

спелости, которые отметились лучшими показателями адаптивности. Новые сорта: Калынова, Колос Мыронивщины, Волошкава занимают высокие ранговые места.

When analyzing climatic conditions around the V.M. Remeslo Myronivka Institute of Wheat for the last 10 years, sling changes of continentalness were revealed. Growing season for winter wheat has prolonger. Early-ripening varieties produced the most mass of 1000 seeds, but middle-ripening ones were the most productive. Characteristic of yield for modern varieties with various duration of grooving by adaptability indices is given. New varieties Kalynova, Kolos Myronivschyny, Voloshkova heard the list of ranks.

КРАВЕЦ Е.А., МИХЕЕВ А.Н., ОВСЯННИКОВА Л.Г., ЗАБАРА Е.П.

*Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАНУ,
ул. акад. Заболотного, 148, Киев-14,
e-mail: elkrajv@online.ua*

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ЗАВИСИМОСТИ ВЫЖИВАЕМОСТИ АПИКАЛЬНОЙ МЕРИСТЕМЫ КОРНЯ ОТ ЧАСТОТЫ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ, ИНДУЦИРОВАННЫХ ОСТРЫМ ОБЛУЧЕНИЕМ, У ПРОРОСТКОВ ГОРОХА

Пролиферативная гибель меристематических клеток, как одна из составляющих радиационного поражения, в значительной степени определяется повреждением их хромосомного аппарата [1–3]. В основе гибели клеток обычно лежат несбалансированные перестройки — асимметричные обмены и ацентрические фрагменты [2–3]. Для количественной характеристики радиобиологического эффекта очень важен такой интегральный показатель как выживаемость. Однако, при оценке причинной связи между частотой хромосомных aberrаций и гибелью организма возникает много дополнительных обстоятельств, усложняющих результаты такого сопоставления [4, 5]. В связи с этим, данные о пороговых значениях цитогенетического повреждения меристемы, совместимых с выживанием меристемы, а также структур более высокого порядка, практически отсутствуют. Целью данной работы был анализ количественных зависимостей между числом aberrаций, индуцированных острым облучением, и выживаемостью меристемы корня проростков.

Материал и методы

Объект исследования — горох посевной (*Pisum sativum* L., сорт Комет). Трехсуточные проростки облучали в дозах 2, 4, 6 и 8 Гр на рентгеновской установке РУМ-17 ($I = 10$ А; $U = 200$ keV) и в дозах 8, 10, 13, 16 и 20 Гр на гамма-установке РОКУС при мощности облучения 1,42 cГр/с. Цитогенетический анализ меристемы корня проводили через 48 час после облучения, оценивая ЧАА (частота aberrантных анафаз), ЧНА (частота нормальных анафаз), поклеточное распределение aberrаций (соотношения числа клеток с 1, 2, 3 и множественными aberrациями в процентах к числу аномальных

анафаз). Классификацию aberrаций в анафазе проводили по следующим видам: фрагменты одинарные и парные, мосты одинарные (хроматидные) и парные (хромосомные), мосты с одинарными и парными фрагментами [2, 6]. Мультиабберрантные перестройки идентифицировались при учете более трех aberrаций на анафазу. Объем выборки составлял 9–11 корней. На 8 сутки определяли выживаемость меристемы, фиксировали апексы корней и изготавливали постоянные цитологические препараты для анализа регенерационных процессов. Давленные препараты окрашивали ацетоорсеином, постоянные — по Фельгену, согласно общепринятой цитологической методике [7]. Определяли динамику прироста фитомассы надземной и подземной частей проростков. Для статистической обработки материала использовали функции программы Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

С увеличением дозы облучения от 2 до 20 Гр частота хромосомных aberrаций в апикальной меристеме корня возрастает с 27 до 80–94% (рис. 1, а). В диапазоне доз от 4 до 8 Гр выделяется участок стабилизации повреждений на уровне 44–48%, в котором линейный характер дозовой зависимости резко изменяется (рис. 1, а).

