

ХРОМОСОМНАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ РАСТЕНИЙ В СИСТЕМЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА

Л. М. Лазаренко, В. Ф. Безруков

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев

Изучали возрастную динамику хромосомной нестабильности в семенах *Allium fistulosum L.* из растений, выросших в районах, различающихся степенью экологического загрязнения. Регрессионный анализ частоты aberrантных анафаз (ЧАА) и количества aberrаций на aberrантную клетку (КАБАК) по возрасту семян показал, что при хранении семян ЧАА и КАБАК изменяются неодинаково. Самая высокая скорость ЧАА наблюдается в семенах из наиболее неблагоприятных условий (г. Васильков) – коэффициент регрессии $b = 0,836$. Семена из экологически условно чистой местности (с. Власивка) отличались низкой скоростью нарастания ЧАА – $b = 0,2274$. В семенах из местности средней загрязненности (г. Остер) коэффициент регрессии b был равен 0,4637. КАБАК изменялось тоже неодинаково: коэффициент регрессии b в семенах васильковской агропопуляции – 0,89, власивской – -0,16 и остерской – 0,47. Полученные результаты позволяют считать, что скорость возрастной динамики хромосомной нестабильности в семенах может быть показателем экологического благополучия.

Генетический мониторинг – это система пролонгированных наблюдений за состоянием генофонда популяций, которая дает возможность оценивать существующий мутационный процесс и прогнозировать его изменения. Очевидно, что загрязнение окружающей среды несвойственными ей веществами представляет опасность для всех живых организмов. Помимо токсических эффектов со стороны загрязнителей неизбежно влияние на темп мутационного процесса. Одним из проявлений этого процесса является рост хромосомной нестабильности, в частности частоты aberrаций хромосом. Естественное, как правило, постепенное, хотя и не прямолинейное развитие хромосомной нестабильности имеет место при старении. Повышенную хромосомную нестабильность можно ожидать и в местах радиационного загрязнения [1].

Семена растений – удобный объект для изучения повреждающего влияния факторов различной природы, в том числе и радиации. Очевидно, условия обитания материнских растений или хранения семян не могут не сказаться на скорости возрастных изменений стабильности хромосом. Нас интересовали детали развития хромосомной нестабильности в семенах, полученных из растений, выросших в районах, различающихся степенью экологического благополучия.

В данной работе представлены результаты исследований возрастной динамики хромосомной нестабильности в семенах лука батун (*Allium fistulosum L.*), собранных с растений, выросших в местах с разным уровнем экологического благополучия.

Материалы и методика

Исследовали возрастную динамику цитогенетических параметров в меристемных клетках проростков батун. Лук батун (*Allium fistulosum L.*) – многолетнее растение из семейства *Liliaceae* (лилейные). Цветет в мае – июне, что очень важно для изоляции от опыления пылью лука репчатого (*A. cepa L.*), сроки цветения для которого в июле – августе. Семена батун созревают в июле.

Генетически однородные семена *A. fistulosum L.* посеяны в местностях, различающихся по степени экологического загрязнения.

Остер (Черниговской область) – небольшой курортный город, промышленно не загрязнен. После аварии на ЧАЭС отнесен к IV зоне. Участок, на котором выращивали батун, расположен на территории частной усадьбы, удаленной и защищенной деревьями от

проезжей части улицы. Рядом и в известных окрестностях химические удобрения и пестициды не используются.

Васильков - пригород Киева. Кроме радиационного загрязнения вследствие аварии на ЧАЭС здесь имеет место загрязнение промышленными предприятиями. Очень выражена транспортная нагрузка. Кроме того, неподалеку расположены поля совхоза, химически обрабатываемые.

Власивка (село в Киевской области) относится к экологически чистым зонам. Здесь в основном расположены дачи и дачные участки.

Семена хранили в негерметически закрытой стеклянной посуде в одинаковых лабораторных условиях. Периодически семена проращивали в дистиллированной воде при температуре 24 °С. Клетки корневой меристемы анализировали на временных давленных, крашенных ацеторсеином, препаратах анафазным методом с последующей математической обработкой согласно стандартным методикам [2, 3]. Анализировали частоту aberrантных анафаз (ЧАА) и количество aberrаций на одну aberrантную клетку (КАБАК). Провели регрессионный анализ этих параметров по возрасту семян. Для более наглядной выраженности различий коэффициента регрессии КАБАК умножали на 100, как принято [4].

