

Т.И. ЕВСЕЕВА¹, Т.А. МАЙСТРЕНКО¹,
С.А. ГЕРАСЬКИН², Е.С. БЕЛЫХ¹, Е.В. КАЗАКОВА¹

¹ Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар,
e-mail: tevseeva@ib.komisc.ru

² ВНИИ сельскохозяйственной радиологии и агроэкологии РАСХН,
Обнинск

ТОКСИЧЕСКИЕ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ, ИНДУЦИРУЕМЫЕ У *ALLIUM SERA* НИЗКИМИ КОНЦЕНТРАЦИЯМИ Cd И ²³²Th



²³²Th ($7,76 \cdot 10^{-7}$ М) и Cd ($0,89 \cdot 10^{-8}$ М) в концентрациях, не превышающих официально установленные нормативы при поступлении с водой для населения, не увеличивают частоты структурных перестроек хромосом по отношению к контролю. Эти концентрации не вызывают токсических эффектов у растений на организменном и тканевом уровнях, но проявляют активность на клеточном, повреждая нити веретена деления. Зависимость «концентрация кадмия — эффект» ни по одному из регистрируемых типов цитогенетических повреждений не является линейной. При концентрации кадмия $0,89 \cdot 10^{-7}$ М ослабляется его влияние на формирование нитей веретена деления, а также происходит снижение частоты аберраций хромосом по сравнению с контролем и по отношению к эффектам, индуцируемым при более низком содержании металла в растворе — $0,89 \cdot 10^{-8}$ М. Действие высокой концентрации кадмия ($5,34 \cdot 10^{-5}$ М) приводит к достоверным токсическому и мутагенному эффектам.

© Т.И. ЕВСЕЕВА, Т.А. МАЙСТРЕНКО, С.А. ГЕРАСЬКИН,
Е.С. БЕЛЫХ, Е.В. КАЗАКОВА, 2005

Введение. Увеличение во всех компонентах биосферы количества доступных для живых организмов форм тяжелых металлов и радионуклидов делает актуальным анализ последствий этих, обусловленных развитием человеческой цивилизации, процессов на состояние окружающей среды. Особенно важны такие исследования в отношении растений, составляющих 99 % всей биомассы Земли и являющихся первым звеном ведущих к человеку трофических цепочек. Однако значительная часть такой информации получена в экспериментальных исследованиях кратковременного воздействия металлов в высоких концентрациях, которые существенно отличаются от реально встречающихся ($<1 \cdot 10^{-6}$ М) в окружающей среде [1, 2], что усложняет оценку опасности для биоты этих токсикантов. Еще меньше известно о действии тяжелых естественных радионуклидов (ТЕРН) на клетки растений. В частности, проведенные ранее в природных условиях исследования не позволили однозначно связать наблюдаемые биологические эффекты с действием ТЕРН [3, 4].

Цель настоящей работы — изучить токсические и цитогенетические эффекты, индуцируемые низкими концентрациями Cd и тяжелого естественного радионуклида ²³²Th.

Материал и методы. Растения рода *Allium* являются удобным объектом при оценке мутагенности и токсичности бытовых и промышленных стоков [5], модельных растворов разных химических соединений [6, 7], а также содержащих радионуклиды и металлы природных вод [8, 9].

Токсичность модельных растворов нитратов (привычная для растений форма источника азота) Cd и ²³²Th оценивали по ингибирующему действию на рост корней луковиц *A. sera* [5]. Для определения мутагенного эффекта Cd и ²³²Th применяли ана-телофазный метод учета перестроек хромосом в клетках корневых меристем лука. Токсичность Cd и ²³²Th на тканевом уровне оценивали по изменению митотического индекса.

Чтобы вызвать одновременное прорастание корней и синхронное вступление в митоз большего числа клеток, луковицы выдерживали 14 дней при температуре +4 °С [10]. Затем без предварительного проращивания их помещали в стаканчики так, чтобы с растворами солей металлов или дистиллированной водой

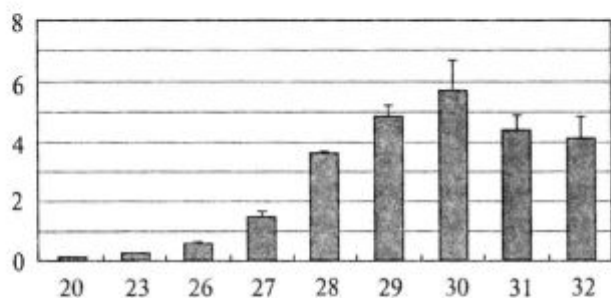


Рис. 1. Динамика значений митотического индекса в корневой меристеме *Allium cepa* L. при проращивании корней в дистиллированной воде (контроль): по горизонтали — время от начала проращивания корней лукавиц, ч; по вертикали — величина митотического индекса, %