Кривые поклеточного распределения aberrаций носят волнообразный, нелинейный характер (рис. 1, б). В диапазоне доз от 4 до 8 Гр характер поклеточного распределения aberrаций характеризуется снижением числа мультиабберрантных повреждений и повышением частоты нормальных анафаз и анафаз с одинарными перестройками (рис. 1, б). При дозах свыше 8 Гр соотношение между клонами нормальных и абберрантных клеток изменяется: частота нормальных анафаз и анафаз с 1–2 перестройками линейно снижается, с тремя и большим числом aberrаций — возрастает. Мы полагаем, что в основе снижения числа aberrаций в отмеченном диапазоне доз

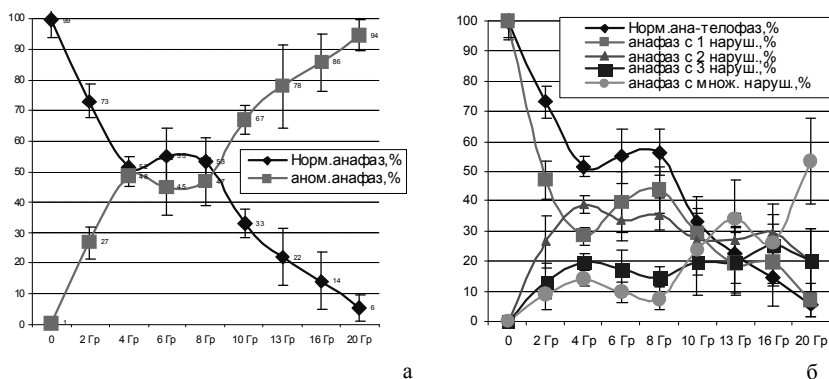


Рис. 1. Дозовые зависимости по частоте абберрантных анафаз (а) и поклеточному распределению абберранций (б): по оси х — доза облучения, по оси у — ЧАА и ЧНА, % (а) и — анафазы с 1, 2, 3 и множественными перестройками в % (б)

лежат механизмы клеточной конкуренции между клонами нормальных и аберрантных клеток, которая поддерживается за счет репопуляции (клеток, находящихся в момент облучения, в G_1 и G_0). Кроме того, клетки, несущие одинарные или двойные перестройки, также могут сохраняться в клеточных потоках, выигрывая конкуренцию с более нагруженными перестройками клетками. Действительно, одна и даже две перестройки на клетку не всегда приводят к ее гибели, поскольку аберрантные хроматиды могут равномерно распределяться между анафазными наборами [2, 3]. Высокий процент пролиферирующих клеток, содержащих микроядра во втором после облучения митозе, также указывает на вероятностное выживание клеток с абберациями. Индукция же мультиаберрантных повреждений, как правило, сопровождается исключением таких клеток из клеточных потоков и их пролиферативной гибелью.

При дозах свыше 8 Гр, которые сопровождаются превышением 50 %-ого уровня аббераций, основной вклад в формирование повреждения меристемы вносят мультиаберрантные и трехчленные хромосомные перестройки (рис. 1, б). При дозах от 13 Гр меристема практически не содержит интерфазных клеток нормального строения, что свидетельствует о добавлении второй, после индукции мультиаберрантных перестроек, составляющей суицидной программы меристемы — интерфазной гибели клеток. Итак, критическим уровнем повреждения корневой меристемы проростков гороха, при учете частоты ана-телофаз митоза, является, примерно, 50% абберрантных клеток. При этом же уровне аббераций меристематических клеток корня еще может выживать апикальная меристема стебля. Сохранение незначительной ростовой активности за пределами пороговой дозы, как правило, сопровождаются нарушением морфогенеза. Превышение 50%-го уровня повреждения приводит к запуску программы самоуничтожения меристемы путем индукции мультиаберрантных повреждений, а затем и интерфазной гибели клеток.

Несмотря на значительную степень повреждения или гибель проксимальной меристемы корня, в диапазоне повреждающих доз от 6 до 20 Гр наблюдались регенерационные процессы разной интенсивности, основу которых составляет механизм репопуляции. При дозах в 6 и 8 Гр репопуляционный механизм обеспечивает быстрое восстановление апекса, лишь незначительно замедляя прирост главного корня (рис. 2 а, б). Чем выше доза облучения, тем сложнее и медленнее происходит восстановление. При дозах в 10 и 13 Гр процесс регенерации сопровождается торможением и остановкой роста; при 16 и 20 Гр — полным блокированием роста. В апексах проростков, облученных дозами 13, 16 и 20 Гр, наблюдалась дегенерация и деформация тканей эпидермиса, коры, чехлика и меристемы, фрагментация элементов проводящей системы. В зависимости от степени повреждения апикальной меристемы регенерация приводит к ее частичной или полной замене. Пролиферативная активность клеток зоны перикакла инициирует заложение боковых корней и частично обеспечивает восстановление структуры корня