Результаты исследований

На полученных препаратах наблюдали aberrации разного типа и категорий: фрагменты, мосты, кольца, aberrации хромосомного и хроматидного типов, множественные и неопределенные aberrации. В молодых семенах всех агропопуляций поврежденных клеток мало. Среди наблюдаемых aberrаций подавляющее большинство составляют мосты хроматидного типа (рис. 1).

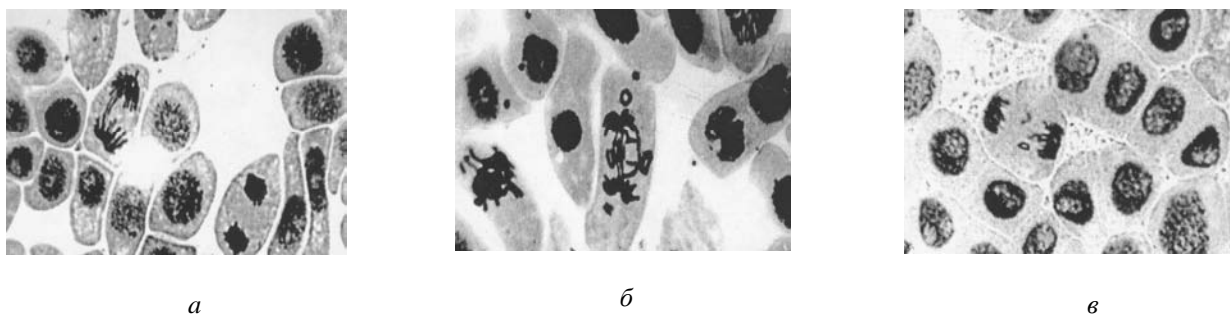


Рис. 1. Aberrации хромосом в клетках корневой меристемы проростков батуна: *а* - мост хромосомного типа; *б* - кольца, множественные мосты и фрагменты; *в* - фрагмент и кольцо.

При старении семян увеличивается количество aberrантных клеток, появляются клетки с мостами хромосомного типа, возрастает разнообразие и количество aberrаций в уже поврежденных клетках. Это повышение в разных агропопуляциях происходит неодинаково, с разной скоростью (рис. 2). Для характеристики средней скорости изменения хромосомной нестабильности можно использовать коэффициент регрессии b ЧАА по возрасту семян.

Наиболее высокая скорость возрастного повышения ЧАА наблюдается в семенах из наименее благополучной в экологическом отношении васильковской агропопуляции – 0,84 aberrантных клеток за месяц ($b = 0,8402$). Семена из наиболее благополучной местности (с. Власивка) отличались самой низкой скоростью развития хромосомной нестабильности – 0,22 aberrантных клеток за месяц ($b = 0,2174$). В остерских семенах (см. рис. 2) она составляла в среднем 0,46 aberrантных клеток за месяц ($b = 0,4637$).

КАБАК – еще один показатель нестабильности генома, который отражает поврежденность aberrантной клетки. Регрессионный анализ возрастной динамики этого показателя позволил увидеть, что скорость нарастания КАБАК с возрастом в семенах исследуемых агропо-

