

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

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

² ВНИИ сельскохозяйственной радиологии и агроэкологии РАСХН,
Обнинск

ВЛИЯНИЕ Cd и K НА УРОВЕНЬ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ, ИНДУЦИРУЕМЫХ ²³²Th В КОРНЕВОЙ МЕРИСТЕМЕ *ALLIUM CERA* L.



Исследовано влияние разных концентраций Cd и K на уровни мутагенного и цитотоксического эффектов, индуцируемых ²³²Th в корневой меристеме Allium cera L. Совместное действие ²³²Th (0,8 мкМ) с нетоксичной (0,009 мкМ) и токсичной (5 мкМ) концентрациями Cd приводит к синергическому увеличению частоты аберрантных клеток в корневой меристеме A. cera. Только при определенных концентрациях ²³²Th и Cd (0,8 и 0,09 мкМ соответственно) и времени воздействия 30 ч наблюдается уменьшение до аддитивного уровня мутагенного эффекта и антагонизм в отношении цитотоксического. В отличие от тяжелого металла кадмия жизненно важный для растений макроэлемент калий во всех изученных концентрациях (0,008, 6, 13 мМ) снижает число регистрируемых в контроле и индуцируемых ²³²Th цитогенетических повреждений. Максимальный защитный эффект калия наблюдался при концентрации 13 мМ.

© Т.И. ЕВСЕЕВА, Т.А. МАЙСТРЕНКО, С.А. ГЕРАСЬКИН,
Е.С. БЕЛЫХ, 2006

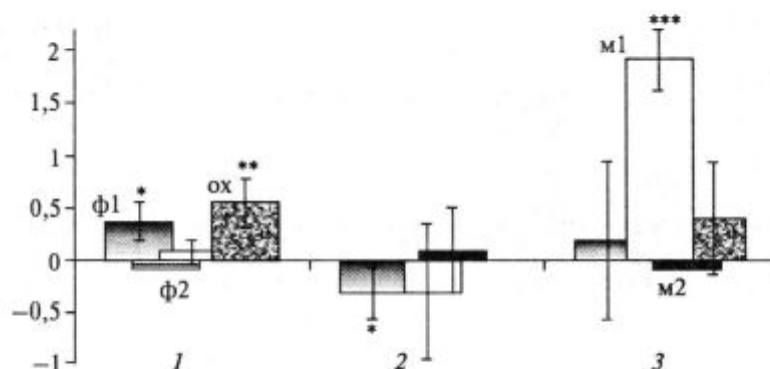
Введение. Современная экологическая ситуация характеризуется высоким уровнем техногенного загрязнения среды обитания животных и растений, значительный вклад в которое вносят радионуклиды и металлы. В зависимости от физических и химических свойств, соотношения концентраций и времени воздействия эти элементы могут взаимно усиливать либо ослаблять индуцируемые биологические эффекты. Заметим, что в абсолютном большинстве таких исследований рассматривают совместное действие металлов-микроэлементов с имеющими техногенное происхождение радионуклидами. Это вполне объяснимо, учитывая возникшую в связи с катастрофами на объектах ядерной энергетики необходимость поиска мер защиты биоты от радиационного воздействия.

Но до сих пор остаются практически не изученными закономерности совместного действия на биологические системы тяжелых естественных радионуклидов (ТЕРН) с сопутствующими им в окружающей среде щелочными, щелочноземельными и тяжелыми металлами. Недостаток такой информации не только усложняет понимание процессов, происходящих в популяциях животных и растений, обитающих на территориях с повышенным фоном естественной радиоактивности [1], но и затрудняет разработку принципов экологического нормирования радиационных и химических воздействий, о чем свидетельствуют итоги [2] выполнения проекта ЕС FASSET и результаты текущего проекта ERICA [3].

Поэтому цель настоящего исследования заключалась в изучении влияния существенно разных по физическим и химическим свойствам металлов — Cd и K — на уровни мутагенных и цитотоксических эффектов, индуцируемых у *Allium cera* L. тяжелым естественным радионуклидом ²³²Th.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования выбран лук репчатый (сорт Даниловский), используемый в исследованиях по радиационному и химическому мутагенезу, при оценке токсичности модельных растворов химических веществ и природных вод. Для определения мутагенного эффекта Cd, K и ²³²Th применяли ана-телофазный метод учета перестроек хромосом в клетках корневой меристемы лука. Цитотоксичность металлов оценивали по изменению митотического индекса.

Рис. 1. Спектр цитогенетических поврежденных клеток корневой меристемы *Allium cepa* L. при действии 0,8 мкМ ²³²Th и Cd: по горизонтали — вариант эксперимента совместного действия 0,8 мкМ ²³²Th с Cd в концентрациях: 1 — 0,009 мкМ; 2 — 0,09 мкМ; 3 — 5 мкМ; по вертикали — инкремент, %, частоты одиночных (ф1) и двойных (ф2) фрагментов, одиночных (m1) и двойных (m2) мостов, отставших хромосом (ох). Здесь и далее на рисунках: * — отличие от контроля достоверно при $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,01$



Чтобы частично синхронизировать рост корней и вступление меристематических клеток в митоз, луковицы выдерживали 14 дней при температуре +4 °С [4]. Затем их помещали в стаканчики так, чтобы с растворами солей металлов или дистиллированной водой (контроль) соприкасалось только донце. Проращивание корней проводили при температуре растворов 21 ± 2 °С в темноте. Выбор в качестве контроля дистиллированной воды обоснован в нашей предыдущей публикации [5].

