

МУТАГЕНЕЗ У *ARABIDOPSIS THALIANA* ПРИ СОЧЕТАННОМ ДЕЙСТВИИ СЕРНОКИСЛОЙ МЕДИ И ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

В.И. Крюков

НИИ новых медицинских технологий, 300026, Тула, пр. Ленина, 108

1. Введение

Значительная часть Тульской области была загрязнена радионуклидами в результате аварии на ЧАЭС. В большинстве случаев эти территории подвергались ранее и продолжают подвергаться в настоящее время сильному химическому загрязнению. В связи с этим возможно одновременное воздействие на живые организмы низких доз ионизирующей радиации и химических мутагенов. Такое одновременное действие химических мутагенов и ионизирующей радиации, называемое сочетанным, исследовано ещё недостаточно.

Одним из основных химических загрязнителей окружающей среды в Тульской области являются тяжёлые металлы [3]. Поэтому представляют интерес как генетический мониторинг природных популяций растений и животных в районах, подвергшихся техногенному загрязнению радионуклидами и тяжёлыми металлами, так и моделирование на лабораторных организмах возможных генетических последствий одновременного хронического воздействия этих факторов. Так как концентрация подвижных форм радионуклидов и стабильных металлов в почвах сильно зависит от их типа, то моделирование мутагенного воздействия на растения необходимо провести с использованием почв различных типов.

Цель исследований – анализ генетических последствий одновременного хронического воздействия на организмы низких доз радиации и тяжёлых металлов. В настоящей работе сообщается о результатах исследования мутагенности для высших растений ионов меди и ионизирующей радиации, обусловленной присутствием в выщелоченном чернозёме «чернобыльских» изотопов $^{134+137}\text{Cs}$.

2. Материалы и методы

Объектом исследования служили растения *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh расы *Enkheym-I*. Растения были выращены на среднесуглинистом выщелоченном чернозёме, типичном для значительной части территории Тульской области. В опыте использовали почву с тремя градациями удельной активности $^{134+137}\text{Cs}$ – 78, 1980, и 4650 Бк/кг, далее условно называемыми, соответственно, низкой, средней и высокой. Такая удельная активность радионуклидов соответствует плотности загрязнения 0,8, 20,9 и 49,0 Ки/Км² при удельном весе почвы 1,3 г/см³ и глубине пахотного слоя 30 см. Почва для первого варианта опыта собрана в окрестностях деревни Ольхи, для второго и третьего – на территории Тульского НИИ сельского хозяйства (Плавский р-н, Тульская обл.). Для определения удельной активности радионуклидов в почве использовали автоматизированный гамма-спектрометр со сцинтилляционным детектором и минимальной детектируемой активностью 3 Бк.

Основные агрохимические характеристики используемой почвы следующие: содержание P_2O_5 и K_2O – 18,5±0,5 и 16,3±0,7 мг/100 г почвы, соответственно. Сумма поглощённых оснований – 29,0±0,2 мг-экв/100 г, гидролитическая кислотность – 8,3±0,1 мг-экв/100 г, содержание гумуса – 6,5%, рН_{KCl} – 4,7. Фоновое валовое содержание меди в почве – 23±3 мг/кг. Предельно-допустимая концентрация (ПДК) меди для почвы – 100 мг/кг [4]. Дополнительно к фоновому количеству металла в почву каждого из трёх блоков опыта, различающихся по удельной активности радиоактивного цезия, были внесены 0 (контроль), 50, 100, 200, 300, 400, 500, 1000 мг меди на 1 кг почвы. Эти количества соответствовали 0,5, 1, 2, 3, 4, 5 и 10 ПДК. Металл внесён в почву при первом поливе в виде раствора сернокислой соли.

Семена арабидопсиса высевали в почву, помещённую в пластиковые ящики площадью 38×12 см и высотой 6 см. Полив растений осуществляли с поддонов, в которые были установлены

ящики. Через 5-8 дней после появления всходов проводили прореживание, оставляя в каждом ящике по 40 растений. Растения выращивали в люминостате (лампы ЛБ-40) при освещённости 8000 лк и 18-часовом автоматически регулируемом световом периоде.