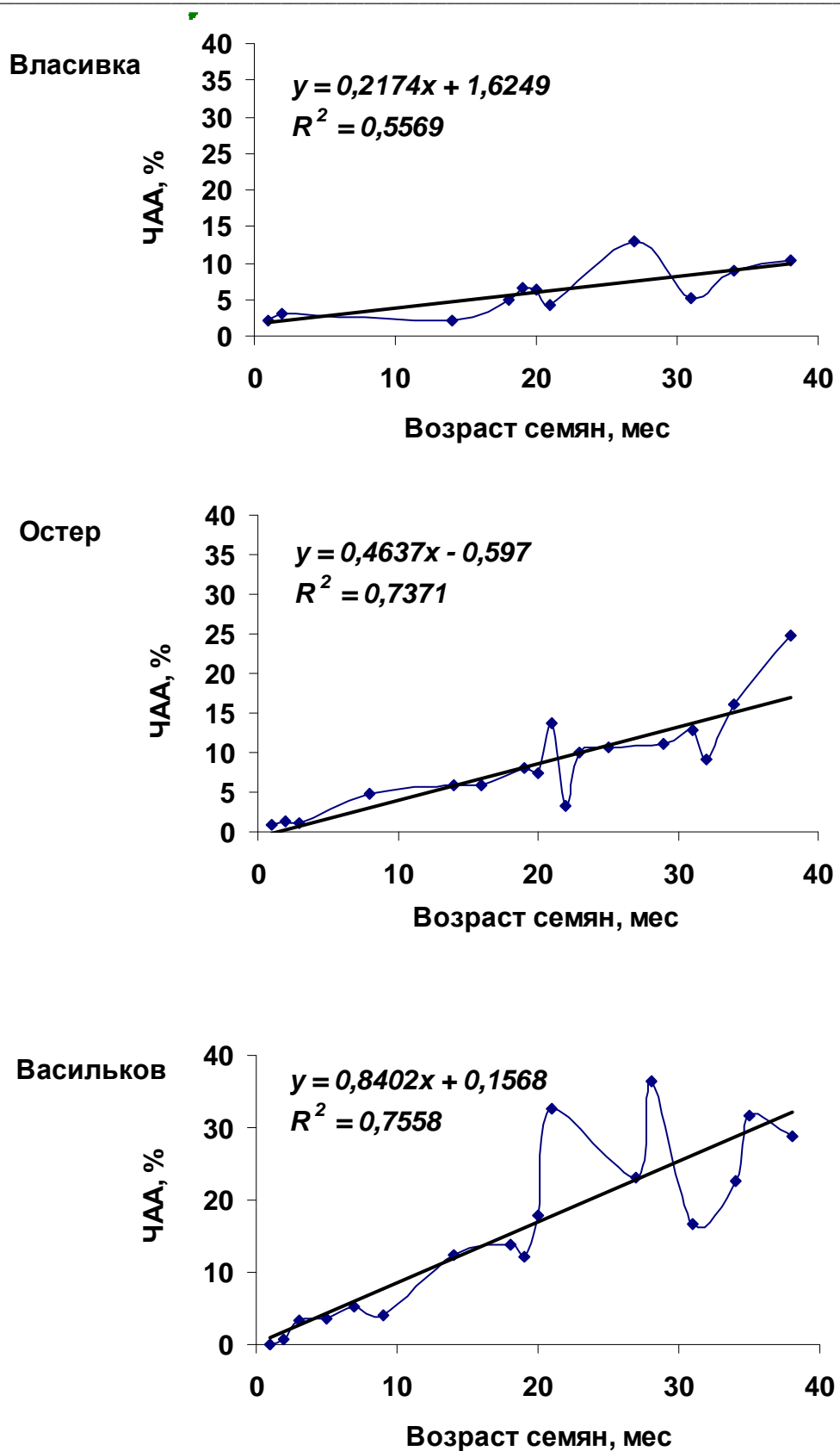
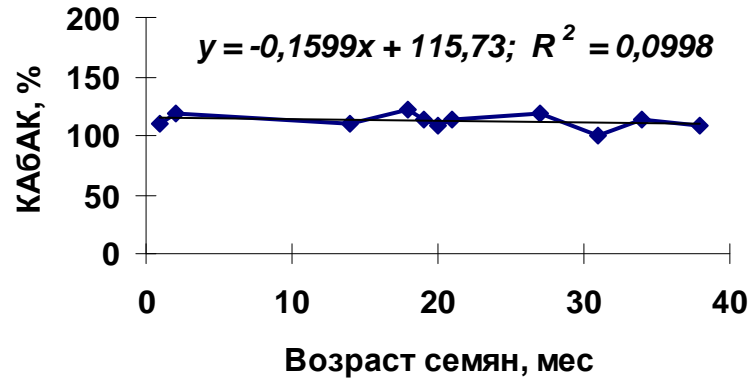


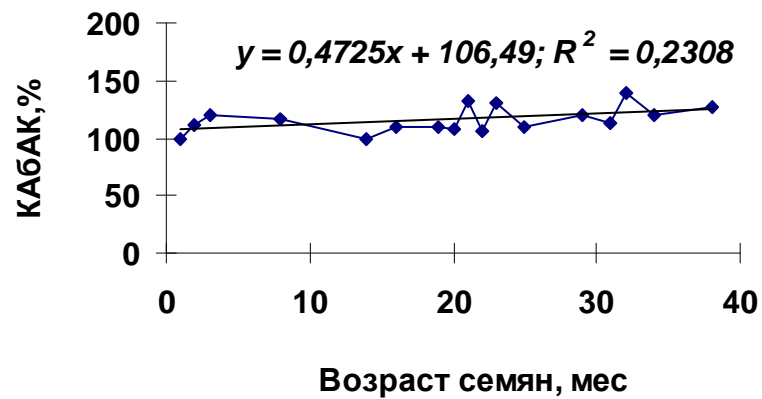
Рис. 2. Возрастная динамика ЧАА в семенах батона, собранных в разных местностях.

