较

处 理 (Kr)	吸收强度 (Q_{O_2} 微升/毫克·小时)	标准误差 (S_x)	重复次数 (n)	与对照间差异显著性的比较		
对 照	37.7	± 2.6	8			
25	41.7	± 3.4	8	$t = 2.30$	$d.f = 56$	$P > 0.05$
50	42.3	± 2.6	8	$t = 2.30$	$d.f = 56$	$P > 0.05$
100	42.9	± 2.5	8	$t = 2.60$	$d.f = 56$	$P < 0.05$
150	42.6	± 2.3	6	$t = 2.36$	$d.f = 30$	$P > 0.05$

表 3b 不同剂量 γ -射线对酵母菌释放 CO_2 的影响以及与对照间差异显著性的比较

处 理 (Kr)	CO_2 释放强度 (Q_{CO_2} 微升/毫 克·小时)	标准误差 (S_x)	重复次数 (n)	与对照间差异显著性的比较		
对 照	71.2	± 2.0	4			
25	72.7	± 1.4	4	$t = 1.55$	$d.f = 12$	$P > 0.05$
50	82.9	± 0.14	4	$t = 1.95$	$d.f = 12$	$P > 0.05$
100	114.4	± 0.89	4	$t = 1.98$	$d.f = 12$	$P > 0.05$
150	78.0	± 0.41	4	$t = 1.95$	$d.f = 12$	$P > 0.05$

由表中的统计分析资料看来, 在我们所用的剂量范围中, 各种 γ -射线剂量对酵母菌 Q_{O_2} 的影响不显著。唯一例外的是 100Kr 的处理。同样就我们所用的 γ -射线剂量而论, 这种射线对 Q_{CO_2} 的影响也不显著。

三、结论和讨论

(一) 延迟期的长短与 γ -射线剂量之间的关系

在酵母菌进入对数生长期之前有所谓适应期和恢复期。这两期的总和称为延迟期。各种剂量处理后延迟期的时间长短可以从所得的生长曲线中求出^[4]。下表是从图 2a 中求出的结果:

处 理 (Kr)	延迟期长短 (小时)
0	3.6
25	4.2
50	5.1
100	7.2
150	9.0

由上述資料可以看出在我們所用的 γ -射綫剂量范围中, 延迟期時間的长短与 γ -射綫剂量間有一正比的綫性关系, 即: 剂量愈大延迟期時間愈长。这种关系可用下式表示:

$$T = 0.036R + 3.5$$

式中 T 为延迟期的长短, 以小时为单位, R 是 γ -射綫剂量, 以 Kr 为单位。

(二) 延迟期的长短与存活菌数之間的关系

根据我們接入菌数不同对生长曲綫影响的实验結果知道, 延迟期的长短与接入菌数的对数成反比^[7]。接入菌数的对数愈大, 延迟期愈短。下面就是从这些实验中所得資料:

接 入 菌 量 (細胞数 $\times 10^9$)	延迟期的长短 (小时)
29.2	4.2
25.8	4.3
22.6	4.6
10.6	5.3
7.6	5.4

从 γ -射綫照射的实验, 我們可以得到存活菌数与延迟期长短的关系如下:

存 活 菌 数 ($\times 10^9$)	延迟期的长短 (小时)
15.1	3.6
14.5	4.2
12.3	5.1
4.9	7.2
4.4	9.0

从上面也可看出, 在存活菌数的对数与延迟期的长短之間也可作成一条直綫。存活菌的对数愈大, 延迟期的時間愈短。因此, 在接入菌量不同的实验和 γ -射綫照射的实验中有个平行的現象。两者的延迟期的长短都与存在的活細胞数的对数成反比。

如将以上兩組的資料加以比較, 即可发现在 γ -射綫照射組的实验中的延迟期远較不同接种量实验中的为长。这种差异是否由于 γ -射綫照射的影响現在尚不能决定, 需待更进一步的研究, 因为上述的兩組实验不是在同一条件下进行的。

(三) γ -射綫对酵母菌数增长率的影响問題

根据許多学者和我們的实验結果, 酵母菌在对数生长期菌数与時間的关系可以用下式来表示:

$$N = n_0 e^{Kt}$$

式中 N 是在对数期計菌数开始后時間 t 时的菌数, n_0 是在計菌数开始时的菌数, K 是常数。将上式微分即得酵母菌在对数期的瞬时菌数增长率:

$$\frac{dN}{dt} = n_0 K e^{Kt}$$

因此酵母菌数的增长率与 n_0 及 K 都有关系。实验指出, 用各种剂量 γ -射綫照射酵母菌后所得的增长曲綫都不相同。各曲綫的瞬时增长率也不相同。我們分析各个曲綫的 K 值后发现它們之間並沒有显著的差別。因此得出一个結論: 在我們所用的剂量范围内, γ -射綫对对数期生长曲綫的 K 值沒有显著的影响; 經各种剂量照射后菌数增长率与 K 值无关,