Применяли методику анализа перестроек хромосом в первом митотическом цикле, использовавшуюся в классических цитогенети-

ческих исследованиях [4, 6]. Для этого через 30 ч от начала эксперимента срезали корешки наиболее часто встречаемой [7] в контроле длины 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 °С. Готовили временные давленные препараты, используя при окрашивании ацетокармин. Количественный и качественный учет перестроек хромосом, подсчет митотического индекса, доли профаз, метафаз, ана-телофаз проводили по общепринятой методике [8]. Долю (%) колхициновых митозов (К-митозов) рассчитывали как отношение

Таблица 1

Частота aberrантных клеток и доля клеток с К-митозами при действии Cd либо K с ²³²Th в концентрации 0,8 мкМ на корневую меристему *Allium cepa* L.

Год исследования	Вариант (концентрация)	Количество проанализированных ана-телофаз, шт.	Частота aberrантных ана-телофаз, %		Количество проанализированных метафаз, шт.	Доля клеток с К-митозами, %	
			$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	Инкремент		$\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$	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	$0,15 \pm 0,21$	—
2004	²³² Th + Cd (0,009 мкМ)	1485	$1,89 \pm 0,18^*$	$0,96 \pm 0,18$	1277	$4,92 \pm 0,50^{***}$	$4,78 \pm 0,50$
2003	²³² Th + Cd (0,09 мкМ)	1780	$1,04 \pm 0,60$	$-0,55 \pm 0,60$	513	$0,85 \pm 0,83$	$0,55 \pm 0,83$
2003	²³² Th + Cd (5 мкМ)	624	$3,46 \pm 0,65^{***}$	$1,87 \pm 0,65$	309	$2,65 \pm 1,58^*$	$2,35 \pm 1,58$
2004	K (0,008 мМ)	1365	$0,54 \pm 0,23^*$	$-0,38 \pm 0,23$	821	$0,34 \pm 0,31$	$0,19 \pm 0,31$
2003	K (6 мМ)	2087	$0,97 \pm 0,37^*$	$-0,62 \pm 0,37$	530	$0,27 \pm 0,41$	$-0,03 \pm 0,41$
2003	K (13 мМ)	1411	$0,96 \pm 0,25^*$	$-0,63 \pm 0,25$	752	$0,10 \pm 0,21$	$-0,19 \pm 0,21$
2004	²³² Th + K (0,008 мМ)	3593	$0,77 \pm 0,15$	$-0,15 \pm 0,15$	1154	$1,10 \pm 0,34^{**}$	$0,95 \pm 0,34$
2003	²³² Th + K (6 мМ)	2431	$0,82 \pm 0,25^{**}$	$-0,76 \pm 0,25$	1041	$0,12 \pm 0,27$	$-0,17 \pm 0,27$
2003	²³² Th + K (13 мМ)	2143	$0,98 \pm 0,21^*$	$-0,61 \pm 0,21$	971	$0,29 \pm 0,28$	$-0,01 \pm 0,28$

Примечание. Здесь и в табл. 2 отличия от контроля достоверны при: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

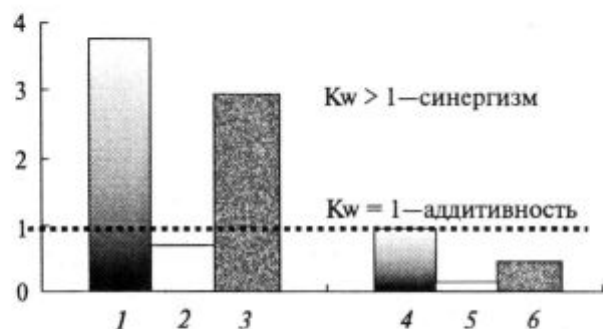


Рис. 2. Значения коэффициентов взаимодействия, вычисленные для частоты aberrантных клеток (1–3) и доли клеток с К-митозами (4–6); по горизонтали — вариант эксперимента совместного действия 0,8 мкМ ^{232}Th с Cd в концентрациях: 1, 4 — 0,009 мкМ; 2, 5 — 0,09 мкМ; 3, 6 — 5 мкМ; по вертикали — значение коэффициента взаимодействия

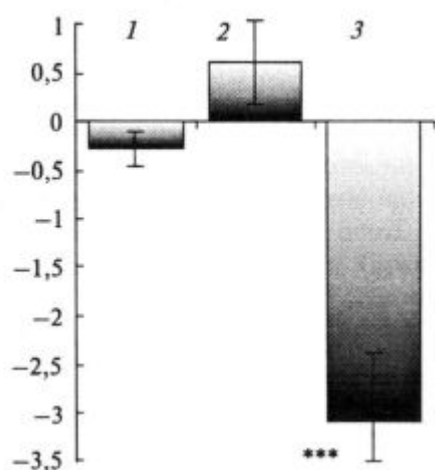


Рис. 3. Митотический индекс клеток корневой меристемы *Allium cepa* L. при действии 0,8 мкМ ^{232}Th и Cd; по горизонтали — вариант эксперимента совместного действия ^{232}Th с Cd в концентрациях: 1 — 0,009 мкМ; 2 — 0,09 мкМ; 3 — 5 мкМ; по вертикали — инкремент значений митотического индекса, %

числа аномальных митозов и проанализированных метафаз.