пуляций также различна, о чем свидетельствует коэффициент регрессии b . В семенах остерской популяции $b = 0,47$, васильковской – $b = 0,89$ и власивской – $b = -0,16$.

Власивка



Остер



Васильков

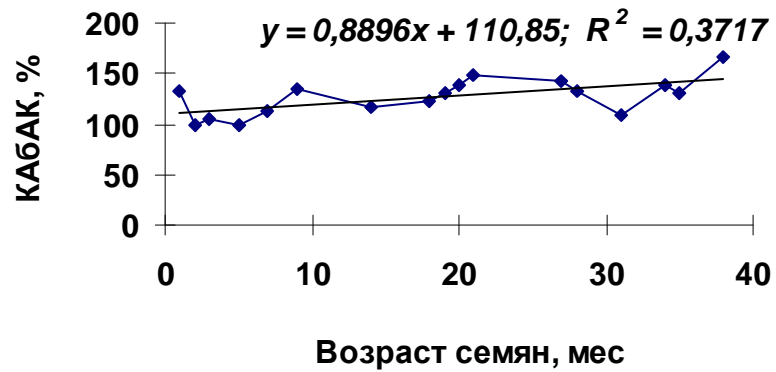


Рис. 3. Возрастная динамика КАБАК в семенах батуна, собранных в разных местностях.

Обсуждение

При старении семян хромосомная нестабильность повышается как за счет потенциальных, предмутационных неустранимых изменений, так и за счет накопления аутомутагенов - продуктов метаболизма, обладающих мутагенной активностью, которые повреждают хромосомный материал уже при прорастании семян.

Все исследованные нами семена хранились и проращивались в одинаковых условиях. Однако условия формирования и созревания семян отличались климатическими и погодными условиями, структурным и химическим составом почвы и др. К тому же нагруженность антропогенными факторами также различна (радиационное и химическое загрязнения, транспортная нагрузка и др.). Естественно, что в метаболизм материнских растений в разных случаях включались разные компоненты ближайшего окружения. Отсюда различия в химическом составе и особенностях метаболизма семян из разных агропопуляций. В свою очередь это приводит к различиям как в уровне предмутационных повреждений, так и к разной скорости образования и накопления аутомутагенов, что отражается на возрастной динамике хромосомной нестабильности.

Обращает на себя внимание то, что ЧАА и КАБАК изменяются одинаковым образом в зависимости от степени экологического благополучия (см. рис. 1 и 2). КАБАК и ЧАА являются взаимодополняющими параметрами, характеризующими разные аспекты нестабильности генома [5, 6]. Подобное сходство можно объяснить особенностями самих местностей (составом и спецификой комплекса мутагенов, загрязняющих почву, микроклиматом и т.д.), поскольку агропопуляции растений на всех трех участках в генетическом отношении однородны. Поэтому различия по возрастной динамике ЧАА и КАБАК еще раз свидетельствуют о необходимости учета обоих параметров в системе мониторинга экосистем.

Таким образом, наличие загрязняющих факторов в местах произрастания материнских растений влияет на стабильность хромосом потомства этих растений (семян). Скорость возрастной динамики хромосомной нестабильности в семенах свидетельствует о степени экологического благополучия мест обитания материнских растений. Поэтому анализ хромосомной нестабильности в семенах растений можно использовать для характеристики и сравнения экологического благополучия местности в системе генетического мониторинга экологических систем.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Bezrukov V.F., Lazarenko L.M.* Environmental impact on age-related dynamics of karyotypical instability in plants // *Mutation Research*. - 2002, October. - Vol. 520, No. 1-2. - P. 113 - 118.
2. *Паушева З.П.* Практикум по цитологии растений. - М.: Агропромиздат, 1988. - 271 с.
3. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. - М.: Высш. шк. - 1990. - 349 с.
4. *Гостимский С.А., Дьякова М.И., Ивановская Е.В., Монахова М.А.* Практикум по цитогенетике: Метод. пособ.. - Изд-во Москов. ун-та, 1974. - 171 с.
5. *Куцоконь Н.К., Безруков В.Ф., Лазаренко Л.М. та ін.* Кількість аберацій на аберантну клітину як параметр хромосомної нестабільності. 1. Характеристика дозових залежностей // *Цитология и генетика*. - 2003. - Т.37, № 4. - С. 20 - 25.
6. *Куцоконь Н.К., Лазаренко Л.М., Безруков В.Ф. та ін.* Кількість аберацій на аберантну клітину як параметр хромосомної нестабільності. 2. Порівняльний аналіз впливу факторів різної природи // *Там же*. - 2004. - Т.38, № 1. С. 55 - 62.

