

УДК 575 + 582.547

ГЕНЕТИКА

В. Б. КАСИНОВ, Г. В. КАСИНОВА

**СОХРАНЕНИЕ ВЫЗВАННЫХ ОБЛУЧЕНИЕМ ДЕФОРМАЦИЙ
В ВЕГЕТАТИВНОМ ПОТОМСТВЕ РЯСКИ *LEMNA GIBBA***

(Представлено академиком Б. Л. Астауровым 12 IX 1970)

Воздействие ионизирующей радиацией на меристемы растений в умеренных дозах резко повышает частоту морфозов, т. е. локальных нарушений развития, выражающихся в бифуркации ветвей, раздвоении черешков и жилок, деформациях листьев, гетеротопиях, фасциациях и т. д. (1-3). Морфозы обычно рассматривают как результат отмирания какой-либо клетки или группы клеток, расположенной в «критическом месте» меристемы, что приводит к кратковременному «изменению полярности» клеточных делений в этом месте (4). Если полагать, что локальность или невоспроизводимость является существенным признаком морфозов, то следует проводить различие между морфозами и нарушениями иного типа, которые, возникая в какой-либо части живой системы, проявляются затем в других родственных новообразующихся частях или новообразующихся особях, последовательно закладываяющихся одна возле другой. Так, результат «изменения полярности» может воспроизводиться в серии последовательно возникающих метамеров или ярусов растения и приводить к стойкому нарушению филлотаксиса (5). Другим примером нелокализованного или воспроизводимого морфоза служат радиоиндуцированные инверсии у ряски, т. е. взаимопревращения особей левой (л.) и правой (п.) антиправных конфигураций (6-9). В л. и п. клонах ряски все особи способны передать свою конфигурацию всем вегетативным потомкам с одинаковой и очень высокой вероятностью (10). Такие клоны можно назвать **моморфными**, т. е. состоящими, практически нацело, из особей одного специфического фенотипа. В настоящем сообщении описан еще один пример воспроизводимого морфоза, отличающийся полиморфностью возникающих клонов, которые включают особей нескольких специфических фенотипов, способных порождать друг друга бесполом путем.

Исходным материалом послужили 20 колоний, взятых из моморфных л. и п. клонов постоянно цветущей ряски *Lemna gibba* 67. Колонии были однократно облучены рентгеновыми лучами на установке РУМ-11 в дозе 800 г при мощности дозы 100 г/мин. Колонии культивировали на твердой минеральной среде (11) в световой камере с режимом 16 (свет) : 8 (темнота). Методика учета радиационных нарушений описана в (12, 13). В вегетативном потомстве облученных колоний наблюдали отсутствие некоторых особей, первичные нарушения конфигурации, инверсии, локальные деформации, уменьшение размеров особей и временное подавление цветения. Кроме того, было отмечено появление деформированных особей темно-зеленого цвета, в вегетативном потомстве которых, в отличие от особей с деформациями, происходящими по типу локализованных морфозов, не наблюдалось быстрого и полного возвращения к нормальному фенотипу. Частота их возникновения составила в среднем 1,3 на каждую облученную колонию. От части таких особей были получены клоны, называемые далее М-клонами. Ряд М-клонов в дальнейшем был

исключен, ввиду низкой скорости размножения, и для исследования были оставлены М-клоны №№ 1, 2, 8, 11 и 13.

Нарушения строения особей в М-клонах проявляются по-разному, но число вариантов измененного строения невелико. Можно выделить следующие типичные варианты, встречающиеся во всех исследованных М-клонах.

1. Деформированные (д.) особи (рис. 1 б). В отличие от особей нормального строения (н.) (рис. 1 а), они характеризуются укорочением проксимальной части щитка и его утолщением, более темной окраской, наличием складок, углублений или выпячиваний, уменьшением площади контура щитка и подавлением цветения. Всей совокупностью отмеченных



Рис. 1. Внешний вид нормальной особи л. конфигурации (а), деформированной (б), воронковидной (в), черпаковидной (г) особей и особи с трещинами (д) из полиморфных клонов ряски *L. gibba*. п — плеть, ц — цветок, к — корень

признаков д. особей обладает не всегда. Чтобы отличить ее от других форм с нарушенным строением, нужно помнить, что у д. особей, как и у н. особей, устьичный (верхний) эпидермис всегда имеется и полностью покрывает устьичную сторону щитка, а на боковых сторонах щитка отсутствуют трещины.

2. Воронковидные (в.) особи (рис. 1 в). Их специфическим признаком является отсутствие устьичного эпидермиса в проксимальной части щитка, где в норме он вместе с подлежащей паренхимой образует верхние стенки левого и правого кармашков. У в. особей кармашки соединяются, и образуется один кармашек, открывающийся на устьичную сторону, а не латерально, как в норме.