而仅与 n_0 有关。

(四) n_{c0} 与存活菌数的关系

从图 2a 中得到 n_{c0} 对数和存活菌数对数的资料。所谓 n_{c0} , 如前所说, 是生长曲线对数线段延伸线在存活菌数对数轴上的截距。这些资料列于下面。

$\log n_{c0}$	$\log n'$
9.10	10.179
8.85	10.161
8.55	10.090
7.60	9.690
7.15	9.638

由这些资料看 $\log n_{c0}$ 和 $\log n'$ 间也存在有线性的关系。根据这关系, 两者可以转换。因此可以得出结论: 在所用的剂量范围内各种 γ -射线剂量处理后酵母的生长曲线之所以不同是由于存活菌数的不同。酵母受 γ -射线照射后要不是完全失去分裂能力, 那就是其分裂能力完全不受影响。

(五) γ -射线照射和 Q_{O_2} 及 Q_{CO_2} 的关系

结果说明, 在所用的 γ -射线剂量范围内酵母被照射后并不立即减弱其 Q_{O_2} 和 Q_{CO_2} 。这说明在酵母中与 Q_{O_2} 以及与 Q_{CO_2} 有关的系统可能与酵母失去分裂能力这件事没有直接的关系^[8]。

四、摘 要

1. 酵母菌 *Saccharomyces cerevisiae* 经 γ -射线照射后, 其存活菌数与剂量间的关系是指数曲线; 半致死剂量 (LD_{50}) 是 57.6 Kr; 平均致死剂量 (LD_{63}) 是 83.3 Kr。

2. 在所用的剂量范围内 (0—150kr), γ -射线剂量对对数期生长的曲线

$$N = n_0 e^{Kt}$$

式中的 K 值无影响。各种剂量处理后酵母菌的生长曲线完全或主要取决于存活的细胞数。

3. 照射后二小时左右, 被照射酵母菌的 Q_{O_2} 和 Q_{CO_2} 与对照酵母菌间没有显著差别。

参 考 文 献

- [1] 沙霍夫: 射线对微生物、细菌、病毒的作用。放射性同位素在农业和生物学上的应用。7—10 页, 1959。
- [2] 列梅卓娃, T. C.: 电离辐射对微生物作用的规律性。1960 年讲稿, 未发表资料。
- [3] 梅特维杰娃, Г. А. 波莫切尼科娃, Н. А.: 电离辐射对微生物的作用。放射生物学。107—109 页。
- [4] Cook, A. H.: The Chemistry and Biology of Yeasts. Academic Press, 260, 1958.
- [5] Kelner, A. Bellamy, W., Stepleton, G., and Zeile, M. Symposium on Radiation Effects on Cells and Bacteria. *Bacteriol. Revs.* 19:22—24, 1955.
- [6] Lea, D. E. Actions of Radiations on Living Cells. Cambridge Univ. Press, 2nd ed., 1955.
- [7] Richards, O. W. The analysis of growth as illustrated by yeast. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 2:157—166, 1936.
- [8] Sherman, F. and Chase, A., Effects of ionizing radiation on enzyme activities of yeast cells. *Jour. Cellul. Comp. Physiol.* 33:17, 34:207, 1949.
- [9] Мейсель, М. Н.: О биологическом действии ионизирующих излучений на микроорганизмы. Доклады сов. делег. на Междуна. конф. по мирн. использ. атомн. энергии. Женева, 1955. В сб.:

Действие облучения на организм. М., Изд-во АН СССР, 1955.

- [10] Сокурова, Е. Н.: О некоторых закономерностях действия ионизирующих излучений на микроорганизмы. *Изв. АН СССР Серия Биол.* 6: 35—53, 1956.

THE EFFECT OF γ -RAY RADIATION ON SOME PHYSIOLOGICAL PROPERTIES OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Y. G. SHIE AND S. M. LIU

(Institute of Microbiology, Academia Sinica)

From the present study we have obtained the following results and conclusions:

1) The lethal rate of *Saccharomyces cerevisiae* by γ -ray irradiation has been found to follow a simple exponential relation. Both the medial lethal dose (LD_{50}) and the mean lethal dose (LD_{63}) have been determined and found to be 57.6 Kr and 83.3 Kr respectively.

2) The growth of the yeast in the logarithmic phase can be represented by the equation, $N = n_0 e^{Kt}$. It is interesting to note that γ -ray radiation has no significant effect on the constant K , of the equation. An analysis of the relation between the number of survival cells after irradiation and the N_0 value at the time when the experiments begin, shows that the various growth curves found in the irradiation experiments are mainly, if not entirely, determined by the number of survival cells.

3) Within two hours after irradiation the oxygen uptake and carbon dioxide output of the irradiated yeast cells are essentially normal.