Для изучения совместного действия Cd, ^{232}Th и K на меристемы лука использовали водные нитратные (привычный для растений источник азота) растворы (pH 6,7), содержащие одновременно катионы (табл. 1) двух металлов: Cd и ^{232}Th или K и ^{232}Th . Для изучения действия Cd и ^{232}Th выбраны низкие, харак-

терные для условий окружающей среды, концентрации [9, 10]. Содержание K, равное 13 мМ (0,51 г/л), соответствует используемому для приготовления раствора Кнопа [11].

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты изучения отдельного действия Cd и ^{232}Th на *A. cepa* представлены в предыдущей нашей публикации [7]. Поэтому перейдем сразу к рассмотрению цитогенетических эффектов, индуцируемых кадмием совместно с ^{232}Th .

Действие 0,009 мкМ кадмия с ^{232}Th (0,8 мкМ) на корневую меристему лука приводит к достоверному повышению частоты aberrантных ана-телофаз (за счет клеток с одиночными фрагментами и отставшими хромосомами, рис. 1) не только в сравнении с контролем (табл. 1), но и по отношению к ожидаемому аддитивному эффекту (рис. 2). Значение митотического индекса (рис. 3) достоверно не отличается от контрольного, но происходит формирование профазно-метафазного блока (табл. 2) при аддитивном (рис. 2) увеличении доли К-митозов, что является [12] признаком слабого антимитотического эффекта.

Иная реакция клеток наблюдается в ответ на совместное действие ^{232}Th с более высокой (0,09 мкМ) концентрацией Cd: частота aberrантных ана-телофаз оказалась на уровне контрольной и достоверно ($p = 0,004$) ниже регистрируемой в варианте с 0,009 мкМ Cd (табл. 1) в основном за счет значительного ($p = 0,002$) уменьшения числа одиночных фрагментов (рис. 1). Совместный мутагенный эффект оценивается как аддитивный (рис. 2). Отсутствие в цитологических препаратах клеток с отставшими хромосомами (рис. 1) и антагонизм (рис. 2) в отношении индукции К-митозов свидетельствуют о снижении повреждающего действия ^{232}Th на нити веретена деления. Значение митотического индекса (рис. 3) не отличается достоверно от контрольного. Распределение делящихся клеток по фазам митоза отличается от регистрируемого в варианте совместного действия более низкой (0,009 мкМ) концентрации Cd с ^{232}Th . При этом достоверно уменьшается число профаз (табл. 2).

Кадмий в концентрации 5 мкМ совместно с ^{232}Th синергически увеличивают уровень мутагенного эффекта (рис. 2), главным образом,

за счет достоверного повышения частоты одиночных мостов (рис. 1). При этом усиливается и цитотоксическое действие металлов, что находит выражение в резком снижении митотического индекса (рис. 3).

Результаты дисперсионного анализа (табл. 3) показывают, что при совместном действии Cd и ²³²Th на корневую меристему лука токсический эффект определяется преимущественно кадмием. Влияние исследованной концентрации радионуклида на митотическую активность клеток недостоверно. Напротив, частота aberrантных клеток (табл. 3, рис. 4) связана в основном с действием ²³²Th. При этом чаще регистрируется синергическое усиление мутагенного эффекта, о чем свидетельствуют значения коэффициентов взаимодействия (рис. 2).

Известно [6, 13, 14], что в случае совместного действия факторы повреждения клеточных структур и изменения метаболических процессов, вызванные каждым из них в отдельности, могут не просто суммироваться, а многократно усиливаться или ослабляться в зависимости от природы первичных повреждений, интенсивности воздействия и внутренних тенденций развития биологической системы. Учитывая выводы процитированных исследований и известные механизмы действия Cd, можно объяснить синергизм в отношении

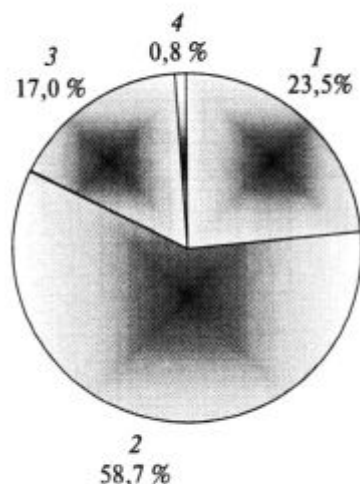


Рис. 4. Относительный вклад Cd (1), ²³²Th (2), их сочетанного эффекта (3) и случайных факторов (4) в индукцию aberrантных клеток корневой меристемы *Allium cepa* L.