3. Черпаковидные (ч.) особи (рис. 1 г). Они полностью лишены устьичного эпидермиса, и каждая особь представляет собой как бы один-единственный кармашек, стенки которого построены из губчатой паренхимы и покрыты эпидермисом без устьиц, в норме покрывающим нижнюю сторону щитка. Ч. особь имеет корень, плеть, продуцирует дочерние особи и может цвести.

4. Особи с трещинами (т.) (рис. 1 д). Редко встречающиеся особи, имеющие на левой, правой или обеих сторонах трещины в количестве 1 или 2. В остальном сходны с н. или д. особями. В дальнейшем условимся для краткости объединять все 4 варианта особей уклоняющегося строения под названием «монстрозных» и обозначать их м.

Доля м. особей в М-клонах колеблется между 10 и 60% и при умеренном отборе не обнаруживает тенденции ни к постоянному повышению, ни к постоянному сближению, как видно на рис. 2. Число вегетативных поколений, полученных в М-клонах со времени их выделения, к концу июня 1970 г. превысило 40. Отсутствие тенденции к снижению доли м. особей на протяжении такого числа поколений позволяет утверждать, что способность продуцировать монстрозные особи, по-видимому, является необратимым (немодификационным) отличием рассматриваемых клонов от мноморфных клонов *L. gibba*.

Ближайшие вегетативные потомки каждой из особей н., д., в., ч. могут иметь любой из этих фенотипов, хотя вероятность проявления того или иного фенотипа у потомка определенным образом зависит от фенотипа

предка. Отбор в М-клонах малоэффективен, как показывает следующий опыт. Из М-клона № 1 было отобрано 16 н. особей и 27 м. особей, из них 12 д., 10 в. и 5 ч. Через 2 недели в 11 из 16 н. субклонов было отмечено наличие м. особей, и только в остальных 5 их не было. Всего из 324 особей, полученных в 16 н. субклонах, фенотип н. имели 274, д. 17, в. 30 и ч. 3 особи. В то же время из 27 м. субклонов появление н. особей было отмечено в 14, а в остальных все потомство было монстрозным. Не было ни одного м. субклона, в котором все потомки имели бы фенотип н. Всего из 322 особей, полученных в м. субклонах, фенотип н. имели 83, д. 141, в. 59 и ч. 39 особей.

Полиморфизм в М-клонах ряски весьма напоминает полиморфизм в клонах планарии *Dugesia tigrina* (14), выгодно отличаясь от последнего

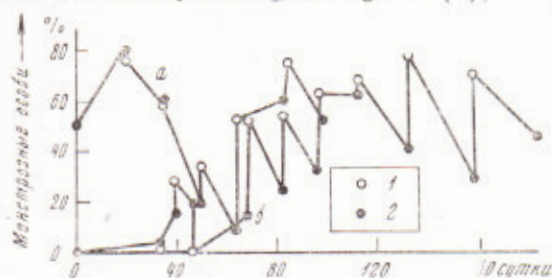


Рис. 2. Изменения доли монстрозных особей в М-клонах № 2 (а) и № 13 (б) в процессе культивирования. 1 — доля монстрозных особей в выборке, оставляемой для дальнейшего размножения при очередном пассаже. 2 — доля монстрозных особей, возникших в популяции к моменту следующего пассажа

малостью числа различных фенотипических вариантов. Кроме того, сохранение способности к плодоношению в М-клонах позволяет провести гибридологический анализ, который затруднителен у *D. tigrina*. Плодовитость всех исследованных М-клонов, за исключением клона № 11, оказалась столь же высокой, как и в мономорфных клонах *L. gibba*. В М-клоне № 11 цветение продолжается, но семена не завязываются. Всхожесть семян, полученных при самоопылении как монстрозных, так и нормальных особей М-клонов оказалась такой же, как и в мономорфных клонах. Из 70 проросших семян F_1 , полученных в результате самоопыления как нормальных, так и монстрозных особей М-клонов, были выращены клоны F_1 , в которых определяли частоту возникновения м. особей. Общее число осмотренных особей в клонах F_1 к настоящему времени превысило 60 000. Из них только 6 особей имели д. фенотип и 1 в. фенотип; строение остальных оказалось нормальным. Монстрозные особи возникли в 3 клонах F_1 , выращенных из семян от н. особей, и не непосредственно после прорастания, а через ряд вегетативных поколений. При их субклоновании наблюдалась полная нормализация. Описанное появление единичных монстрозных особей в клонах F_1 мы рассматриваем как спонтанное изменение, не связанное причинно с полиморфным характером исходных клонов F_0 . Таким образом, способность продуцировать монстрозные особи сохраняется при бесполом размножении, но не передается половому потомству *L. gibba*.