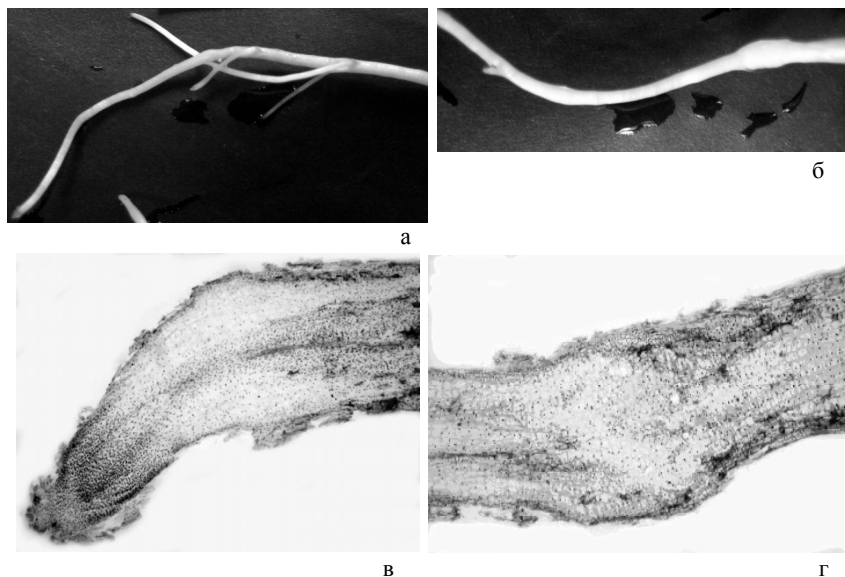


Рис. 2. Восстановление тканей и ростовой активности апекса корня при дозе в 8 Гр, стрелками указаны зона побурения (а) и утолщения (б); в — прямой способ регенерации через репопуляционный механизм, 20 Гр; г — непрямой способ регенерации через каллусогенез, 13 Гр

в зоне дифференциации. При гибели апикальной меристемы регенерация может приводить к полному замещению некротической ткани на новую, восстанавливая не только численность, но и структуру корневого апекса (рис. 2, в). Однако локальные процессы регенерации не в состоянии обеспечить восстановление морфогенеза и выживание проростков при значительном превышении порога повреждения (при дозах от 13 Гр и выше). Регенерация в большинстве случаев осуществлялась прямым путем через репопуляционный механизм (рис. 2, в), реже — к репопуляционному механизму добавлялась активация пролиферации в переходной к растяжению зоне апекса. В редких случаях регенерация происходила непрямым путем — через дедифференциацию и каллусогенез (рис. 2, г).

Итак, в определенном дозовом диапазоне ионизирующего облучения, близком к LD_{50} , динамика формирования хромосомных aberrаций в корневой меристеме следует обратной зависимости от дозы облучения. Достигается этот феномен благодаря механизмам клеточной конкуренции, которую следует рассматривать как фактор, ограничивающий мутагенез, регулирующий численность и соотношение клеточных субпопуляций в апикальной меристеме и обеспечивающий регенерацию. Порогом радиационного повреждения апикальной меристемы корня является, примерно, 50% aberrант-

ных анафаз, учитывая, что при этом уровне аберраций в меристеме корня еще может выживать апикальная меристема стебля.

Выводы

Критическим уровнем повреждения апикальной меристемы корня проростков гороха, совместимым с их выживанием, является около 50%; превышение этого уровня приводит к запуску суицидной программы через индукцию мультиаберрантных повреждений, а затем и интерфазной гибели клеток.

В механизмах восстановления апикальной меристемы корня важную роль играет клеточная конкуренция между клонами нормальных клеток, аберрантных с 1 или 2 перестройками и мультиаберрантными клетками. Сдвиг соотношения в сторону увеличения числа нормальных и аберрантных с 1–2 перестройками анафаз свидетельствует о восстановительных процессах, преобладание мультиаберрантных анафаз указывает на необратимость радиационного повреждения.

Регенерация главного корня осуществляется в диапазоне повреждающих доз, обеспечивая полное или частичное восстановление корневого апекса. Однако этих локальных процессов регенерации недостаточно для восстановления морфогенеза и выживания проростков при значительном превышении порога повреждения.