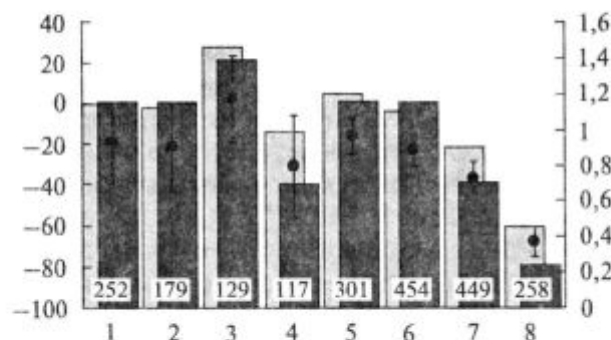


Рис. 2. Результаты оценки 30-часового воздействия ^{232}Th и Cd на рост корней лукавиц *Allium cepa* L.: по горизонтали — вариант опыта: 1 — контроль; 2 — ^{232}Th ($3,88 \cdot 10^{-7}$ М); 3 — ^{232}Th ($7,76 \cdot 10^{-7}$ М); 4 — ^{232}Th ($1,55 \cdot 10^{-6}$ М); 5 — Cd ($0,89 \cdot 10^{-5}$ М); 6 — Cd ($0,89 \cdot 10^{-7}$ М); 7 — Cd ($5,34 \cdot 10^{-6}$ М); 8 — Cd ($5,34 \cdot 10^{-5}$ М); по вертикали слева — степень (%) ингибирования (–) или стимуляции (+) роста корней, вычисленная по средним арифметическим значениям длины корней (гистограмма светлого тона) и по значениям моды (гистограмма темного тона с указанием числа проанализированных корней); по вертикали справа — длина (см) корней (на графике — точки с отмеченными значениями стандартных отклонений)

(контроль) соприкасалось только донце. Выбор в качестве контроля дистиллированной воды обоснован в нашей предыдущей публикации [9].

Проращивание корней проводили при температуре растворов $21 \pm 2^\circ\text{C}$ в темноте. Первые митозы в контрольных вариантах появлялись через 20 ч, а максимальные значения митотического индекса наблюдали спустя 30 ч после начала проращивания корней (рис. 1). Пос-

кольку число делящихся клеток в меристеме зависит не только от времени после начала прорастания, но и длины корней [11], то во всех вариантах эксперимента через 30 ч для фиксации срезали корешки наиболее часто встречаемой в контроле длины — 0,85–1,15 см.

Перестройки хромосом изучали в ана-тело-фазе первого деления меристематических клеток. В покоящихся меристемах *A. cepa* клетки находятся преимущественно в фазе G_1 и только приблизительно 2% — в G_2 [12]. Поэтому клетки, находящиеся на момент фиксации в стадии деления, во время начала воздействия были в G_1 . Их естественная синхронизация в предсинтетической фазе способствует пониманию механизмов реакции меристематических клеток на внешнее воздействие. Напротив, при обработке меристем растений в фазе стационарного деления клетки находятся на разных стадиях митотического цикла, а их ДНК — в неодинаковом метаболическом и функциональном состоянии [10, 13]. Дифференциальная чувствительность фаз клеточного цикла к физическим и химическим мутагенам осложняет не только задачу выявления механизмов действия на клетки изучаемых факторов, но и оценку силы их влияния. Кроме того, в условиях окружающей среды чаще приходится иметь дело с ситуацией, когда корни растений начинают развиваться в условиях уже существующего загрязнения среды обитания металлами. Поэтому мы применили методику анализа перестроек хромосом в первом митотическом цикле, которую использовали в классических цитогенетических исследованиях [10, 13], а не предлагаемые в настоящее время [6, 7] способы обработки стационарно растущих корней растений.

Таким образом, во всех вариантах через 30 ч от начала эксперимента срезали корешки длиной 0,8–1,2 см и фиксировали 48 ч в уксусном спирте (1 : 3). Затем их переносили в 70%-ный этиловый спирт и хранили при температуре $+5^\circ\text{C}$. Для микроскопического анализа готовили временные давленные препараты, используя при окрашивании ацетокармин [14]. Количественный и качественный учет перестроек хромосом, подсчет митотического индекса, доли профаз, метафаз, ана-телофаз проводили по общепринятой методике [14]. Долю

(%) колхициновых митозов (К-митозов) рассчитывали как соотношение числа аномальных митозов и проанализированных метафаз.

Для оценки токсичности модельных растворов нитратов Cd и ^{232}Th все отросшие за 30 ч корешки срезали и измеряли их длину штангенциркулем с точностью до 1 мм.

Статистическую обработку данных осуществляли общепринятыми методами [15, 16]. Эффекты действия ионов металлов сравнивали по инкрементам.

