

РОЛЬ ТИПА ОПЫЛЕНИЯ В ПРОЯВЛЕНИИ
РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ
ГЕНОМА В КЛЕТКАХ ALLIUM SERA L.

С.А.МАМЕДЛИ*, Н.Д.САДЫХОВА**

*Институт Радиационных Проблем НАН Азербайджана,

**Бакинский Государственный Университет
azeri_wom@yahoo.com

Исследовали радиационно-индуцированную нестабильность генома у растений лука Allium sera L. Показано увеличение количества хромосомных aberrаций у растений M₁ и M₂. Уровень хромосомных aberrаций зависит от дозы облучения и способа опыления растений.

Ключевые слова: нестабильность генома, лук Allium sera L., хромосомные aberrации, ионизирующее излучение.

Введение. Генетическая нестабильность проявляется в увеличении скорости (частоты) формирования изменений в геноме, которые возникают как спонтанно, так и под влиянием различных факторов. При этом мутации могут возникать не сразу после воздействия стресс-фактора, а после десятков циклов репликации (реплицирующаяся нестабильность) [3, 4]. Радиационно-индуцированная генетическая нестабильность проявляется в повышении частоты мутаций, хромосомных aberrаций, продленной клеточной гибели у потомков облученных клеток [4, 5]. Индуцированная облучением общая нестабильность хромосомного аппарата выражается в увеличении выхода хромосомных aberrаций самых различных типов [1].

Одним из главных механизмов защиты растений от действия различных стрессовых факторов, реализующихся на организменном и популяционном уровнях, является высокая пластичность генома [1-3]. Так, усиление геномной изменчивости (нестабильности) у растений отмечается при ухудшении условий произрастания, неоптимальных температурах, засолении, засухе, вирусных и бактериальных инфекциях, высушивании и старении семян, механических повреждениях и других воздействиях. Радиационно-индуцированная генетическая нестабильность – одна из форм общей генетической нестабильности, проявляющаяся в ответ на действие радиационного фактора. Индуцированная облучением общая нестабильность хромосомного аппарата выражается в увеличении выхода хромосомных aberrаций самых различных типов [4]. Изучение закономерностей генетической нестабильности у растений имеет важное фундаментальное и прикладное значение, в частности, для прогнозирования отдаленных последствий облучения различных видов растений с целью сохранения их генофонда. Возможно также использование растений с известными

характеристиками геномной нестабильности в качестве тест-систем для оценки генетических последствий радионуклидного загрязнения и других стрессовых факторов, проведения мониторинга природных экосистем на больших территориях в зонах экологических катастроф; оценки экологических рисков; получение новых форм в селекции.

Целью данного исследования было изучение радиационно-индуцированной нестабильности генома у растений лука *Allium cepa* L. и зависимости ее проявления от способа опыления растений.

Материалы и методы исследования. С целью изучения стимуляции ионизирующим излучением проявлений генетической нестабильности в последующих поколениях растений семена лука *Allium cepa* L. предварительно облучали в дозах 1, 2,5 и 5 Гр, а затем выращивали растения на протяжении трех поколений.

Облучение семян растений проводили на установке «Исследователь» (^{60}Co) при мощности дозы 0,02 Гр/с и установке «Рхунд» (^{60}Co) при мощности дозы излучения 0,5-1 Гр/мин.

Контрольные и облученные семена проращивали на влажной фильтровальной бумаге в чашках Петри при 24-28°C. Часть проростков использовали для цитогенетического анализа, остальные растения выращивали в лабораторных условиях, а затем высаживали в открытый грунт.

Для определения уровня радиационно-индуцированной нестабильности генома у проростков поколений M_0 , M_1 и M_2 подсчитывали количество хромосомных аберраций в корневой меристеме. Для этого при появлении первичных корешков длиной 1,0-1,5 см их фиксировали в смеси Карнуа (этиловый спирт : ледяная уксусная кислота в соотношении 3:1), через 24 часа переносили в 80% этиловый спирт. Окрашивание производили ацетоорсеином [5]. Получали временные и постоянные препараты. На цитологических препаратах подсчитывали количество aberrантных анафаз и определяли количество хромосомных аберраций (ХА) на клетку. При применении анафазного метода подсчитывали образующиеся мосты, хромосомные фрагменты, отстающие хромосомы и другие нарушения. В каждом варианте анализировали 100 анафаз и ранних телофаз, не разделяя хромосомные аберрации по отдельным категориям, как рекомендуется в [6, 3]. Частоту aberrантных анафаз выражали в процентах от просмотренных соответствующих фаз митоза (по 200 на каждый вариант). Для статистической обработки полученных данных рассчитывали t_d и p по общепринятой методике [5].