Количество стерильных семян, летальных и рецессивных хлорофильных мутаций учитывали в период плодоношения (40-50-е сутки после появления всходов), анализируя фенотип эмбрионов в трёх первых стручках из базальных частей соцветий каждого растения в соответствии с классификацией, разработанной П.Д. Усмановым и Л. Мюллером [12]. Для статистической обработки результатов использован пакет прикладных программ «STADIA 4.5» для ПК [6].

Для простоты изложения полученных результатов каждый вариант опыта будет обозначен двойным буквенно-цифровым символом, первая часть которого, состоящая из букв Н, С, В, соответствует низкой, средней и высокой удельной активности радионуклидов в почве (78, 1980 и 4650 Бк/кг), а вторая часть указывает на количество внесённого в почву металла. Так, символы Н-0, С-0 и В-0 обозначают контрольные варианты соответственно с низким, средним и высоким уровнями активности цезия в почве и без дополнительно внесённой меди, а символ В-500 – вариант с высокой удельной активностью радионуклидов и 500 мг меди, дополнительно внесённой на каждый кг почвы. Восемь вариантов концентрации меди (от 0 до 1000 мг/кг) в почве и с одинаковой удельной радиоактивностью цезия будем называть «блоком вариантов».

3. Результаты

Для агроэкосистем тяжёлые металлы являются одним из наиболее широко представленных классов генотоксичных веществ [13]. В то же время именно в агроэкосистемах формируются первые звенья трофических цепей, ведущих к человеку. Поэтому динамика и аккумуляция тяжёлых металлов в агроэкосистемах, а также их токсические и мутагенные эффекты должны быть предметом особого внимания специалистов.

Тест-система *Arabidopsis thaliana* широко используется для выявления мутагенов, например, Агентством по охране окружающей среды США. Риди Г. [14] приводит данные об изучении на арабидопсисе около 110 химических веществ (в частности, минимальные и максимальные эффективные дозы) В числе преимуществ данной тест-системы им отмечены высокая чувствительность, способность растения активировать промутагены в мутагены и высокая корреляция между результатами тестирования и канцерогенностью у млекопитающих. Именно поэтому мы выбрали для своих исследований этот вид растений. В эксперименте проанализировано в общей сложности 89578 эмбрионов и семян из 2697 стручков от 960 растений. Результаты анализа приведены в табл. 1 и 2.

Влияние меди на растения проявлялось уже на всходах. Во всех вариантах с 400, 500 и 1000 мг металла на кг почвы наблюдали задержку всходов на 1-3 дня. Всходы были более слабыми и во многих случаях – с симптомами хлороза. В трёх последних вариантах концентрации меди после прореживания всходов часть из оставленных растений спустя ещё несколько дней погибла с ярко выраженными признаками хлороза. Поэтому растения пришлось подсевать.

Суммарное количество семян, изначально формирующихся в плоде можно определить, суммируя количество нормальных эмбрионов, мутантных эмбрионов и стерильных семян. Пределы варьирования и средние значения этого признака отражают влияние исследуемых факторов на репродуктивный потенциал экспериментальных растений. Как следует из данных, приведенных в табл. 3, увеличение концентрации меди в почве не влияет на пределы варьирования числа семян в стручках, но заметно снижает их среднее количество. У растений, выращенных на почве с низкой, средней и высокой удельной активностью радионуклидов, статистически достоверные различия (при сравнении с собственными контрольными вариантами) возникали при концентрации меди 200, 300 и 400 мг/кг почвы соответственно. При этом величина рассматриваемого признака у растений в контрольных вариантах С-0 и В-0 статистически достоверно меньше, чем в контроле Н-0. Регрессионный анализ показал, что изменение количества семян в стручке с увеличением концентрации кобальта наиболее удовлетворительно описывается линейным и степенным уравнениями, коэффициенты которых приведены в табл. 4.