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты измерений длины корней представлены на рис. 2. При оценке средних значений учитывали вариацию показателей по растениям. Анализ этих данных свидетельствует, что концентрации $3,88 \cdot 10^{-7}$ и $7,76 \cdot 10^{-7}$ М ^{232}Th , $0,89 \cdot 10^{-8}$ и $0,89 \cdot 10^{-7}$ М Cd не обладают фитотоксическим действием. Только в варианте с максимальным содержанием ($5,34 \cdot 10^{-5}$ М) Cd в растворе средняя длина корней через 30 ч оказалась достоверно ниже по сравнению с контрольной. В соответствии с классификацией [17] степени ингибирования роста корней, концентрации $7,76 \cdot 10^{-7}$ М ^{232}Th и $0,89 \cdot 10^{-8}$ М Cd относятся к нетоксичным, а $3,88 \cdot 10^{-7}$ М ^{232}Th и $0,89 \cdot 10^{-7}$ М Cd — менее чем на 10 % ингибируют рост. Заметное ингибирование роста корней наблюдалось при содержании в растворе ^{232}Th — $1,55 \cdot 10^{-6}$, а Cd — $5,34 \cdot 10^{-6}$ М. Эти концентрации следует отнести к сред-

нетоксичным или эффективным (EC_{10-50}) согласно [17]. И только в концентрации $5,34 \cdot 10^{-5}$ М Cd вызвал сильное угнетение ростовых процессов (EC_{60}). Полученные результаты в отношении оценок токсичности кадмия соответствуют выводам [17], сделанным при использовании в качестве тест-системы корешков семян лука.

Известно, что в случае существенных отклонений распределения экспериментальных данных от нормального закона среднее арифметическое не является надежной статистической оценкой, поскольку не отвечает требованию эффективности [15, 16, 18]. Тем не менее в исследованиях [5–7], выводы которых о токсичности металлов опираются на расчет ЕС, мы не обнаружили проверки статистических гипотез о соответствии эмпирических распределений контрольных и опытных выборок нормальному закону. В то же время имеются сведения [19] о том, что воздействие ионов металлов вследствие неравномерности их поступления в ткани и клетки живых организмов приводит к существенному отклонению эмпирического распределения определяемых в эксперименте параметров от нормального закона.

Поэтому мы сочли необходимым проверить полученные в нашем эксперименте данные на соответствие нормальному закону распределения. Из представленных в табл. 1 результатов следует, что не всегда эмпирические расп-

Таблица 1

Результаты проверки соответствия распределения длины корней в опытных вариантах контрольным, а также эмпирических распределений нормальному закону и их параметры

Вариант	χ^2	$\chi^2_{\alpha}(k=4)$	As	Ex	Mo	$\Delta\text{Mo}, \%$	χ^2
Контроль	19,43	18,47 ($p = 0,001$)	0,48	3,36	1	—	—
$3,88 \cdot 10^{-7}$ М ^{232}Th	28,53	18,47 ($p = 0,001$)	1,10	1,74	1	0	17,65
$7,76 \cdot 10^{-7}$ М ^{232}Th	3,15	9,49 ($p = 0,05$)	0,72	1,30	1,2	20	25,88*
$1,55 \cdot 10^{-6}$ М ^{232}Th	16,55	14,86 ($p = 0,005$)	-0,73	3,50	0,6	-40	23,61*
$0,89 \cdot 10^{-8}$ М Cd	29,54	18,47 ($p = 0,001$)	0,35	5,01	1	0	10,48
$0,89 \cdot 10^{-7}$ М Cd	5,84	9,49 ($p = 0,05$)	0,31	3,74	1	0	14,66*
$5,34 \cdot 10^{-6}$ М Cd	30,34	18,47 ($p = 0,001$)	-1,12	8,58	0,6	-40	50,92*
$5,34 \cdot 10^{-5}$ М Cd	22,44	18,47 ($p = 0,001$)	-38,24	181,66	0,2	-80	169,79*

Примечание. χ^2 — значения критерия χ^2 при проверке соответствия эмпирических распределений нормальному закону; χ^2_{α} — соответствующее критическое значение критерия при k степеней свободы и уровне значимости p ; χ^2 — значения критерия χ^2 при проверке соответствия распределения длины корней в опытных вариантах контрольным. Отличие от контроля достоверно при $p = 0,05$ и $k = 6$; ΔMo — инкремент моды (превышение значения моды в контрольном варианте над наблюдаемым в опыте).