Для изучения влияния перекрестного опыления на уровень нестабильности генома в поколениях растений, часть соцветий у взрослых растений, произрастающих в полевых условиях, изолировали с помощью защитных колпачков, предохраняя от перекрестного опыления и обеспечивая тем самым принудительное самоопыление (см. схему опыта, рис.).

Результаты и обсуждение. Тест на клетках корневой меристемы лука (*Allium*-тест) является классическим методом для исследования токсического и мутагенного воздействия загрязнителей окружающей среды на живые объекты. Важным преимуществом этого метода цитогенетического мониторинга является хорошая корреляция его результатов с результатами, полученными на других системах теста, в частности, на клетках млекопитающих [6].

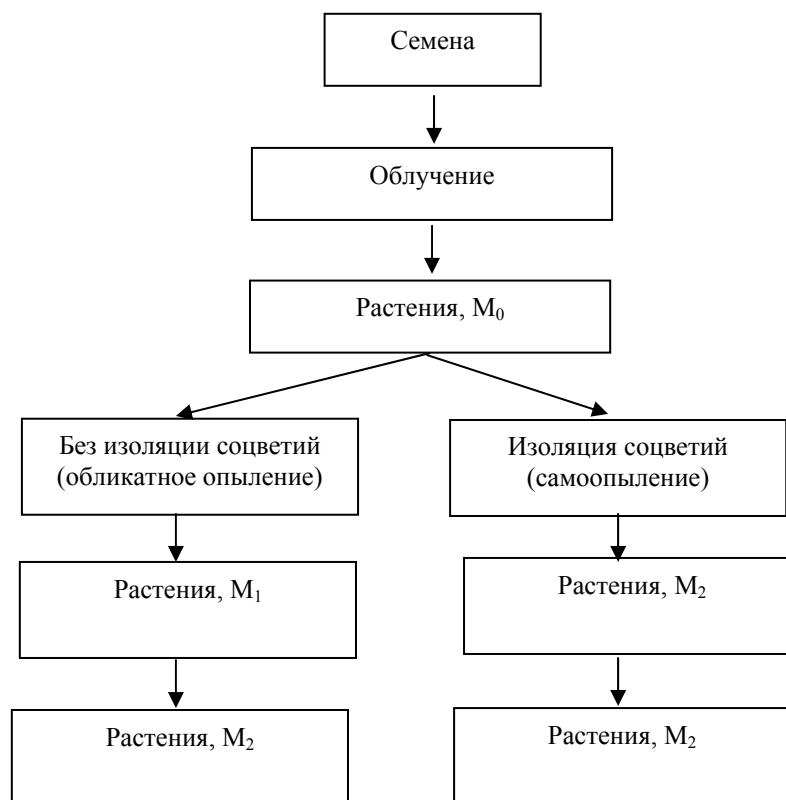


Рис. Схема изучения выхода хромосомных aberrаций в поколениях облученных растений

Было показано, что облучение семян вызывало значительное повышение выхода ХА у растений M_0 (табл.). Определение выхода ХА в M_1 и M_2 поколениях растений лука, полученных из однократно облученных семян, показало, что во всех случаях выход ХА имеет дозозависимый характер, постепенно увеличиваясь с ростом дозы облучения. В обоих поколениях выявлены достоверные отличия между вариантами с перекрестным опылением и самоопылением (табл.).

Таблица

Выход хромосомных aberrаций в корневой меристеме проростков лука *Allium cepa* поколения M_1 и M_2 при перекрестном опылении и самоопылении

Варианты	0 Гр	1 Гр	2.5 Гр	5 Гр
M_0				
M_0	1.87 (1.86-1.89)	2.99 (2.96-3.04)	3.63 (3.59-3.68)	3.05 (3.03-3.08)
P (0 Гр)		p<0.01	p<0.01	p<0.01
P	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01
M_1				
Перекрестноопыляющие	1.88 (1.87-1.89)	2.49 (2.48-2.50)	2.97 (2.94-3.00)	2.97 (2.94-3.00)

P (0 Гр)		p<0.01	p<0.01	p<0.01
Самоопыляющие	2.14 (2.11-2.16)	3.11 (3.10-3.13)	3.24 (3.23-3.24)	3.20 (3.18-3.21)
P (0 Гр)		p<0.01	p<0.01	p<0.01
P	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01
M₂				
Перекрестноопыляющие	1.24 (1.22-1.25)	1.77 (1.76-1.79)	2.19 (2.18-2.20)	2.42 (2.40-2.44)
P(0 Гр)		p<0.01	p<0.01	p<0.01
P(M1)	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01
Самоопыляющие	2.08 (2.06-2.08)	2.99 (2.98-3.00)	2.90 (2.88-2.91)	3.25 (3.24-3.26)
P(0 Гр)		p<0.01	p<0.01	p<0.01
P	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01
P(M1)	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01

P – достоверность различия между перекрестноопыляющими и самоопыляющими группами растений

При сравнении количества ХА у вариантов с перекрестным опылением в поколениях M₁ и M₂ видно, что в M₂ происходит уменьшение количества ХА приблизительно в 1,4 раза при всех дозах облучения 1 и 2,5 Гр и примерно в 1,2 раза при дозе облучения 5 Гр. При самоопылении уменьшения количества ХА во втором поколении практически не происходило, продолжая оставаться на достаточно высоком уровне.

