

## Цитогенетические последствия хронического облучения у длительно хранившихся семян сосны обыкновенной

И. И. КОНЦЕВАЯ

Наибольшему радиоактивному загрязнению в результате аварии на ЧАЭС подверглись лесные фитоценозы, которые играли роль природных фильтров на пути ветровых потоков с радиоактивными аэрозолями. В то же время на лугах и пашне плотность загрязнения почв радионуклидами, как правило, в 3-5 раз меньше. Особенно загрязнены хвойные леса [1].

Степень радиочувствительности семян разных видов древесных растений неодинакова: у хвойных она в 5-10 раз больше, чем у лиственных. Такая неодинаковая радиочувствительность в значительной степени связана с внутриклеточными цитологическими различиями семян, обусловленными количеством и размерами хромосом. У семян лиственных пород они в среднем в 10 раз мельче, чем у хвойных. Следовательно, уязвимость последних при одном и том же радиационном режиме возрастает в соответствии с объемом хромосом, поскольку увеличивается вероятность облучения хромосомного аппарата ядра, что приводит к нарушению управления обменом веществ и формообразовательными процессами [1].

Радиоактивное загрязнение природных экосистем Республики Беларусь и ряда районов России и Украины, которое в связи с его высокой интенсивностью можно классифицировать как антропогенный экологический фактор, способно вызывать микроэволюционные структурные изменения кариотипов. В связи с этим важное значение приобретает выявление, оценка и прогнозирование генетической опасности хронического воздействия ионизирующей радиации. С этой целью широко используются цитогенетические исследования, основанные на анализе отклонений в процессе митоза или мейоза. Как достаточно информативный и простой тест, хорошо зарекомендовал себя анализ aberrаций хромосом в митозе.

Тест «хромосомные aberrации» обладает высокой разрешающей способностью, так как в данном случае в анализ вовлекается практически весь геном. Расчеты, выполненные на основании изучения последствий облучения у мышей, показали, что вероятность обнаружения aberrаций хромосом в  $10^3 - 10^4$  раз выше, чем вероятность выявления мутации отдельного локуса, поскольку для выявления aberrации хромосом достаточно одного разрыва любой из них, т.е. мишенью в данном случае является весь геном, тогда как для индукции мутации отдельного локуса требуется поражение весьма незначительной части генома [2]. Учет aberrаций хромосом можно проводить в стадии метафазы (метафазный метод) или в стадии поздней анафазы и ранней телофазы (анафазный или ана-телофазный методы).

В работе Дмитриевой С.А. [1] представлены основные подходы, которыми целесообразно руководствоваться при выборе тест-объектов для проведения цитогенетического мониторинга. По всем своим критериям хвойные породы являются поистине уникальной моделью для изучения мутационных процессов, идущих на загрязненных территориях из-за аварии на ЧАЭС, а также в результате иных антропогенных воздействий (автомобильные дороги, отдельные предприятия химической и металлургической промышленности и т. д.) [3, 4]. Также следует отметить, что сосна обыкновенная и ель европейская столь же чувствительны к ионизирующему излучению, как различные виды млекопитающих, включая человека [5].

Целью данной работы явилось изучение влияния радиационного загрязнения на характер и частоту хромосомных нарушений в делящихся меристематических клетках проростков семян сосны обыкновенной, длительно хранившихся при низких положительных температурах.

## Материалы и методы

В качестве опытного материала послужили семена сосны обыкновенной, собранные в 30-км зоне ЧАЭС в 1993 году и подвергшиеся различным дозам облучения. Для контроля были выбраны семена сосны, произрастающей в экологически чистой зоне. Все семена хранились в холодильной камере при низкой положительной температуре более 10 лет.

В своих исследованиях цитогенетический анализ осуществляли на давленных временных препаратах метафазным и ана-телофазным методами. Семена проращивали в чашках Петри по ГОСТу 13056.6.-75. Фиксацию материала проводили по мере достижения корешков длины 3-12 мм. Корешки фиксировали смесью спирта и уксусной кислоты (3:1) и хранили в 70<sup>0</sup> спирте в холодильнике. Гидролиз выполняли в 1 н HCl при температуре 60<sup>0</sup> С в течение 10 минут, а затем материал переносили в краситель, в качестве которого использовали реактив Шиффа.