Литература

1. Барсуков В.С., Малиновский О.В. Количественное описание процесса радиационной инактивации клеток. Основные посыпки. Образование летальных повреждений // Цитология. — 1973. — 15, №9. — С. 1152–1159.
2. Ганасси Е.Э. Радиационное повреждение и репарация хромосом. — М.: Наука, 1976. — 103 с.
3. Ганасси Е.Э., Заичкина С.И., Розанова О.М. Роль различных повреждений ДНК в формировании радиационного повреждения хромосом // Радиобиология. — 1984. — 4, №5. — С. 616–625.
4. Гродзинский Д.М. Радиобиология растений. — Киев: Наук.думка, 1986. — 380 с.
5. Гудков И.Н. Клеточные механизмы пострадиационного восстановления растений. Киев: Наук.думка, 1986. — 222 с.
6. Гостимский С.А., Дьякова М.И., Ивановская Е.В., Монахова М.А. Практикум по цитогенетике. Метод. Пособие. М.:Изд-во МГУ, 1974. — 150 с.
7. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. — М.: Агропромиздат, 1988. — 271 с.

Резюме

Встановлено, що критичним рівнем пошкодження апікальної меристеми кореня проростків гороху є, приблизно, 50% аберантних анафаз. Перевищення цього порогу призводить до запускання суїцидної програми в меристемі через індукцію мультиаберантних пошкоджень і інтерфазної загибелі клітин. В механізмах відновлення важливу роль виконує клітинна конкуренція між клонами нормальних та аберантних клітин.

The critical level of damage to the apical meristem of seedling root was defined about 50% of aberrant anaphase. An exceeding this level leads to launch suicidal program through induction multia aberrant damages and interphase cell death. A primary role in the mechanisms of recovery plays a cell competition between clones of non-aberrant and aberrant cells.

КРАВЧЕНКО А. Н., ЛАРИОНОВА А. Я.

Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН

Россия, 660036, Красноярск, Академгородок, 50/28;

e-mail: albina@skk.krasn.ru

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОПУЛЯЦИЙ ЕЛИ СИБИРСКОЙ В ГИДРОМОРФНЫХ И СУХОДОЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ ПРОИЗРАСТАНИЯ

В настоящем сообщении представлены материалы по изучению генетического разнообразия, структуры и степени дифференциации популяций ели сибирской, произрастающей в разных условиях водно-минерального питания на территории Томской области.

Материалы и методы

В качестве материала для исследования использовали вегетативные почки, собранные с отдельных деревьев в пяти популяциях (ценопопуляциях) ели сибирской, расположенных на болотах (осушенное евтрофное болото, два типичных неосушенных евтрофных болота, заболоченный участок со слабо развитым торфяным горизонтом) и на суходоле в южно-таежной подзоне Западно-Сибирской низменности на территории Тимирязевского лесхоза Томской области. Электрофоретическое разделение экстрактов почек проводили методом горизонтального электрофореза в 13%-ном крахмальном геле в трех буферных системах: морфолин-цитратной, pH 7.0 [Clayton, Tretiak, 1972], трис-цитратной, pH 8.5/гидроокись лития-боратной, pH 8.1 [Ridgway, et al., 1970], трис-ЭДТА-боратной, pH 8.6 [Markert, Faulhaber, 1965]. В анализ включено 12 ферментных систем ели сибирской: 6-фосфоглюконатдегидрогеназа (6-PGD, КФ 1.1.1.44), малатдегидрогеназа (MDH, КФ 1.1.1.37), шикиматдегидрогеназа (SKDH, КФ 1.1.1.25), формиатдегидрогеназа (FDH, КФ 1.2.1.2), изоцитратдегидрогеназа (IDH, КФ 1.1.1.42), глутаматдегидрогеназа (GDH, КФ 1.4.2.3), фосфоэнолпируваткарбоксилаза (PEPСА, КФ 1.15.1.1), глутаматоксалоацетаттрансаминаза (GOT, КФ 2.6.1.1), фосфоглюкомутаза (PGM, КФ 2.7.5.1), фосфоглюкоизомераза (PGI, КФ 5.3.1.9), лейцинаминопептидаза (LAP, КФ 3.4.11.1) и супероксиддисмутаза (SOD, КФ 1.15.1.1). Генетическую структуру популяций определяли по 22-м локусам, аллельные варианты которых хорошо разделяются в указанных выше буферных системах. Для оценки уровня генетического разнообразия использовали общепринятые при проведении популяционных исследований показатели изменчивости [Айала, Кайгер, 1988]. Популяционную структуру и степень подразделенности популяций устанавливали с помощью коэффициентов инбридинга F-статистик Райта [Guries, Ledig, 1982]. Количественную оценку степени генетических различий между популяциями производили по методу, предложенному М. Неи [Nei, 1972].

Результаты и обсуждение

На основании анализа аллельного разнообразия 22 локусов в каждой из включенных в исследование популяций ели сибирской была установлена генетическая структура и определены значения основных показателей гене-