мутагенного эффекта исследованных факторов. Так, Cd в микромолярных концентрациях снижает эффективность восстановления повреждений оснований и репарации одиночных разрывов ДНК за счет инактивации ферментов репарации [15, 16]. Высокие же концентрации Cd образуют [17] с ДНК аддукты, а также сшивки ДНК-ДНК и ДНК-белок, являющиеся физическим барьером для осуществления репарационных процессов. Способность Cd

Таблица 2

Доля клеток на стадиях про-, мета- и ана-телофазы при действии Cd либо K с ²³²Th в концентрации 0,8 мкМ на клетки корневой меристемы *Allium cepa* L.

Год исследования	Вариант (концентрация)	Доля клеток (%) на стадии					
		профазы		метафазы		ана-телофазы	
		$\bar{X} \pm S_x$	Инкремент	$\bar{X} \pm S_x$	Инкремент	$\bar{X} \pm S_x$	Инкремент
2003	Контроль 1	39,62 ± 2,72	—	22,26 ± 4,55	—	38,11 ± 3,35	—
2004	Контроль 2	47,91 ± 1,48	—	13,18 ± 1,43	—	38,91 ± 1,19	—
2004	²³² Th + Cd (0–009 мкМ)	60,04 ± 1,57***	12,12 ± 1,57	15,67 ± 1,28*	2,49 ± 1,28	24,29 ± 1,96***	-14,62 ± 1,96
2003	²³² Th + Cd (0,09 мкМ)	43,28 ± 2,55*	3,66 ± 2,55	16,87 ± 3,94	-5,40 ± 3,94	39,85 ± 1,92	1,74 ± 1,92
2003	²³² Th + Cd (5 мкМ)	54,02 ± 3,45***	14,40 ± 3,45	15,69 ± 3,12*	-6,58 ± 3,12	30,29 ± 2,90**	-7,82 ± 2,90
2004	K (0,008 мМ)	50,64 ± 0,69*	2,73 ± 0,69	11,96 ± 1,67	-1,22 ± 1,67	37,40 ± 1,49	-1,51 ± 1,49
2003	K (6 мМ)	52,97 ± 1,10***	13,35 ± 1,10	14,86 ± 2,30**	-7,40 ± 2,30	32,16 ± 1,38**	-5,95 ± 1,38
2003	K (13 мМ)	53,77 ± 0,93***	14,15 ± 0,93	14,66 ± 0,99**	-7,60 ± 0,99	31,56 ± 1,54**	-6,55 ± 1,54
2004	²³² Th + K (0,008 мМ)	51,21 ± 2,40*	3,30 ± 2,40	12,30 ± 0,89	-0,87 ± 0,89	36,49 ± 2,30	-2,42 ± 2,30
2003	²³² Th + K (6 мМ)	53,76 ± 2,23***	14,14 ± 2,23	14,24 ± 1,26**	-8,03 ± 1,26	32,00 ± 2,65**	-6,11 ± 2,65
2003	²³² Th + K (13 мМ)	50,45 ± 4,25*	10,82 ± 4,25	14,14 ± 3,07*	-8,13 ± 3,07	35,42 ± 1,56	-2,70 ± 1,56

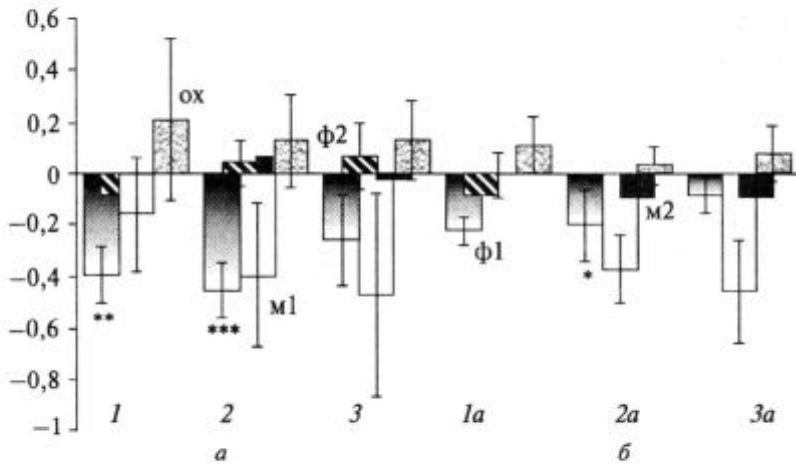


Рис. 5. Спектр цитогенетических повреждений клеток корневой меристемы *Allium cepa* L. при действии 0,8 мкМ ^{232}Th и К: а — раздельное действие К; б — сочетанное действие К и ^{232}Th ; по горизонтали — вариант воздействия калия раздельно (1 — 0,008 мМ, 2 — 6 мМ, 3 — 13 мМ) и совместно (1а, 2а, 3а) с ^{232}Th ; по вертикали — инкремент, % частоты одиночных (φ1) и двойных (φ2) фрагментов, одиночных (m1) и двойных (m2) мостов, отставших хромосом (ox)

Таблица 3

Результаты дисперсионного анализа совместного действия нитратов ^{232}Th и Cd на корневую меристему *Allium cepa* L.