Число аберрантных клеток и степень их поражения определяли отдельно для каждого корешка. Учитывали: частоту хромосомных нарушений, число aberrаций на одну исследованную клетку, число aberrаций на aberrантную клетку. Наряду с aberrациями хромосом (мостами и фрагментами), учитывали прочие цитогенетические нарушения, не связанные с повреждениями хромосом: отставание хромосом при расхождении к полюсам делящихся клеток, их слипание и выброс за пределы веретена деления, а также полиплоидию и асимметричное расположение веретена деления. Препараты анализировали на микроскопе Leica Gallen III при увеличении 40 x 10, 100 x 10. Систематизацию и анализ полученных данных выполняли с использованием методов математической статистики.

## Результаты и обсуждение

При проращивании семян из опытной партии отмечали низкую активность прорастания и очень низкий процент всхожести (1-10%). Кроме того, в ряде вариантов было выявлено наличие деформированных проростков. В контрольном варианте всхожесть семян констатировали в пределах 20-50%.

Данные цитологического анализа о частоте хромосомных нарушений представлены в таблице. Общее количество клеток с нарушениями деления в опытных образцах колебалось от 0,046 до 0,075 и существенно превышало значения в контроле, равное 0,009. Отмечено, что при мощности экспозиционной дозы 200 мкР/час частота aberrантных клеток возрастала по сравнению с контролем в 5 раз. Выявлено, что максимальное количество aberrантных клеток достигало в опытном варианте, когда мощность дозы облучения равнялась 820 мкР/час и значение этого показателя уменьшалось при увеличении дозы до 1100-1200 мкР/час. Такие результаты, по-нашему мнению, можно частично объяснить тем, что отбор против летальных мутаций действует, во-первых, на самых ранних стадиях гаметогенеза, во-вторых, в процессе длительного хранения, и поэтому проросшие единичные семена могли являться образцом радиостойчивости проростков.

По литературным данным, в динамике мутационных процессов при хроническом облучении различных организмов можно выделить ряд последовательных этапов: нарастание уровня мутаций, имеющее место в начале эксперимента, стабилизация уровня мутационных событий, перестройка структуры популяций и их стабилизация в новых условиях [6]. Большое значение при прогнозировании генетических последствий облучения имеет тот факт, что при продолжительном воздействии излучения в популяциях происходит усиление радиорезистентности, получившее название радиоадаптации. Иначе говоря, радиация одновременно выступает и как повреждающий, и как адаптационный фактор. Причины радиоадаптации до конца не ясны.

Наиболее часто встречающиеся нарушения в тестируемом материале – это мосты (как одиночные, так и двойные), выбросы хромосом за веретено деления (это могла быть либо единичная хромосома, либо группа хромосом), забегание, отставание хромосом.

Таблица. Частота хромосомных нарушений в митотических клетках сосны обыкновенной в зависимости от мощности дозы

Вариант	Мощность дозы, мкР/час	Количество изученных клеток	Количество aberrантных клеток	
			число	частота
опыт	200	2597	120	0,046
опыт	820	1060	80	0,075
опыт	1100	1317	87	0,066
опыт	1200	829	50	0,060
контроль	10	5070	50	0,009

Частота хромосомных нарушений значительно варьировала по проросткам. Так, при мощности дозы в 1100 мкР/час, процент хромосомных нарушений колебался от 1,61 до 27,69, а при мощности дозы в 1200 мкР/час возрастал от 6,25 до 38,46. В то же время при снижении мощности дозы до 200 и 820 мкР/час у всех изученных корешков процент хромосомных повреждений в митозе не превышал порога повреждения – 10%. Такой коридор хромосомных нарушений (5-10% клеток с aberrациями) был установлен для различных организмов некоторыми исследователями [7, 8].

Представленные результаты свидетельствуют о неоднозначном влиянии облучения при мощностях дозы от 200 до 1200 мкР/час на отдельные семена сосны обыкновенной.

