

А. И. МЕДВЕДЕВ, В. Г. ЛАДЫГИНА,
член-корреспондент АН СССР А. М. КУЗИН

О ВЛИЯНИИ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ВЕЩЕСТВ МЕРИСТЕМЫ КОРНЯ V. FABA

Мутагенный эффект радиации обычно объясняется взаимодействием ионизирующего излучения или непосредственно с генетическими структурами или повреждением их продуктами радиолиза воды и других веществ. В ряде работ (^{1, 2}) обсуждается возможность образования в облученных растительных и животных организмах аномальных метаболитов, способных вызывать в нормальных делящихся клетках разнообразные цитогенетические повреждения, имитирующие непосредственное радиационное поражение.

Наличие у клетки способности к спонтанным генетическим изменениям, объясняемым, в частности, действием естественных мутагенов (³), позволяет предположить и о другой возможности объяснения радиационного мутагенеза — повреждения генетических структур делящейся клетки естественными мутагенами, способными проявить свою активность в результате облучения клетки и нарушения ее естественной аутомутагенной — антимутагенной системы. Если эти вещества обладают достаточной стабильностью и не полностью используются в клетке в процессе метаболизма и осуществления мутагенного действия при облучении, то существует возможность для их выделения и исследования.

Мы попытались проверить эту возможность, выбрав в качестве объекта делящиеся клетки корня *V. faba*, являющиеся классическим цитогенетическим и радиобиологическим тестом.

Семена бобов сорта Русские черные проращивали в песке до появления первичных корешков длиной 3,5—4,0 см. Проростки облучали на установке «Гупос» гамма-лучами цезия-137 дозой 200 р при мощности дозы 400 р/мин. Через 3 часа после облучения кончики корешков облученных и необлученных проростков длиной около 5 мм фиксировали в жидком азоте, растирали в порошок в замороженном состоянии и трижды экстрагировали 75% этанолом в отношении 10:1. Экстракты объединяли, высушивали в вакууме досуха, затем растворяли в дистиллированной воде в разных разведениях. Концентрацию выражали в условных единицах. Концентрации 1 С соответствовали вещества, выделенные из 1 г сырого веса корешков и растворенные в 1 мл воды.

Часть экстракта использовали для определения цитогенетической активности, а другую часть разделяли методом бумажного электрофореза на препаративной бумаге Ватман ЗММ (Англия) в 0,75 *M* муравьиной кислоте при напряжении 400 в в течение 12 час. Электрофореграммы (длина 40 см) высушивали на воздухе досуха, просматривали под у.-ф. лампой и разрезали на ряд полос, соответствующих люминесцирующим и поглощающим в у.-ф. лучах веществам. Фракции с полос многократно элюировали 75% этанолом, высушивали в вакууме досуха, растворяли в воде и использовали для определения цитогенетической активности.

Для этого корешки *V. faba* длиной 3,5—4,0 см погружали в приготовленные растворы, полученные из облученных и необлученных корешков, на глубину около 8 мм и экспонировали в течение 3,5 час. Контролем слу-

жили корни, экспонированные на воде. В кювету емкостью 3,5 мл помещали по 5 корешков. Затем корешки отмывали от опытных растворов дистиллированной водой и фиксировали в смеси Карнуа. На давленных препаратах, приготовленных обычным способом, подсчитывали число нормальных и поврежденных анафаз. Обычно просчитывали по 10 препаратов.

Как следует из полученных данных, цитогенетической активностью, выражающейся в основном фрагментацией хромосом, обладали экстракты, выделенные как из облученных, так и из необлученных корешков, причем экстракт из облученных растений обладал заметно большей активностью. В табл. 1 приведены данные для одной из использованных концентраций — 0,3 С.

Для того чтобы выяснить, какие вещества ответственны за обнаруженный эффект, экстракт подвергали разделению электрофорезом и испытывали активность отдельных изолированных фракций. На рис. 1 приведена картина, наблюдаемая при просмотре электрофореграмм в у.-ф. свете. В результате таких опытов было выявлено, что за цитогенетическую активность экстракта ответственны вещества, обладающие указанной на рис. 1 электрофоретической подвижностью. Поскольку активная фракция обладала равным действием с исходным экстрактом, мы смогли заключить, что из экстракта выделены практически все вещества, ответственные за наблюдаемый эффект.

Интересно отметить следующую качественную зависимость, наблюдаемую при использовании различных концентраций экстрактов и активной фракции, полученных как из облученных, так и необлученных корешков.