Вариация	Степени свободы	Девяты	Дисперсии	F	p_f
Для частоты аберрантных клеток					
Cd	3	12,927	4,31	28,84	<0,001
^{232}Th	1	10,76	10,76	72,00	<0,001
Сочетанный эффект	2	6,23	3,12	20,86	<0,001
Остаточная	27	4,03	0,15		
Общая	33	33,95			
Для митотического индекса					
Cd	3	34,590	11,531	58,243	<0,001
^{232}Th	1	0,029	0,029	0,146	0,706
Сочетанный эффект	2	8,408	4,204	21,235	<0,001
Остаточная	27	5,345	0,198		
Общая	33	48,374			

Примечание. Здесь и в табл. 4 F — критическое значение критерия Фишера; p_f — уровень значимости для значения F.

тем или иным образом влиять на эффективность работы систем репарации может [15] приводить к увеличению выхода мутаций за счет части репарировавшихся в норме спонтанных и вызванных ^{232}Th повреждений молекулы ДНК.

В то же время есть экспериментальные подтверждения [9, 18, 19] того, что индуцированная кадмием в определенных концентрациях активация внутриклеточных защитных механизмов может привести к снижению эффекта действия

второго фактора. В частности, при поступлении Cd в цитозоль наблюдается [9, 20] повышение содержания эндогенных защитных веществ, которые (например, органические кислоты, тиолы) могут [21–23] связывать ионы ^{232}Th и подавлять развитие свободнорадикальных процессов, индуцируемых излучением радионуклида. Вероятно, подобный механизм реализуется в нашем случае при совместном действии Cd в концентрации 0,09 мкМ с ^{232}Th .

В целом, представленные результаты показывают, что синергический эффект в отношении индукции аберрантных клеток возникает в случае одновременного применения ^{232}Th как с низкой (0,009 мкМ), не являющейся остро токсичной, так и высокой (5 мкМ) концентрациями кадмия. И только при определенном содержании в растворе ^{232}Th и Cd (0,8 и 0,09 мкМ соответственно) и времени воздействия 30 ч наблюдается уменьшение до аддитивного уровня мутагенного эффекта и антагонизм в отношении цитотоксического.

С целью более полного изучения цитогенетических эффектов, которые могут наблюдаться при действии ^{232}Th с металлами, имеющими разные свойства, было исследовано совместное влияние этого радионуклида с калием на корневую меристему *A. cepa*. Калий принципиально отличается от кадмия физическими, химическими характеристиками и является жизненно важным для растений элементом. Кроме того, торийсодержащие интенсивные радиоактивные редкоземельные минерализации часто встречаются в калийсодержащих горных породах [10].

На первом этапе было изучено раздельное действие калия в трех концентрациях на клетки меристемы лука. Из полученных данных следует, что все исследованные концентрации металла достоверно снижают частоту aberrантных ана-телофаз (табл. 1) главным образом за счет уменьшения количества одиночных фрагментов и мостов (рис. 5). Митотический индекс (рис. 6) достоверно не отличается от контрольных значений. Однако следует обратить внимание на существенное увеличение доли профаз (табл. 2) во всех трех вариантах опыта, причем если в концентрации 0,008 мМ калий не изменяет относительное число мета- и ана-телофаз по сравнению с контролем, то при содержании 6 и 13 мМ — достоверно снижает.

Повышение доли клеток в профазе часто связывают [24] с увеличением ее продолжительности. Однако такой феномен является следствием задержки всего митотического цикла [25], а одновременное вступление большого числа клеток в профазу может быть вызвано [4] частичной синхронизацией в одной или нескольких стадиях интерфазы. Учитывая факт значительного снижения по отношению к контролю именно одиночных фрагментов и мостов, можно предположить, что задержка клеточного цикла осуществляется при переходе от G1 к S. Это увеличивает время на репарацию повреждений ДНК и приводит к снижению частоты aberrаций по сравнению с контролем. Замедление прохождения одной только профазы к такому эффекту привести не может. В свою очередь, частичная синхронизация в G2-периоде приводит к одновременному вступлению в профазу большого числа клеток. Это соответствует полученным ранее [4, 26] данным, свидетельствующим, что именно конец фазы G1 и фаза G2 являются наиболее чувствительными к внешним воздействиям.

Таким образом, калий в исследованных концентрациях увеличивает продолжительность митотического цикла, возможно, за счет задержки в G1/S и G2/M. Первая остановка клеточного цикла приводит к существенному снижению частоты клеток с одиночными фрагментами и мостами, вторая — к синхронному вступлению в митоз большого числа клеток и увеличению доли профаз.