Если проанализировать эффект действия длительного периода хранения на морфологические и цитогенетические характеристики семян, то следует отметить несомненное существенное изменение изученных параметров. Прежде всего, на это указывает снижение всхожести семян, до 20-50% в контроле и до 1-10% в опытных вариантах. При использовании в качестве контроля семенного материала текущего года сбора, отмечали всхожесть семян не менее 70-90%. И у таких семян частота хромосомных нарушений варьировала в пределах 2-5%, что считается в пределах нормы при оценке патологий митоза для различных организмов, как мы уже упоминали ранее.

В целом же, следует отметить, что среднее значение показателя «частота хромосомных нарушений», свидетельствующее об общем состоянии каждой выборки в опытных вариантах, существенно превышала контрольное значение, однако, независимо от мощности экспозиционной дозы облучения, всегда находилась в пределах нормы [7, 8].

### Заключение

На основании выполненных исследований было установлено следующее:

– Длительное хранение (более 10 лет) семян сосны обыкновенной вызвало существенное снижение их жизнеспособности, особенно в случае тестирования облученных семян. Несмотря на различные дозы облучения, для каждой опытной выборки проросших семян характерно, что средняя частота хромосомных нарушений у них варьировала в пределах нормы.

– Облучение деревьев сосны обыкновенной мощностью экспозиционной дозы 200-1200 мкР/час существенно увеличивала частоту хромосомных нарушений в митотических клетках проростков по сравнению с контролем (соответственно, 0,046-0,075 и 0,009).

– Частота хромосомных нарушений значительно варьировала по проросткам. При мощности дозы облучения в 1100-1200 мкР/час выявлены проростки, у которых частота хромосомных нарушений превышала 20%, что свидетельствует о критическом состоянии организма.

Полученные результаты указывают на необходимость дальнейших исследований по определению возможности использования для лесовосстановления семян сосны обыкновенной, длительно хранившихся в холодильных камерах селекционных центров республики.

**Abstract.** The paper studies the influence of radiation contamination on the character and number of chromosome aberrations in meristematic cells of seed of the Scotch pine that were protractedly

kept in low positive temperatures. It is revealed that protracted keeping (more than 10 years) of the seed of the Scotch pine considerably decreases their viability.

### Литература

1. Дмитриева С.А., Парфенов В.И. Биологические эффекты воздействия ионизирующей радиации на растения // Радиоактивное загрязнение растительности Беларуси / Под ред. Парфенова В.И., Якушева Б.И. – Минск, 1995. – С. 275-337.
2. Дубинин Н.П. Изучение эффекта искусственного мутагенеза // Мутагенез при действии физических факторов. – М., 1980. – С. 3-44.
3. Абатурова М.П. Генетические последствия загрязнения окружающей среды в популяциях хвойных // Лесная генетика, селекция и физиология древесных растений: Мат. междунар. симп. (Воронеж, 1989). – М., 1989. – С. 103-104.
4. Druskovic V. A comparison of cytogenetically and visually observed damage to the Norway spruce [ *Picea abies* (L.) Karst.] In Slovenia // Mutat. Res. Rev. Genet. Toxicol. – 1992. – Vol. 271. – N 2. – P. 147.
5. Криволицкий Д.А. Влияние ионизирующей радиации в популяциях растений // Действие ионизирующей радиации на биогеоценоз. – М., 1988. – 239 с.
6. Кальченко В.А., Спиринов Д.А. Генетические эффекты в популяциях сосны обыкновенной, произрастающей в условиях хронического облучения // Генетика. – 1989. – Т. 25. – № 6. – С. 1059-1064.
7. Буторина А.К. Цитогенетическая изменчивость в популяциях сосны обыкновенной // Экология. – 2001. – № 3. – С. 216-220.
8. Корогодина В.И., Корогодина В.Л. Нарушения хромосом и радиостимуляция растений // Научн. конф. «Хромосомы и радиация», посвящ. памяти проф. Н.В. Лучника // Радиационная Биология. Радиоэкология. – 1996. – Т. 36.-№ 6. – С. 883-887.

Гомельский государственный  
университет им. Ф. Скорины

Поступило 10.05.09