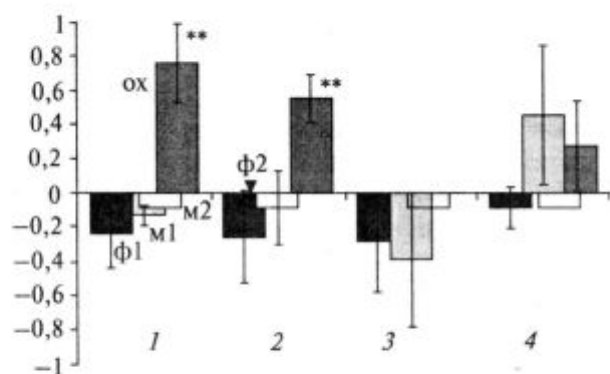


Рис. 3. Спектр цитогенетических повреждений клеток корневой меристемы *Allium cepa* L. при действии ^{232}Th и Cd: по горизонтали — вариант опыта: 1 — $7,76 \cdot 10^{-7}$ М ^{232}Th ; 2 — $0,89 \cdot 10^{-8}$ М Cd; 3 — $0,89 \cdot 10^{-7}$ М Cd; 4 — $5,34 \cdot 10^{-6}$ М Cd: по вертикали — инкремент (%) частоты одиночных (φ1) и двойных (φ2) фрагментов, одиночных (m1) и двойных (m2) мостов, отставших хромосом (ox). ** Отличие от контроля достоверно при $p < 0,01$

ределения соответствуют нормальному закону, причем для всех вариантов характерен положительный эксцесс. Это вполне объяснимо, поскольку прорастание корешков происходит неравномерно, а их массовый выход начинается спустя некоторое время от начала эксперимента. Эта группа корешков достигает за 30 ч определенной длины, формируя модальный класс, который в случае невысоких нагрузок следует за медианой, а при больших смещается в область более низких значений.

В случае асимметричных унимодальных распределений корректные оценки степени ингибирования роста корней могут быть получены [18] на основе сравнения значений моды, а наличие достоверных отличий опытных вариантов от контроля выявляется с использованием непараметрических критериев. Произведенные с учетом этих требований оценки (табл. 1) показывают, что в определенных диапазонах концентраций ^{232}Th или Cd рост корней не ингибируется. Важно, что в обоих случаях значения этих концентраций ниже $1 \cdot 10^{-6}$ М, т.е. находятся на уровне встречаемых в условиях окружающей среды [1, 2]. Сказанное подтверждают значения относительных инкрементов моды для указанных вариантов (процедура вычисления соответствует таковой при расчете степени ингибирования роста корней по

средним арифметическим значениям длины). При содержании ^{232}Th , равном $1,55 \cdot 10^{-6}$, и Cd — $5,34 \cdot 10^{-6}$ М, наблюдалось 40%-ное ингибирование роста корней. Эти концентрации следует отнести к среднетоксичным. И только при содержании в растворе $5,34 \cdot 10^{-5}$ М кадмий вызвал сильное угнетение ростовых процессов.

В целом эти выводы сходны с полученными на основе сравнения средних величин показателей. Однако сопоставление (рис. 2) вычисленных разными способами значений степени ингибирования роста корней свидетельствует, что оценки, базирующиеся на использовании средних арифметических, для действующих концентраций оказываются заниженными. Поэтому на практике при оценке токсичности соединений по ингибированию роста корней растений следует учитывать, что эмпирические распределения могут отклоняться от нормального закона, и тогда сопоставление средних арифметических регистрируемых показателей окажется некорректным, а значения вычисленных ЕС искаженными.

Переходя к обсуждению цитогенетических эффектов Cd и ^{232}Th , отметим, что из анализа были исключены концентрации металлов, сильно угнетающие деление клеток. Для изучения действия радионуклида выбрана концентрация, соответствующая допустимому уровню вмешательства при поступлении с водой для населения [20].

Как видно из представленных в табл. 2 и на рис. 3, 4 данных, ^{232}Th в исследуемой концентрации $7,76 \cdot 10^{-7}$ М достоверно не увеличивает частоту aberrантных клеток и отдельных типов aberrаций хромосом по сравнению с контролем, а также не снижает митотический индекс. Однако существенно возрастает доля анафаз с отставшими хромосомами, а в числе метафаз — колхициновых митозов. Эти повреждения являются следствием нарушения сборки нитей веретена деления на стадии полимеризации тубулина, т.е. в фазе G_2 клеточного цикла [21, 22]. Длительность митотического цикла таких клеток существенно увеличивается [21], поэтому их считают маркерами антимиотического эффекта [6]. Действительно, при действии $7,76 \cdot 10^{-7}$ М ^{232}Th возрастает ($p = 0,048$) доля метафаз (рис. 5) среди деля-

щихся клеток, т.е. происходит формирование метафазного блока [11].

Приведенные данные свидетельствуют о том, что ^{232}Th в концентрации, не превышающей официально установленные [20] предельно допустимые нормативы при поступлении с водой для населения, не индуцирует выраженные токсические эффекты у растений на организменном и тканевом уровнях, что показывают результаты соответственно измерения длины корней и оценки митотического индекса клеток меристем. Однако на клеточном уровне исследованная концентрация радионуклида вызывает токсический эффект, выявляющийся по достоверному увеличению нарушений, которые связаны с повреждением веретена деления.