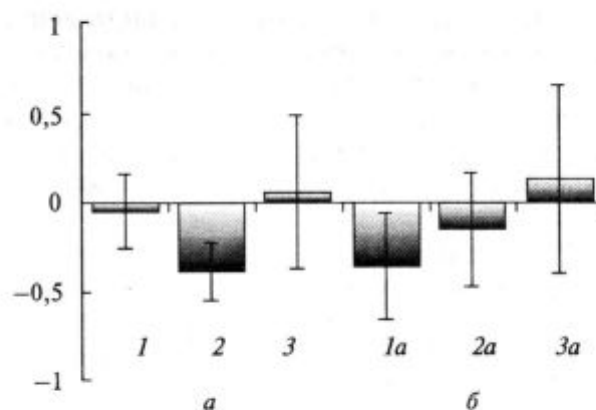


Рис. 6. Митотический индекс клеток корневой меристемы *Allium cepa* L. при действии 0,8 мкМ ^{232}Th и K: а — раздельное действие K; б — сочетанное действие K и ^{232}Th ; по горизонтали — вариант воздействия калия раздельно (1 — 0,008 мМ, 2 — 6 мМ, 3 — 13 мМ) и совместно (1а, 2а, 3а) с ^{232}Th ; по вертикали — инкремент значений митотического индекса, %

Таблица 4
Результаты дисперсионного анализа совместного действия нитратов ^{232}Th и K на корневую меристему *Allium cepa* L.

Вариация	Степени свободы	Девяты	Дисперсии	F	p_f
Для частоты aberrантных клеток					
K	3	2,156	0,717	10,728	<0,001
^{232}Th	1	0,009	0,009	0,136	0,715
Сочетанный эффект	2	0,175	0,088	1,312	0,287
Остаточная	26	1,738	0,067		
Общая	32	4,074			
Для митотического индекса					
K	3	2,560	0,853	7,364	<0,001
^{232}Th	1	$2,560 \cdot 10^{-5}$	$2,56 \cdot 10^{-5}$	0,0002	0,988
Сочетанный эффект	2	0,391	0,196	1,687	0,205
Остаточная	26	3,013	0,116		
Общая	32	5,965			

Перейдем к анализу результатов сочетанного действия K и ^{232}Th . Калий в концентрации 0,008 мМ совместно с ^{232}Th (0,8 мкМ) не увеличивают достоверно частоту aberrантных ана-телофаз (табл. 1) по сравнению с контролем. Тем не менее частота одиночных фрагментов оказывается достоверно ($p = 0,024$) выше, чем при действии одного калия, хотя не

отличается ($p = 0,068$) от регистрируемой в контрольном варианте. Доля К-митозов (табл. 1) превосходит контрольное значение. Это означает, что калий в исследуемой концентрации хотя и снижает, но полностью не предотвращает влияние радионуклида на метаболизм клеток.

Аналогичная реакция меристем наблюдается при более высоком (6 мМ) содержании К в растворе на фоне неизменной концентрации радионуклида. Значения митотического индекса (рис. 6), частоты аберрантных клеток (табл. 1) и отдельных типов повреждений (рис. 5), включая К-митозы (табл. 1), достоверно не отличаются ($p > 0,05$) от регистрируемых при влиянии одного калия. Исключение составляет уровень индуцируемых одиночных фрагментов, который, как и в предыдущем варианте, оказался достоверно ($p = 0,013$) выше, чем при действии одного калия, но значительно (рис. 5) ниже, чем в контроле.

Рассматривая результаты совместного действия на корневые меристемы лука 13 мМ калия с ^{232}Th , следует обратить внимание на сходные с раздельным действием указанной концентрации калия частоты всех типов аберраций, митотический индекс и распределение делящихся клеток по фазам митоза. Вполне возможно, это свидетельствует о том, что калий в данном случае предотвращает поступление ^{232}Th в цитозоль. Действительно, калий является потенциалопределяющим ионом [26], а поверхностный заряд плазматической мембраны существенно влияет на транспорт в клетку молекул, особенно с большим зарядом [27]. Поэтому перенос через мембраны ^{232}Th как многозарядного иона (Th^{4+}) или гидроксокомплекса ($\text{Th}[(\text{OH})_3\text{Th}]_n^{(n+4)+}$) в значительной мере должен регулироваться трансмембранным электрическим потенциалом.

Предположение о том, что именно калий при совместном действии с радионуклидом влияет на выход аберрантных клеток и уровень цитотоксического эффекта, подтверждают данные дисперсионного анализа (табл. 4). В связи с тем, что совместное действие К и ^{232}Th оказалось незначимым, теряет смысл расчет коэффициентов взаимодействия.

Таким образом, калий при всех изученных концентрациях уменьшает влияние радионук-

лида на внутриклеточные процессы. Учитывая известные биохимические и физические свойства К [27–30] и ^{232}Th [21, 22], а также полученные нами данные о цитогенетических эффектах К, считаем, что предполагаемые защитные механизмы могут включать нормализацию энергетически зависимых процессов в клетке, включая синтез ДНК, а также увеличение времени на репарацию ДНК вследствие задержки калием клеточного цикла в G1/S и G2/M. Нельзя исключить, что в присутствии определенных концентраций калия существенно снижается поступление ^{232}Th в клетки растений.