Частота нормальных эмбрионов в стручках растений, выращенных на почве с низкой удельной активностью цезия, была наибольшей. Внесение меди приводит к понижению частоты

нормальных эмбрионов в стручках, однако у растений, выросших на почве с первыми тремя концентрациями металла (50, 100 и 200 мг/кг; снижение частот было статистически недостоверным. При увеличении концентрации до 300 мг/кг и более падение частоты становится статистически достоверным. Частота нормальных эмбрионов в контрольных вариантах С-0 и В-0 была ниже таковой в контроле Н-0, но различия статистически недостоверны. При увеличении в почве концентрации меди частота нормальных эмбрионов снижается, и статистически достоверным это снижение становится при концентрации 400 мг/кг в блоке вариантов с высоким уровнем удельной активности радиоцезия и при 500 мг/кг в блоке вариантов со средним уровнем удельной активности радионуклида. Регрессионный анализ позволил установить, что указанный процесс может быть описан уравнением вида $y = a_0 + a_1\sqrt{x}$, со следующими значениями коэффициентов a_0 и a_1 : 83,68 и $-0,023$ – для почвы с низкой концентрацией радионуклида; 79,05 и $-0,66$ – для почвы со средней концентрацией; 77,05 и $-0,80$ – для почвы с высокой концентрацией радионуклида, соответственно.

Таблица1. - Количество стерильных семян, нормальных и мутантных эмбрионов (%) в различных вариантах эксперимента

Внесено меди, мг/кг	Всего семян	Нормальных эмбрионов	Стерильных семян	Количество мутантных эмбрионов							
				sicca	brevis	vana	diffusa	murca	parva	fusca	Хлорофильные летали
Почва с низкой удельной активностью радиоцезия (78 Бк/кг)											
0	3010	2606	339	2	26	7	13	7	5	1	4
50	2818	2376	371	18	9	4	6	6	14	0	14
100	3282	2704	429	6	77	4	14	24	16	3	5
200	4371	3500	646	22	144	10	23	5	4	3	14
300	2458	1811	511	75	18	3	8	2	1	3	26
400	2526	1726	577	158	12	7	22	1	1	4	18
500	4658	3308	976	6	144	9	201	2	25	0	17
1000	3042	1949	748	133	38	44	26	10	58	2	34
Почва со средней удельной активностью радиоцезия (1980 Бк/кг)											
0	2518	1929	500	14	39	3	18	5	3	0	7
50	3331	2473	722	43	54	12	7	0	0	0	20
100	5675	4232	1167	12	112	7	7	15	101	2	20
200	2416	1754	527	64	28	14	9	3	10	2	5
300	3705	2594	885	93	87	5	19	11	1	2	8
400	5617	3603	1384	214	345	16	28	5	10	0	12
500	3509	2131	884	315	30	26	79	12	3	2	27
1000	3019	1759	749	213	138	39	12	1	49	9	33
Почва с высокой удельной активностью радиоцезия (4650 Бк/кг)											
0	4650	3573	895	39	41	23	46	16	7	2	8
50	4645	3295	1081	149	44	21	21	12	8	9	5
100	2882	1970	735	97	22	8	34	1	3	1	11
200	4628	3060	1170	71	180	12	102	2	22	1	8
300	4432	2930	1139	234	50	11	34	5	16	4	9
400	5135	3116	1315	458	113	19	12	4	83	3	11
500	4354	2522	1178	400	131	22	25	18	13	9	46
1000	2897	1488	861	418	69	13	19	0	1	10	18

При максимальной концентрации меди в почве у растений, выращенных на почве с низкой удельной активностью цезия, частота нормальных эмбрионов была на 5,7% ниже, чем в контроле. Сходная картина изменения частот нормальных эмбрионов наблюдалась у растений, выращенных на почве со средней и высокой удельной радиоактивностью цезия, – добавление в почву меди в максимальной концентрации приводило к снижению частоты нормальных эмбрионов по сравнению с контролем С-0 и В-0 на 4,1% и 3,9% соответственно.