Результаты изучения действия концентрации $0,89 \cdot 10^{-8}$ М кадмия сходны с полученными для ^{232}Th : при не отличающемся от контроля уровне aberrантных клеток наблюдается значительное увеличение доли К-митозов и частоты анафаз с отставшими хромосомами (рис. 3). Значение митотического индекса находится на уровне контроля (рис. 4). Заметим, что уровень всех индуцированных $7,76 \cdot 10^{-7}$ М ^{232}Th типов цитогенетических нарушений не отличается от наблюдаемого при действии $0,89 \cdot 10^{-8}$ М Cd, тогда как молярное содержание радионуклида в 70 раз превосходит концентрацию тяжелого металла. Очевидно, что и на продолжительность клеточного цикла Cd влияет больше, чем ^{232}Th , что выражается (рис. 5) в увеличении не только доли метафаз ($p = 0,002$)

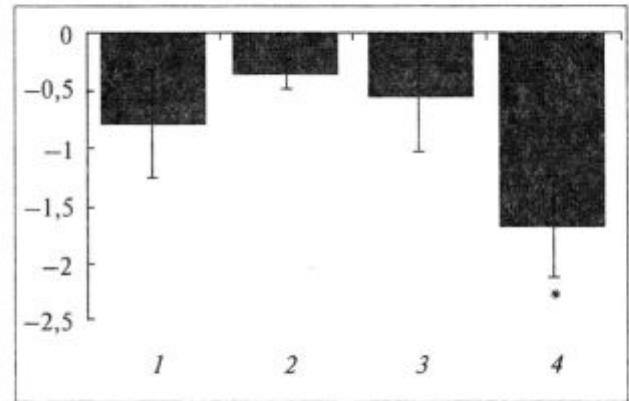


Рис. 4. Митотический индекс клеток корневой меристемы *Allium cepa* L. при действии ^{232}Th и Cd: по горизонтали — вариант эксперимента: 1 — $7,76 \cdot 10^{-7}$ М ^{232}Th ; 2 — $0,89 \cdot 10^{-8}$ М Cd; 3 — $0,89 \cdot 10^{-7}$ М Cd; 4 — $5,34 \cdot 10^{-6}$ М Cd; по вертикали — инкремент значений митотического индекса, %. * Отличие от контроля достоверно при $p < 0,05$

среди делящихся клеток, но и профаз ($p = 0,004$). Формирование профазно-метафазного блока приводит к уменьшению ($p = 0,0001$) числа регистрируемых анафаз. Учитывая эти данные, следует признать, что Cd более токсичен для клеток, чем ^{232}Th .

Увеличение концентрации Cd в растворе до $0,89 \cdot 10^{-7}$ М вызывает достоверное снижение даже по отношению к контрольному варианту частоты aberrантных клеток за счет уменьшения числа повреждений хроматидного типа (табл. 2, рис. 3). Следует также обратить внимание на отсутствие клеток с отставшими хромосомами. Кроме того, хотя доля К-митозов

Таблица 2

Частота aberrантных ана-телофаз и доля клеток с К-митозами в корневой меристеме *Allium cepa* L. при действии ^{232}Th и Cd

Год исследования	Вариант	Количество проанализированных ана-телофаз	Частота aberrантных ана-телофаз, %		Количество проанализированных метафаз, шт.	Доля клеток с К-митозами, %	
			$\bar{X} \pm S_T$	инкремент		$\bar{X} \pm S_T$	инкремент
2003	Контроль 1	1221	$1,59 \pm 0,47$		474	$0,30 \pm 0,46$	—
2004	Контроль 2	2205	$0,93 \pm 0,13$		1264	$0,15 \pm 0,21$	—
2003	$7,76 \cdot 10^{-7}$ М ^{232}Th	1176	$1,68 \pm 0,31$	$0,09 \pm 0,31$	439	$2,71 \pm 0,37^{***}$	$2,41 \pm 0,37$
2004	$0,89 \cdot 10^{-8}$ М Cd	1653	$1,09 \pm 0,21$	$0,16 \pm 0,21$	1414	$2,77 \pm 0,13^{***}$	$2,65 \pm 0,13$
2003	$0,89 \cdot 10^{-7}$ М Cd	867	$0,71 \pm 0,23^{**}$	$-0,88 \pm 0,23$	341	$1,17 \pm 0,69^*$	$0,80 \pm 0,69$
2003	$5,34 \cdot 10^{-6}$ М Cd	1477	$2,13 \pm 0,19^*$	$0,54 \pm 0,19$	406	$2,76 \pm 0,46^{***}$	$2,54 \pm 0,46$

Примечание. Отличия от контроля достоверны при * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$.