Следует обратить внимание и на то, что ни одна из исследованных концентраций калия не вызвала синергического усиления ответной реакции клеток на совместное воздействие этого макроэлемента с радионуклидом, тогда как при низком (0,009 мкМ) и высоком (5 мкМ) содержании Cd в растворе с ^{232}Th наблюдали сверхаддитивный мутагенный эффект.

Полученные в ходе настоящего исследования результаты свидетельствуют о том, что уровень мутагенных и цитотоксических эффектов, индуцируемых при совместном действии ТЕРН с металлами, может отличаться от ожидаемого аддитивного, как это было показано [31, 32] для случая совместного действия металлов и имеющих техногенное происхождение радионуклидов. В отличие от тяжелых металлов, жизненно важные для растений макроэлементы способны снижать влияние радионуклидов в результате предотвращения поступления последних в клетки и нормализации метаболических процессов.

Выводы. Совместное действие ^{232}Th с нетоксичной (0,009 мкМ) и токсичной (5 мкМ) концентрациями Cd приводит к синергическому увеличению частоты аберрантных клеток в корневой меристеме *Allium cepa* L. Только при определенных концентрациях ^{232}Th и Cd (0,8 и 0,09 мкМ соответственно) и времени воздействия 30 ч наблюдается уменьшение до аддитивного уровня мутагенного эффекта и антагонизм в отношении цитотоксического. В отличие от тяжелого металла кадмия, жизненно важный для растений макроэлемент калий во всех изученных концентрациях (0,008, 6, 13 мМ) снижает число регистрируемых в кон-

троле и индуцируемых ^{232}Th цитогенетических повреждений. Максимальный защитный эффект K наблюдался при концентрации 13 мМ.

SUMMARY. The influence of different concentrations of cadmium and potassium on the levels of mutagenic and cytotoxic effects induced by thallium-232 in *Allium cepa* root meristem has been studied. The combined action of ^{232}Th (0.8 μM) with cadmium in non-toxic (0.009 μM) and toxic (5 μM) concentrations resulted in sinergetic increase of the frequency of aberrant cells in *Allium cepa* root meristem. Decrease of the mutagenic effect to the additive level and antagonism with respect to the cytotoxic one was observed only at the certain concentrations of ^{232}Th (0.8 μM) and Cd (0.09 μM) and the time of impact 30 h. In contrast to the heavy metal cadmium the essential for plants potassium at all studied concentrations (0.008, 6, 13 мМ) decreased the number of cytogenetic aberrations in control experiments and under the effect of ^{232}Th . The maximum protective effect of potassium was detected at the concentration 13 мМ.

РЕЗЮМЕ. Досліджено вплив різних концентрацій Cd та K на рівень мутагенного та цитотоксичного ефектів, що індукуються ^{232}Th в кореневій меристемі *Allium cepa* L. Спільна дія ^{232}Th (0,8 мкМ) з нетоксичною (0,009 мкМ) та токсичною (5 мкМ) концентраціями Cd призводить до синергічного збільшення частоти абераційних клітин в кореневій меристемі *A. cepa*. Тільки при певних концентраціях ^{232}Th і Cd (0,8 та 0,9 мкМ відповідно) і часі дії 30 год спостерігали зменшення до адитивного рівня мутагенного ефекту та антагонізм відносно цитотоксичного. На відміну від важкого металу кадмію життєво важливий для рослин мікроелемент калій в усіх досліджених концентраціях (0,008, 6, 13 мМ) знижує число цитогенетичних пошкоджень, що зареєстровані у контролі та індуковані ^{232}Th . Максимальний захисний ефект калію спостерігали при концентрації 13 мМ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Алексахин Р.М., Книжников В.А., Таскаев А.И.* Естественный радиационный фон: проблемы миграции радионуклидов и биологического действия // Радиобиология. — 1986. — **26**, вып. 3. — С. 292—301.
2. *Real A., Sundell-Bergman S., Knowles J.F., Woodhead D.S., Zinger I.* // J. Radiol. Prot. — 2004. — **24**. — P. A123—A137.
3. <http://www.ERICA-project.org>.
4. *Гудков И.Н., Гродзинский Д.М.* Роль асинхронности клеточных делений и гетерогенности меристемы в радиостойкости растений // Механизмы радиостойкости растений. — Киев : Наук. думка, 1976. — С. 110—137.
5. *Evseeva T.I., Geraskin 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. Environ. Radioactivity. — 2005. — **80**. — P. 59—74.
6. *Дубинин Н.П.* Потенциальные изменения ДНК и мутации. Молекулярная цитогенетика. — М.: Наука, 1978. — 242 с.
7. *Евсеева Т.И., Майстренко Т.А., Гераськин С.А., Белых Е.С., Казакова Е.В.* Токсические и цитогенетические эффекты, индуцируемые у *Allium cepa* низкими концентрациями Cd и ^{232}Th // Цитология и генетика. — 2005. — **39**, № 5. — С. 73—80.
8. *Паушева З.П.* Практикум по цитологии растений. — М.: Колос, 1980. — 303 с.
9. *Sanita' di Toppi L., Gabbrielli R.* Response to cadmium in higher plants // Environ. Exp. Bot. — 1999. — **41**. — P. 105—130.
10. *Татаева Н., Таскаев А.И.* Миграция тяжелых естественных радионуклидов в условиях гумидной зоны. — Л.: Наука, 1983. — 232 с.
11. *Генкель П.А.* Физиология растений. — М.: Просвещение, 1975. — 335 с.
12. *Довгалоюк А.И., Калиняк Т.Б., Блюм Я.Б.* Цитогенетические эффекты солей токсичных металлов на клетки апикальной меристемы проростков *Allium cepa* L. // Цитология и генетика. — 2001. — **35**, № 2. — С. 3—10.
13. *Петин В.Г., Жураковская Г.П., Пантюхина А.Г., Рассохина А.В.* Малые дозы и проблемы синергического взаимодействия факторов окружающей среды // Радиационная биология. Радиозэкология. — 1999. — **39**, № 1. — С. 113—126.
14. *Евсеева Т.И., Гераськин С.А.* Сочетанное действие факторов радиационной и нерадиационной природы на традесканцию. — Екатеринбург : УрО РАН, 2001. — 156 с.
15. *Dally H., Hartwig A.* Induction and repair inhibition of oxidative DNA damage by nickel(II) and cadmium(II) in mammalian cells // Carcinogenesis. — 1997. — **18**. — P. 1021—1026.
16. *Asmuss M., Mullenders L.H., Eker A., Hartwig A.* Differential effects of toxic metal compounds on the activities of Fpg and XPA, two zinc finger proteins involved in DNA repair // Carcinogenesis. — 2000. — **21**. — P. 2097—2104.
17. *Jacobson K.B., Turner J.I.* The interaction of cadmium and certain other metal ions with proteins and nucleic acids // Toxicology. — 1980. — **16**. — P. 1—37.
18. *Котеров А.Н., Сазыкин А.Ю., Филиппович И.В.* Связь между содержанием металлотioneинов в костном мозге, печени и выживаемостью облученных мышей после введения хлористого кадмия // Радиобиология. — 1993. — **33**, вып. 1. — С. 122—127.