Таблица 2. - Частота стерильных семян, нормальных и мутантных эмбрионов (%) в М₁ при хроническом воздействии сернокислой меди и ионизирующей радиации

Внесено меди, мг/кг	Всего семян	Нормальных эмбрионов	Стерильных семян	Частота мутантных эмбрионов								
				sicca	brevis	vana	diffusa	murca	parva	fusca	Хлорофильные летали	
Почва с низкой удельной активностью радиоцезия (78 Бк/кг)												
0	2010	86,6	11,3	0,1	0,9	0,2	0,4	0,2	0,2	0,0	0,1	
50	2818	84,3	13,2	0,8	0,3	0,1	0,2	0,2	0,5	0,0	0,5	
100	3282	82,4	13,1	0,2	2,3	0,1	0,4	0,7	0,5	0,1	0,2	
200	4371	80,1	14,8	0,6	3,3	0,2	0,5	0,1	0,1	0,1	0,3	
300	2458	73,7	20,8	4,1	0,7	0,1	0,3	0,1	0,0	0,1	1,1	
400	2526	68,3	22,8	9,2	0,5	0,3	0,9	0,0	0,0	0,2	0,7	
500	4658	71,0	21,0	0,2	2,4	0,2	4,3	0,0	0,5	0,0	0,4	
1000	3042	64,1	24,6	6,8	1,2	1,4	0,9	0,3	1,9	0,1	1,1	
Почва со средней удельной активностью радиоцезия (1980 Бк/кг)												
0	2518	76,6	19,9	0,7	1,5	0,1	0,7	0,2	0,1	0,0	0,3	
50	3331	74,2	21,7	1,7	1,6	0,4	0,2	0,0	0,0	0,0	0,6	
100	5675	74,6	20,6	0,3	2,0	0,1	0,1	0,3	1,8	0,0	0,4	
200	2416	72,6	21,8	3,6	1,2	0,6	0,4	0,1	0,4	0,1	0,2	
300	3705	70,0	23,9	3,6	2,3	0,1	0,5	0,3	0,0	0,1	0,2	
400	5617	64,1	24,6	5,9	6,1	0,3	0,5	0,1	0,2	0,0	0,2	
500	3509	60,7	25,2	14,8	0,9	0,7	2,3	0,3	0,1	0,1	0,8	
1000	3019	58,3	24,8	13,1	4,6	1,3	0,4	0,0	1,6	0,3	1,1	
Почва с высокой удельной активностью радиоцезия (4650 Бк/кг)												
0	4650	76,8	19,2	1,1	0,9	0,5	1,0	0,3	0,2	0,0	0,2	
50	4645	70,9	23,3	4,5	0,9	0,5	0,5	0,3	0,2	0,2	0,1	
100	2882	68,4	25,5	4,9	0,8	0,3	1,2	0,0	0,1	0,0	0,4	
200	4628	66,1	25,3	2,3	3,9	0,3	2,2	0,0	0,5	0,0	0,2	
300	4432	66,1	25,7	8,0	1,1	0,2	0,8	0,1	0,4	0,1	0,2	
400	5135	60,7	25,6	14,7	2,2	0,2	0,2	0,1	1,6	0,1	0,2	
500	4354	57,9	27,1	15,9	3,0	0,3	0,6	0,4	0,3	0,2	1,1	
1000	2897	51,4	29,7	28,1	2,4	0,4	0,7	0,0	0,0	0,3	0,6	

Семяпочки могут оставаться стерильными либо в результате доминантных летальных мутаций, возникших в яйцеклетках, либо в результате сильных физиологических нарушений в процессе их раннего онтогенеза из-за токсичности гипердоз меди. В любом случае их возникновение может характеризовать степень влияния исследуемого металла на снижение репродуктивного потенциала растений.

У арабидопсиса, выращенного на почве с низким содержанием радионуклидов, частота стерильных семян с увеличением концентрации меди возрастала, однако статистически достоверным это увеличение становилось только в варианте Н-1000. Регрессионный анализ данных о стерильных семенах у растений, выращенных при различной концентрации меди в почве, показал, что увеличение частоты этого признака может быть описано уравнением вида $y = 10,22 + 0,49\sqrt{x}$.