Таблица 1

Цитогенетическое действие экстрактов из облученных и необлученных корешков и активной фракции, выделенной из облученных растений *V. faba*

	Общее число просмотренных анафаз	Число поврежденных анафаз	Поврежденные анафазы, %
Облученные	1058	251	14,3±2,05
	599	104	17,5±3,0
Необлученные	788	45	5,8±1,10
	—	—	—

Примечание. Над чертой — экстракты, под чертой — активная фракция. Контроль (вода) 2,1%.

ный спектр поглощения в ультрафиолетовой области с максимумом при 270 мμ и вторым максимумом в области 330—350 мμ (рис. 2). Эти вещества на электрофореграмме обладали желтым цветом, усиливающимся при обработке их аммиаком, желтой и темно-красной люминесценцией при освещении их у.-ф. лучами, переходящей в желтую при обработке их парами аммиака; спиртовые растворы активной фракции давали положительную реакцию на пробу Синода. Комплекс этих реакций указывает на наличие в выделенной активной фракции веществ флавоноидной

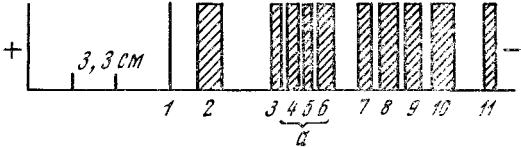


Рис. 1. Расположение люминесцирующих и поглощающих в у.-ф. лучах веществ на электрофореграмме. 1 — место нанесения образца; 2—11 — вещества с люминесценцией — синей, темно-красной, желтой, синей, темно-красной, желтой, синей, красной, желто-зеленой, темно-красной соответственно. а — активная фракция

При обработке высокими концентрациями (около 1 С) наблюдается массовая гибель клеток, при уменьшении концентрации (0,7 С) наблюдается сильная задержка деления клеток и остановка делящихся клеток на стадии метафазы, при дальнейшем уменьшении концентрации (около 0,5 С) выявляются клетки со «слипаниями» хромосом, клетки с хромосомными аберрациями (0,3 С), а в еще меньших концентрациях эффект исчезает.

Вещества, входящие в активную фракцию, имели сходный

природы. Активная фракция, выделенная из необлученных корешков, обладала такими же свойствами.

Полученные данные указывают, что в нормальных делящихся клетках корня *V. faba* содержатся вещества, способные вызывать разнообразные цитогенетические нарушения — задержку деления клеток, «слипания» и разрывы хромосом, — имитирующие в определенной степени цитогенетические проявления радиационного мутагенеза.

В ряде работ (³⁻⁵) развивается представление о том, что естественное мутирование вызывается в основном продуктами обмена веществ организма, а из кожуры бобов *V. faba*, обладающих темнокрасной семенной оболочкой, были выделены аутомутагены, которые, проникая в зародыш при прорастании, вызывают в его клетках высокую мутабельность. Эти вещества способны вызывать мутации и в клетках растений других видов. Полученные нами результаты указывают на то, что не только при прорастании,

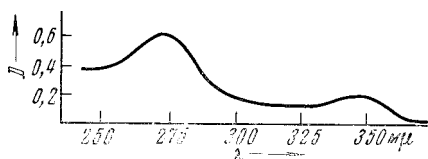


Рис. 2. У.-ф. спектр поглощения активной фракции

но и в процессе роста непосредственно в меристемных клетках корня *V. faba* содержатся аутомутагены. Отсутствие заметной мутабельности в этих клетках можно, по-видимому, объяснить сбалансированностью обмена и естественной аутомутагенной — антимутагенной системы.

Можно предполагать, что облучение меристемных клеток способно нарушить сбалансированность этой естественной мутагенно-антимутагенной системы или путем уменьшения содержания антимутагенов, или, наоборот, способствуя синтезу аутомутагенов и их переходу в активную форму. Последний вариант нам представляется более вероятным. Выявление заметно большего мутагенного действия веществ, выделенных из клеток, облученных в сравнительно малой дозе 200 р, указывает на значительную радиочувствительность аутомутагенной системы.

Исследование химической природы выделенных веществ, механизма их мутагенного действия как при воздействии ионизирующей радиации, так и в норме, является нашей последующей задачей.

Институт биологической физики
Академии наук СССР
Пушкино-на-Оке

Поступило
3 I 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. М. Кузин, В сборн. Радиотоксины, их природа и роль в биологическом действии радиации высокой энергии, 1966, стр. 5, 244. ² А. М. Кузин, В кн. Структурно-метаболическая гипотеза в радиобиологии, М., 1970, стр. 138. ³ Н. П. Дубинин, Бот. журн., 43, 1093 (1958). ⁴ Н. П. Дубинин, В. Р. Щербakov, ДАН, 159, 652 (1964). ⁵ A. Murin, Biol. CSR, 16, 1961 (1961).