19. Vogeli-Lange R., Wagner G.J. Relationship between cadmium, glutathione and cadmium-binding peptides (phytochelatins) in leaves of intact tobacco seedlings // *Plant Sci.* — 1996. — **114**. — P. 11–18.
20. Дубинина Ю.Ю., Дульцева Г.Г., Палесский С.В., Скубневская Г.И. Изучение химической природы защитной реакции растений на избыточное содержание кадмия в почве // *Экол. химия.* — 2003. — **12**, № 1. — С. 41–46.
21. Левина Э.Н. Общая токсикология металлов. — Л.: Медицина, 1972. — 184 с.
22. Журавлев В.Ф. Токсикология радиоактивных веществ. — М.: Энергоатомиздат, 1990. — 336 с.
23. Кудряшов Ю.Б., Гончаренко Е.И. Современные проблемы противолучевой химической защиты организмов // *Радиационная биология. Радиоэкология.* — 1999. — **39**, № 2/3. — С. 197–211.
24. 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**, № 1. — С. 3–9.
25. Иванов В.Б. Клеточные основы роста растений. — М.: Наука, 1974. — 223 с.
26. Казнадзей В.В. О радиочувствительности клеток в различных фазах митотического цикла в проростках *Crepis capillaries* L. // *Генетика.* — 1974. — **10**, № 1. — С. 42–51.
27. Поливода Б.И., Конев В.В., Попов Г.А. Биофизические аспекты радиационного поражения биомембран. — М.: Энергоатомиздат, 1990. — 160 с.
28. Zhang Q., Smith F.A., Secimoto H., Reid R.J. Effects of membrane surface charge on nickel uptake by purified mung bean root // *Planta.* — 2001. — **213**, № 5. — P. 788–793.
29. Мецлер Д. Биохимия. — М.: Мир, 1980. — Т. 1. — 407 с.
30. Спитковский Д.М., Ермаков А.В., Горин А.И., Поспехова Н.П., Прохоров А.Ю. Зависимость репарации ДНК, индуцированной генетически опасными воздействиями, от ионной силы среды, в которой находятся клетки // *Цитология.* — 1992. — **37**, № 7. — С. 76–85.
31. Гудков И.Н., Кицно В.Е., Грисюк С.Н., Ткаченко Г.М., Иванова Е.А., Саенко К.В., Гуральчук Ж.З. Противолучевая защита растений с помощью солей металлов в условиях радиоактивного загрязнения территории // *Радиационная биология. Радиоэкология.* — 1999. — **39**, № 2/3. — С. 349–353.
32. Marciulioniene D., Montvydiene D., Kiponas D., Luksiene V., Butkus D. Toxicity to *Tradescantia* of technogenic radionuclides and their mixture with heavy metals // *Environ. Toxicol.* — 2004. — **19**. — P. 346–350.

Поступила 14.02.05