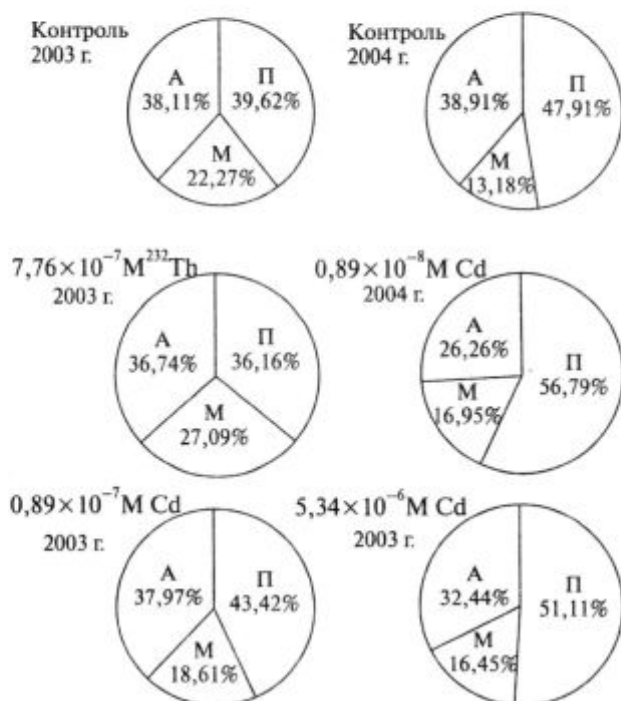


Рис. 5. Доля (%) профаз (П), метафаз (М) и ана-телофаз (А) среди делящихся клеток корневой меристемы *Allium cepa* L.

остается по-прежнему высокой по отношению к контролю, но достоверно ($p < 0,05$) снижается в сравнении с уровнем этих повреждений, индуцируемых меньшей концентрацией кадмия. При не изменяющемся существенно значении митотического индекса (рис. 4) доли метафаз и анафаз достоверно не отличаются от наблюдаемой в контроле (рис. 5). Остается высоким ($p = 0,016$) только относительное число клеток в стадии профазы. В совокупности эти данные свидетельствуют о снижении мутагенного эффекта действия Cd при концентрации $0,89 \cdot 10^{-7} \text{ M}$ и времени воздействия 30 ч, а также уменьшении его влияния на формирование нитей веретена деления.

Повышение содержания Cd до $5,34 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ приводит к достоверно высокому мутагенному эффекту (табл. 2) в основном за счет увеличения по отношению к контролю частоты клеток с одиночными мостами (рис. 3). При этом снижается ($p = 0,041$) митотический индекс (рис. 4) и формируется профазный блок (рис. 5) с соответствующим снижением доли мета-

фаз ($p = 0,025$) и анафаз ($p = 0,009$) среди делящихся клеток. Частота колхициновых митозов (табл. 2) достоверно отличается от контрольной и увеличивается по сравнению с более низкой концентрацией кадмия, равной $0,89 \cdot 10^{-7} \text{ M}$.

Представленные результаты показывают, что зависимость «концентрация кадмия — эффект» ни по одному из регистрируемых типов цитогенетических повреждений не является линейной. Концентрация $5,34 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ вызвала достоверные токсический и мутагенный эффекты. Мутагенный и антимиотический эффект $0,89 \cdot 10^{-7} \text{ M}$ кадмия оказался ниже, чем при действии меньшей концентрации — $0,89 \cdot 10^{-8} \text{ M}$. Этот феномен можно объяснить на основе представлений о механизмах реакции растений на воздействие Cd. Важную роль в детоксикации Cd играют эндогенные защитные вещества — фитохелатины (МТ3), которые связывают 99 % поступившего в клетку металла [23]. Эти белки вырабатываются и в норме, но их повышенное содержание в тканях растений обнаруживается в ответ на воздействие Cd и растет пропорционально поступившему количеству ионов [24, 25]. Средство МТ3 к металлу, а следовательно, эффективность детоксикации увеличивается с повышением степени полимеризации фитохелатинов [25]. В свою очередь возрастание доли молекул с высокой степенью полимеризации наблюдается при увеличении концентрации Cd и времени воздействия [23, 25].

Кроме того, показано, что ДНК клеток, подвергшихся действию Cd, продуцирует специфичную мРНК, которая регулирует синтез белков теплового шока (БТШ) [1]. БТШ чаще экспрессируются в корнях, чем в других органах, и повышают эффективность быстрой репарации вызванных Cd повреждений, обеспечивая правильность конформации нарушенных металлом белков. При этом связанный с системой теплового шока клеточный ответ не является узко специализированным — это генерализованная система, которая активирует транскрипцию ряда генов, обеспечивающих нормальное функционирование клетки при многих неблагоприятных воздействиях [26].