Известны работы по изучению выхода генетических нарушений в поколениях организмов при остром облучении, которые проводились с экспериментальными популяциями *Drosophila melanogaster* и *D. milistoni*. Опыты показали, что под воздействием ионизирующих излучений в облученной популяции появляется большое количество леталей, полулеталей и других мутаций, которые снижают жизнеспособность через определенное количество поколений. При прекращении облучения популяция дрозофилл в одних опытах восстановила свои генетические свойства через 26 поколений, тогда как в другом случае последствия облучения сказывались на протяжении 35 поколений [1].

Значительный интерес представляет обнаруженный более высокий выход ХА, который наблюдался в условиях самоопыления растений как в M₁, так и в M₂ поколениях растений.

Основной особенностью полового размножения является постоянное изменение аллельных комбинаций, которое может быть выгодно в нестабильной среде (при действии стрессовых факторов, при этом обеспечивается быстрый темп эволюции) либо в нестабильном геноме (при этом обеспечивается эффективное удаление вредных мутаций) [3].

Таким образом, установленное нами у растений двух разных таксономических классов (представителей двудольных и однодольных) увеличение количества ХА в поколениях потомков растений, полученных из облученных семян, имеет характер универсальной закономерности и может рассматриваться как проявление радиационно-индуцированной нестабильности генома у растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кунах В.А. Геномная изменчивость соматических клеток растений. 2. Изменчивость в природе // Биополимеры и клетка. 1995, №6, с. 5-40.
2. Rank J., Nielsen M.H. A modified Allium test as a tool in the screening of the genotoxicity

- of complex mixtures // *Hereditas*. 1993, №118, p. 49-53.
3. Rank J., Jensen A.G., Skov B., Pedersen L.H., Jensen K. Genotoxicity testing of the herbicide Roundup and its active ingredient glyphosate isopropylamine using the mouse bone marrow micronucleus test, *Salmonella* mutagenicity test, and *Allium* anaphase-telophase test // *Mutat. Res.* 1993, №300, p. 29-36.
 4. Козубов Г.М., Таскаев А.И. Радиационное воздействие на хвойные леса в районе аварии на Чернобыльской АЭС. Сыктывкар: КНЦ УрО АН СССР, 1990, 136 с.
 5. Гродзинський Д.М., Шиліна Ю.В., Куцоконь Н.К., Міхеев О.М., Гуца М.І., Коломієць О.Д., Фалінська Т.П., Овсяннікова Л.Г., Кутлахмедов Ю.О., Пчеловська С.В. Застосування рослинних тест-систем для оцінки комбінованої дії факторів різної природи // Методичні рекомендації по оцінці допустимих рівнів радіонуклідного та хімічного забруднення за їх комбінованої дії. Київ: Фітосоціоцентр, 2006, 60 с.
 6. Мамедли С.А. Радиационно-индуцированная нестабильность генома у растений и бактерий. Баку: Элм, 2007, 256с.

**ALLIUM CEPA L. HÜCEYRƏLƏRİNDƏ QAMMA ŞÜALARININ
TƏSİRİ İLƏ YARANMIŞ, GENOMUN QEYRİ-STABİL VƏZİYYƏTİNƏ
ÇARPAZ TOZLANMANIN TƏSİRİ**

S.A.MƏMMƏDLİ, N.D.SADIXOVA

XÜLASƏ

Qamma şüaları ilə şüalandırılmış *Allium cepa L.* hüceyrələrində baş vermiş struktur dəyişənlikləri bitkilərin öz-özünə tozlananlarında M_1 və M_2 nəslində nəsil-dən-nəslə irsən ötürüldüyü halda çarpaz tozlanan bitkilərin M_2 nəslində qismən tənzimlənmiş olur.

Acar sözlər: *Allium cepa L.*, toxum, qamma-şüalanma, xromosom aberrasiyaları.

**THE ROLE OF POLLINATION TYPE IN DISPLAY OF THE RADIATION-INDUCED
INSTABILITY OF GENOME AT THE CELLS OF ALLIUM CEPA L.**

S. A.MAMEDLI, N.D.SADIKHOVA

SUMMARY

The article investigates the radiation-induced genome instability at the plants of onion *Allium cepa L.* The increase of the number of chromosomal aberrations at the plants of M_1 and M_2 was revealed. The level of chromosomal aberrations depended on the dose of irradiation and the method of plant pollination.

Key words: *Allium cepa L.*, gamma-irradiation, routines, walnut extract, chromosomal aberrations