Поступила в редакцию 28.02.05,
после доработки - 28.03.05.

43 ХРОМОСОМНА НЕСТАБІЛЬНІСТЬ РОСЛИН У СИСТЕМІ ГЕНЕТИЧНОГО МОНИТОРИНГУ**Л. М. Лазоренко, В. Ф. Безруков**

Вивчали вікову динаміку хромосомної нестабільності в насінні *Allium fistulosum* L. з рослин, які вирости в районах, що відрізняються ступенем екологічного забруднення. Регресійний аналіз частоти абераційних анафаз (ЧАА) й кількості аберацій на абераційну клітину (КАБАК) за віком насіння показав, що при зберіганні насіння ЧАА й КАБАК змінюються неоднаково. Найбільш висока кількість ЧАА спостерігається в насінні за найбільш несприятливих умов (Васильків) – коефіцієнт регресії $b = 0,836$. Насіння з екологічно умовно чистої місцевості (Власівка) характеризувалось низькою швидкістю наростання ЧАА - $b = 0,2274$. У насінні з місцевості середньої забрудненості (Остер) коефіцієнт регресії $b = 0,4637$. КАБАК змінювалась також неоднаково: коефіцієнт регресії b в насінні васильківської популяції – 0,89, власівської популяції - -0,16 і в насінні остерської популяції – 0,47. Одержані результати дають змогу вважати, що швидкість вікової динаміки хромосомної нестабільності в насінні може бути показником екологічної сприятливості.

43 CHROMOSOME INSTABILITY OF PLANTS IN GENETIC MONITORING**L. M. Lazarenko, V. F. Bezrukov**

The age-related changes of chromosomal instability in seeds of welsh-onion (*Allium fistulosum* L.), grown in environments with different rate of pollution were studied. Regression analysis of frequency of anaphase cells with chromosome aberration (AA) and number of aberrations per cell with aberrations (NAPCA) on the age of seeds revealed that these indicators during seeds' storing change by different ways. The most significant growth of AA was noted for seeds from "bad" environment (Vasilkov) – the regression coefficient $b = 0,836$. Seeds from "good" environment (Vlasivka) had the lowest rate of increasing of AA – $b = 0,2274$. Seeds from "common" environment (Oster) had the regression coefficient b equal to 0,4637. NAPCA also changed by distinct ways: the regression coefficient for seeds from Vasilkov agripopulation was 0,89, from Vlasivka – 0,16 and from Oster – 0,47. Obtained results let us to propose the rate of age-related chromosomal instability in seeds as an indicator of ecological welfare.

ПОДПИСИ К РИСУНКАМ В СТАТЬЕ**Л.М. Лазаренко, В.Ф. Безруков****ХРОМОСОМНАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ РАСТЕНИЙ В СИСТЕМЕ
ГЕНЕТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА**

Рис. 1. Аберрации хромосом в клетках корневой меристемы проростков батуна: а - Мост хромосомного типа; б - Кольцо, множественные мосты и фрагменты; с - Фрагмент и кольцо

Рис. 2. Возрастная динамика частоты aberrantных анафаз (ЧАА) в семенах батуна, собранных в разных местностях.

Рис. 3. Возрастная динамика количества aberrаций на aberrantную клетку (КАБАК) в семенах батуна, собранных в разных местностях

Сведения об авторах

Лазаренко Лариса Михайловна, канд. биол. наук,
Ассистент кафедры общей и молекулярной генетики
Киевского национального университета имени Тараса Шевченко
Тел. 252-39-95
lml@univ.kiev.ua

Безруков Владимир Федорович, канд. биол. наук,
Доцент кафедры общей и молекулярной генетики
Киевского национального университета имени Тараса Шевченко
Тел. 252-39-95
bvf@univ.kiev.ua