Таким образом, при определенной интенсивности воздействия кадмия клетки переходят

дят в новый режим функционирования и активизируют неспецифические системы защиты, способствующие устранению вызванных не только металлом, но и другими факторами повреждений (включая повреждения, вызванные в ходе аэробного метаболизма клеток). Возможно поэтому снижение выхода цитогенетических повреждений наблюдается при действии $0,89 \cdot 10^{-7}$ М Cd, а не в случае более низкого его содержания — $0,89 \cdot 10^{-8}$ М. При действии высокой концентрации ($5,34 \cdot 10^{-6}$ М) Cd интенсивность нагрузки достигает таких значений, когда системы детоксикации уже не могут эффективно устранять образующиеся в клетке нарушения и скорость процессов повреждения преобладает над восстановлением.

Выводы. Изучение токсических и цитогенетических эффектов, индуцируемых Cd и ^{232}Th , показало:

1) концентрации $3,88 \cdot 10^{-7}$ и $7,76 \cdot 10^{-7}$ М ^{232}Th , $0,89 \cdot 10^{-8}$ и $0,89 \cdot 10^{-7}$ М Cd не оказывают фитотоксическое действие. При содержании ^{232}Th , равном $1,55 \cdot 10^{-6}$, и Cd — $5,34 \cdot 10^{-5}$ М наблюдается 40%-ное ингибирование роста корней *A. cepa* L. Эти концентрации относятся к среднетоксичным (ЕС10-50). И только в концентрации $5,34 \cdot 10^{-6}$ М кадмий сильно угнетает ростовые процессы (ЕС60);

2) токсические и регистрируемые в первом митотическом делении клеток корней лука мутагенные эффекты при действии $7,76 \cdot 10^{-7}$ М ^{232}Th и $0,89 \cdot 10^{-8}$ М Cd сходны по уровню и спектру преобладающих повреждений. Указанные концентрации элементов, не превышающие официально установленные нормативы при поступлении с водой для населения, не увеличивают частоту структурных перестроек хромосом по отношению к контролю. Эти концентрации не вызывают выраженные токсические эффекты у растений на организменном и тканевом уровнях, но проявляют активность на клеточном, достоверно увеличивая долю колхициновых митозов и частоту клеток с отстающими хромосомами;

3) зависимость «концентрация кадмия — эффект» ни по одному из регистрируемых типов цитогенетических повреждений не является линейной. При концентрации кадмия $0,89 \cdot 10^{-7}$ М ослабляется его влияние на формирование нитей веретена деления, а также

происходит снижение частоты ана-телофаз с абберациями хромосом и по сравнению с контролем, и по отношению к эффектам, индуцируемым более низким содержанием металла в растворе — $0,89 \cdot 10^{-8}$ М. Действие высокой концентрации ($5,34 \cdot 10^{-6}$ М) Cd приводит к достоверным токсическому и мутагенному эффектам.

SUMMARY. ^{232}Th ($7,76 \cdot 10^{-7}$ М) and Cd ($0,89 \cdot 10^{-8}$ М) in concentrations which do not exceed officially prescribed standards when entering with water do not increase the frequency of chromosome aberrations in comparison with the control. Such concentrations do not cause toxic effects in plants on the levels of tissues and of the whole organism but they do display their activity on the cell level damaging division spindle. Dependence «cadmium concentration — effect» is not linear for any type of cytogenetical damages. At the concentration of cadmium $0,89 \cdot 10^{-7}$ М its influence on formation of division spindle is weakened and the frequency of chromosome aberrations is reducing in comparison with the control and with the effects induced at lower concentrations of cadmium in solution ($0,89 \cdot 10^{-8}$ М). Cadmium in high concentration ($5,34 \cdot 10^{-5}$ М) causes significant toxic and mutagenic effects.

РЕЗЮМЕ. ^{232}Th ($7,76 \cdot 10^{-7}$ М) и Cd ($0,89 \cdot 10^{-8}$ М) у концентраціях, що не перевищують офіційно встановлені нормативи при надходженні з водою для населення, не збільшують частоту структурних перебудов хромосом відносно контролю. Вказані концентрації не викликають токсичних ефектів у рослин на організменному та тканинному рівнях, але виявляють активність на клітинному рівні, пошкоджуючи нитки веретена ділення. Залежність «концентрація кадмію — ефект» по жодному з зареєстрованих типів цитогенетичних пошкоджень не є лінійною. При концентрації кадмію $0,89 \cdot 10^{-7}$ М послаблюється його вплив на формування ниток веретена ділення, а також відбувається зниження частоти аберацій хромосом порівняно з контролем і по відношенню до ефектів, що індукуються при більш низькому вмісті металу в розчині — $0,89 \cdot 10^{-8}$ М. Дія високої концентрації кадмію ($5,34 \cdot 10^{-5}$ М) призводить до вірогідних токсичному та мутагенному ефектів.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Sanita' di Toppi L., Gabbrielli R.* Response to cadmium in higher plants // *Environm. and Exp. Bot.* — 1999. — 41. — P. 105—130.
2. *Кабата-Пендиас А., Пендиас Х.* Микроэлементы в почвах и растениях. — М.: Мир, 1989. — 498 с.
3. *Алексахин Р.М., Архипов Н.П., Бархударов Р.М. и др.* Тяжелые естественные радионуклиды в биосфере. — М.: Наука, 1990. — 386 с.