Растения, выращенные на почве со средним уровнем радиоактивности, имели более высокую частоту стерильных семян по сравнению с их частотами у растений, выращенных на почве с равными концентрациями меди и низкой радиоактивностью цезия. В результате этого процесса статистически достоверные различия частот стерильных семян при сравнении с контролем Н-0 возникали уже в варианте С-300, т.е. при концентрациях меди в три раза меньших, чем в блоке опыта с почвой, имеющей низкую радиоактивность. Изменение частот стерильных семян у

растений с увеличением концентрации меди в почве, имеющей среднюю удельную активность цезия, описывает уравнение вида $y = 19,94 + 0,19\sqrt{x}$. Ещё более высокими были частоты стерильных семян у растений, развивавшихся на почве с высокой удельной активностью цезия. Лишь в варианте В-0 частота описываемых аномалий не имела статистически достоверных различий с таковой варианта Н-0.

Таблица 3. - Влияние различных уровней ионизирующей радиации и концентраций меди на варьирование и средние значения количества семян в стручках арабидопсиса

Количество внесённой меди, мг/кг	Пределы варьирования	Среднее ± ошибка среднего	Достоверность отличий от контроля, P		
			Н-0	С-0	В-0
Почва с низкой удельной активностью радиоцезия (78 Бк/кг)					
0	7-53	35,8 ±0,9			
50	24-48	35,5 ±0,4	>0,05		
100	15-50	35,3 ±0,7	>0,05		
200	13-47	32,1 ±0,8	<0,01		
300	18-45	29,2 ±0,5	<0,01		
400	21-42	28,8 ±0,4	<0,01		
500	14-48	28,4 ±0,6	<0,01		
1000	17-49	30,1 ±0,7	<0,01		
Почва со средней удельной активностью радиоцезия (1980 Бк/кг)					
0	17-52	32,3 ±0,9	<0,01		
50	25-46	34,0 ±0,5	>0,05	>0,05	
100	10-56	30,9 ±0,6	<0,01	>0,05	
200	19-53	31,2 ±0,6	<0,01	>0,05	
300	13-58	29,4 ±1,0	<0,01	<0,05	
400	9-47	29,4 ±0,6	<0,01	<0,01	
500	16-46	29,7 ±0,5	<0,01	<0,05	
1000	17-50	28,2 ±0,7	<0,01	<0,01	
Почва с высокой удельной активностью радиоцезия (4550 Бк/кг)					
0	8-60	33,2±1,0	<0,05	>0,05	
50	20-55	33,2±0,6	<0,05	>0,05	>0,05
100	20-55	33,0±0,6	<0,01	>0,05	>0,05
200	13-60	33,6±0,9	<0,05	>0,05	>0,05
300	13-58	31,7±0,8	<0,01	>0,05	>0,05
400	13-60	30,8±0,7	<0,01	>0,05	<0,05
500	20-55	33,2±0,6	<0,01	>0,05	<0,05
1000	12-42	29,3±0,5	<0,01	<0,01	<0,01

При добавлении в почву меди на фоне высокой удельной активности цезия во всех вариантах опыта различия с контролем Н-0 были статистически достоверны. Возможно, это связано с тем, что медь является не только высокотоксичным элементом для растений, но и способствует увеличению проницаемости их клеточных оболочек. Это может повышать их чувствительность к другим металлам [8]. Увеличение частоты стерильных семян с увеличением концентрации меди в почве этого блока опыта хорошо может быть описано следующим математическим выражением: $y = 20,73 + 0,29\sqrt{x}$. Вместе с тем следует отметить, что в блоке опыта со средней удельной активностью цезия ни в одном из вариантов частоты стерильных семян не отличались от собственного контрольного варианта С-0. Аналогичную картину наблюдали и в варианте с высокой удельной активностью радионуклидов в почве - статистически достоверных различий частот стерильных семян по сравнению с собственным контролем этого блока (В-0) не обнаружено. Полученные данные свидетельствуют о том, что при одновременном воздействии ионизирующей радиации и меди возникновение стерильных семян происходит более интенсивно, чем при воздействии каждого из факторов отдельно.