Переходя к обсуждению полученных данных, можно предположить, что облучение исходных особей, взятых из мономорфных клонов, вызвало в их меристематических клетках такие хромосомные перестройки, которые не нарушают жизнеспособности продуктов митоза, но при мейозе приводят к появлению дефектных гамет, неспособных к оплодотворению (гипотезу предложил К. В. Квитко в личной беседе). Эта гипотеза отчасти подтверждается бесплодием клона № 11, но находится в противоречии с фактом нормальной плодовитости остальных М-клонов. Противоречие можно устранить, введя дополнительные, более или менее произвольные предположения, например, о существовании у ряски генетически обособленных линий генеративных и соматических клеток и о локализации хромосомных aberrаций только в соматических клетках. С другой стороны, бесплодие клона № 11 можно истолковать как независимо возникшую

мутацию, не являющуюся непременно причиной полиморфизма. Однако гипотеза о хромосомных нарушениях как причине полиморфности М-клонов представляется нам недостаточной по следующим соображениям. Во-первых, высокая частота возникновения М-клонов, сходных по характеру полиморфизма, противоречит предположению, что в этом случае мы имеем дело с одной и той же мутацией, возникшей в соматических клетках. Во-вторых, эта гипотеза сама по себе не объясняет факт избирательной локализации в. особей на четной стороне материнского щитка. Четными называются особи, вырастающие из правого кармашка материнского щитка л. конфигурации и из левого кармашка щитка п. конфигурации. Число четных особей в популяции вдвое меньше числа нечетных. Если бы проявление в. фенотипа не зависело от положения зачатка особи, то нечетные в. особи, как и нормальные щитки, возникали бы вдвое чаще, чем четные. В действительности же среди в. особей, положения которых были определены, оказалось 118 четных и только 15 нечетных. Наконец, в-третьих, в М-клонах наблюдается резкое повышение частоты спонтанных инверсий. В среднем по всем М-клонам частота спонтанных инверсий составила $1,3 \cdot 10^{-2}$, что почти в 30 раз превышает частоту спонтанных инверсий в мономорфных клонах *L. gibba*, равную $4,0 \cdot 10^{-4}$ (10). Поддержание конфигурации в М-клонах осуществляется менее эффективно, и, следовательно, система, обеспечивающая сохранение конфигурации, каким-то образом связана с системой, обеспечивающей сохранение полиморфизма. Но как было показано ранее (11, 15), никакие ядерные или цитоплазматические авторепродуцирующиеся компоненты не могут служить источниками специфических сигналов для системы, поддерживающей конфигурацию *L. gibba*. Снижение эффективности этой системы в М-клонах показывает, что негенные механизмы регуляции несомненно вовлекаются каким-то образом в процессы, поддерживающие монстрозность.

Итак, различия между мономорфными и полиморфными клонами *L. gibba* должны быть связаны, по крайней мере отчасти, с негенным механизмом передачи биологической информации, принципиально близким к тем механизмам, действие которых лежит в основе различий между л. и п. клонами рясковых, полиморфными и мономорфными клонами планарии *D. tigrina*, а также дублетными и синглетными клонами инфузорий (16, 17).

Авторы выражают благодарность Э. Ф. Карабанову и Л. Н. Калашникову за помощь в проведении экспериментов.

Физико-технический институт им. А. Ф. Иоффе
Академии наук СССР
Ленинград

Поступило
9 IX 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ E. L. Johnson, In: Biological Effects of Radiation, 2, N. Y.—London, 1936, p. 261. ² J. E. Gunckel, Quart. Rev. Biol., 32, 46 (1957). ³ J. E. Gunckel, In: Handb. d. Pflanzenphysiologie, 15/2, 365 (1965). ⁴ C. J. Bishop, L. E. Aalders, Am. J. Bot., 42, 618 (1955). ⁵ E. Sankewitsch, Beitr. Biol. Pflanz., 29, 1 (1952). ⁶ В. Б. Касинов, ДАН, 167, 201 (1966). ⁷ В. Б. Касинов, В сборн. Матер. I Всесоюзн. симпозиума по радиобиологии растительного организма, Киев, 1970, стр. 39. ⁸ В. Б. Касинов, Г. С. Стрелин, ДАН, 177, 450 (1967). ⁹ В. Б. Касинов, Биофизика, 15, 561 (1970). ¹⁰ В. Б. Касинов, Г. П. Касинов, И. М. Степанова, В сборн. Проблемы радиочувствительности, Л., 1968, стр. 58. ¹¹ В. Б. Касинов, Генетика, 4, 11 (1968). ¹² В. Б. Касинов, Радиобиология, 6, 605 (1966). ¹³ В. Б. Касинов, Г. В. Касинова, Л. Е. Павлова, В сборн. Матер. I Всесоюзн. симпозиума по радиобиологии растительного организма, Киев, 1970, стр. 173. ¹⁴ E. Tar, L. J. Török, Acta biol. Acad. sci. hung., 18, 245 (1967). ¹⁵ В. Б. Касинов, Генетика, 5, 2 (1969). ¹⁶ T. M. Sonneborn, In: The Nature of Biological Diversity, N. Y.—San Francisco—Toronto—London, 1963, p. 165. ¹⁷ T. M. Sonneborn, Генетика, 2, 41 (1966).