4. Позолотина В.Н., Собакин П.И., Молчанова И.В., Караваяева Е.Н., Михайловская Л.Н. Миграция и биологическое действие на растения тяжелых естественных радионуклидов // Экология. — 2000. — № 1. — С. 17—23.
5. Fiskesjo G. The Allium test — an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions // Mutat. Res. — 1988. — 197. — P. 243—260.
6. Grant W.F. Chromosome aberration assays in Allium. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program // Mutat. Res. — 1982. — 99. — P. 273—291.
7. Knasmuller S., Gottman E., Steinkellner H., Fömin A., Pickl C., Paschke A., God R., Kundi M. Detection of genotoxic effects of heavy metal contaminated soils with plant bioassays // Mutat. Res. — 1998. — 420. — P. 37—48.
8. Evseeva T.I., Geras'kin S.A., Shuktomova I.I. Genotoxicity and toxicity assay of water sampled from radium production industry storage cell territory by means of Allium-test // J. Environm. Radioact. — 2003. — 68. — P. 235—248.
9. Evseeva T.I., Geras'kin S.A., Shuktomova I.I., Taskaev A.I. Genotoxicity and cytotoxicity assay of water sampled from the underground nuclear explosion site in the north of the Perm region (Russia) // J. Environm. Radioact. — 2005. — 80. — P. 59—74.
10. Гудков И.Н., Гродзинский Д.М. Роль асинхронности клеточных делений и гетерогенности меристемы в радиоустойчивости растений // Механизмы радиоустойчивости растений. — Киев: Наук. думка, 1976. — С. 110—137.
11. Бессонова В.П. Клеточный анализ роста корней *Lathyrus odoratus* L. при действии тяжелых металлов // Цитология и генетика. — 1991. — 25, № 6. — С. 18—22.
12. Дубинин Н.П., Немцева Л.С. Хромосомные и хроматидные перестройки как результат воздействия радиации на фазу G₁ клеток семян *Allium cepa* // Цитология и генетика. — 1972. — 6, № 2. — С. 99—102.
13. Дубинин Н.П. Потенциальные изменения ДНК и мутации. Молекулярная цитогенетика. — М.: Наука, 1978. — 242 с.
14. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. — М.: Колос, 1980. — 303 с.
15. Кендалл М., Стюарт А. Статистические выводы и связи. — М.: Наука, 1973. — 899 с.
16. Крамер Г. Математические методы статистики. — М.: Мир, 1975. — 648 с.
17. Довгалюк А.И., Калиняк Т.Б., Блюм Я.Б. Оценка фито- и цитотоксической активности соединений тяжелых металлов и алюминия с помощью корневой апикальной меристемы лука // Цитология и генетика. — 2001. — 35, № 2. — С. 3—9.
18. Гераськин С.А., Фесенко С.В., Черняева Л.Г., Санжарова Н.И. Статистические методы анализа эмпирических распределений коэффициентов накопления радионуклидов растениями // С.-х. биология. — 1994. — № 1. — С. 130—137.
19. Поликарпов Г.Г., Цицугина В.Г. Закономерности распределения aberrаций хромосом по клеткам гидробионтов при действии ионизирующего излучения и химических мутагенов среды // Радиационная биология. Радиоэкология. — 1993. — 33, вып. 2. — С. 205—213.
20. Нормы радиационной безопасности (НРБ-99): Гигиенические нормативы. — М.: Центр сан.-эпидем. нормирования, гигиен. сертификации и экспертизы МЗ России, 1999. — 116 с.
21. Wierzbicka M. The effect of lead on cell cycle in the root meristem of *Allium cepa* L. // Protoplasma. — 1999. — 207. — P. 186—194.
22. Seoane A.I., Dulout F.N. Genotoxic ability of cadmium, chromium and nickel salts studied by kinetochore in the cytokinesis-blocked micronucleus assay // Mutat. Res. — 2001. — 490. — P. 99—106.
23. Cobbett C.S. Phytochelatin and their roles in heavy metal detoxification // Plant Physiol. — 2000. — 123. — P. 825—832.
24. Gupta S.C., Goldsborough P.B. Phytochelatin accumulation and cadmium tolerance in selected tomato cell lines // Plant Physiol. — 1991. — 97. — P. 306—312.
25. Loeffler S., Hochberger A., Grill E., Winnacker E.-L., Zenk M.H. Termination of the phytochelatin synthetase reaction through sequestration of heavy metal by the reaction product // FEBS Lettr. — 1989. — 258, № 1. — P. 42—46.
26. Strand D.J., McDonald J.F. Copia is transcriptionally responsive to environmental stress // Nucl. Acids Res. — 1985. — 13, № 12. — P. 4401—4410.

Поступила 14.02.05