Среди фиксируемых в опыте 10 классов мутаций у арабидопсиса три (*albina*, *xanta* и *chlorina*) являются мутациями, вызывающими нарушение фотосинтетического аппарата. В контрольных вариантах Н-0, С-0 и В-0 их минимальная частота составляла 0,1, 0,3 и 0,2% соответственно. При концентрации металла в почве 500 и 1000 мг/кг частота хлорофильных мутаций увеличивалась до 0,6-1,1%. В блоке опыта с низкой удельной активностью радионуклидов в почве, несмотря на значительные колебания частот хлорофильных мутаций, установлена их положительная корреляция с концентрацией меди в почве ($r = 0,82$; $T = 3,53$; с 6-ю степенями свободы; $P < 0,05$). Зависимость изменения этого параметра от концентрации меди описывается линейным уравнением вида $y = 0,216 + 0,00093x$. У растений, выращенных на почве со средней удельной активностью радионуклида, также проявлялась положительная корреляция между концентрацией меди в почве и частотой хлорофильных мутаций ($r = 0,73$; $T = 2,63$; 6 степеней свободы; $P < 0,05$). Закономерность изменения последней может быть охарактеризована линейным уравнением $y = 0,291 + 0,00069x$. Зависимости частоты хлорофильных мутаций от концентрации меди у растений, выращенных на почве с высокой удельной активностью радионуклидов, не обнаружено.

Ранее было показано [5], что анализировать индуцируемые металлом и радионуклидами частоты эмбриональных мутаций каждого типа отдельно нецелесообразно в связи с резкими колебаниями этих частот от варианта к варианту. Такие же результаты были получены и в настоящем эксперименте. Поэтому будут рассмотрены суммарные частоты всех мутаций, индуцированных под влиянием радионуклидов и меди (рис. 1).

Частота летальных мутаций у растений, выращенных на почве с низкой радиоактивностью и без дополнительных доз меди, была равной 2,2%. Дальнейшее увеличение содержания меди в почве вело к постепенному росту частоты мутаций, достигающих в варианте Н-400 величины 8,8%. Эта частота мутирования статистически достоверно ($P < 0,05$) отличается от контрольной частоты мутаций. В следующем варианте этого блока (Н-500) суммарная частота мутаций оказалась на 0,8% ниже, чем в предшествующем, и от контроля статистически достоверно не отличалась. Однако при концентрации меди в почве 1000 мг/кг суммарная частота вновь возросла, достигнув 11,3% и различия стали достоверными уже при $P < 0,01$.

Сходным образом изменялись частоты эмбриональных мутаций у растений, выращенных на почве со средним и высоким уровнями удельной активности радионуклидов. В контрольном варианте (С-0) суммарные частоты мутаций были на 1,3% выше таковой в варианте Н-0. Во всех других вариантах этого блока частоты мутаций были тоже выше, чем у растений, выращенных при равных концентрациях меди, но более низкой удельной активности радионуклидов. Статистически достоверные различия между частотами опытных вариантов и контрольными частотами Н-0 и С-0 (при $P < 0,01$ и $P < 0,05$ соответственно) обнаруживаются при концентрации меди в почве 400 мг/кг. При более высоких концентрациях меди различия в частотах становятся достоверными при $P < 0,01$ при сравнении уже с обеими контрольными величинами.

Таблица 4. Коэффициенты уравнений, описывающих зависимость количества семян в стручках арабидопсиса от концентрации меди и удельной активности цезия в почве

Уровень удельной активности цезия, Бк/кг	Коэффициенты a_0 и a_1 уравнений			
	$y = a_0 + a_1x$		$y = a_0 + a_1 \bar{x}$	
	a_0	a_1	a_0	a_1
Низкий, 78	34,07	0,00681	36,03	0,27
Средний 1980	32,13	0,00468	33,13	0,16
Высокий, 4650	33,29	0,00423	33,29	0,13

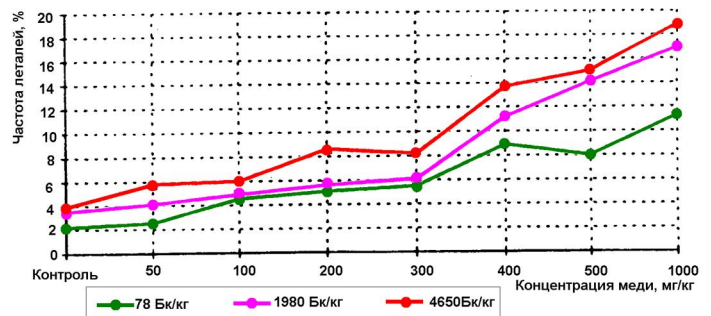


Рис. 1. Влияние различных концентраций меди и содержания радионуклидов в почве на частоты летальных эмбриональных мутаций у арабидопсиса.

У растений, выращенных на почве с высоким содержанием радионуклидов, суммарная частота мутаций статистически достоверной оказалась уже при концентрации 200 мг/кг, однако при следующей по величине концентрации (300 мг/кг) достоверных различий в частотах не обнаружено. Дальнейший рост концентрации меди в почве до 400, 500 и 1000 мг/кг приводил к увеличению суммарных частот мутаций до 13,7, 15,0, и 18,9% соответственно. Эти различия по сравнению с контролем Н-0 были статистически достоверны при $P < 0,01$. Если же сравнивать опытные частоты мутаций с контролем С-0 и собственным контролем В-0, то достоверное увеличение суммарных частот мутаций происходило при концентрации меди 400 ($P < 0,05$) и 500 мг/кг ($P < 0,01$) соответственно.

Регрессионный анализ динамики частот эмбриональных леталей показал, что зависимость их роста от концентрации меди и радионуклидов в почве может быть статистически достоверно

Таблица 5. - Коэффициенты уравнений, описывающих зависимость частот эмбриональных леталей от концентрации меди и удельной активности цезия в почве

Уровень удельной активности цезия. Бк/кг	Коэффициенты a_0 и a_1 уравнений			
	$y = a_0 + a_1x$		$y = a_0 + a_1 \sqrt{x}$	
	a_0	a_1	a_0	a_1
Низкий, 78	3,06	0,00919	1,243	0,310
Средний 1980	3,60	0,01475	1,034	0,474
Высокий, 4650	5,09	0,01544	2,169	0,512

(при $P < 0,01$) описана линейной и степенной зависимостями вида $y = a_0 + a_1x$ и $y = a_0 + a_1 \sqrt{x}$. Коэффициенты a_0 и a_1 для всех трёх блоков опыта и обеих зависимостей показаны в табл. 5.

Таким образом, при хроническом одновременном воздействии на растения меди и радионуклидов, находящихся в почве, частоты эмбриональных леталей возрастали интенсивнее, чем это происходило при воздействии только одного из этих факторов (рис. 2).

В одном из вариантов опыта использована почва с концентрацией радионуклидов, соответствующей плотности загрязнения 49 Ки/км². Конечно, такие плотности загрязнения в Тульской области отсутствуют. Однако распределение радионуклидов по вертикальному профилю не паханных участков крайне неравномерное (рис. 3). Поэтому для получения почвы со столь высоким содержанием радионуклидов на не паханных участках снимали верхние 3-4 см почвы. Вместе с тем валовое содержание радионуклида не отражает его возможную доступность растениям. Проведённые нами специально исследования показали, что на 10 год после выпадения радиоактивных осадков в результате аварии на ЧАЭС в почве очень мало радионуклидов, способных экстрагироваться дистиллированной водой или 1 н раствором уксуснокислого аммония. Тем не менее, по результатам наших измерений [11], содержание радионуклидов в растениях, выращенных на выщелоченном чернозёме с радиоактивным загрязнением в пределах 800-1100 Бк/кг, варьируется от 19 (зерно злаков) до 196 Бк/кг (стебли люцерны). Это явление обусловлено способностью растений экстрагировать минеральные компоненты почвы благодаря корневым выделениям [10]. Принимая это во внимание, можно предположить, что токсичность и мутагенность минеральных почвенных загрязнений будет определяться не столько валовым их содержанием и даже не подвижной фракцией (концентрация которой очень низка в результате связывания ионов почвенно-поглощающим комплексом), а химической

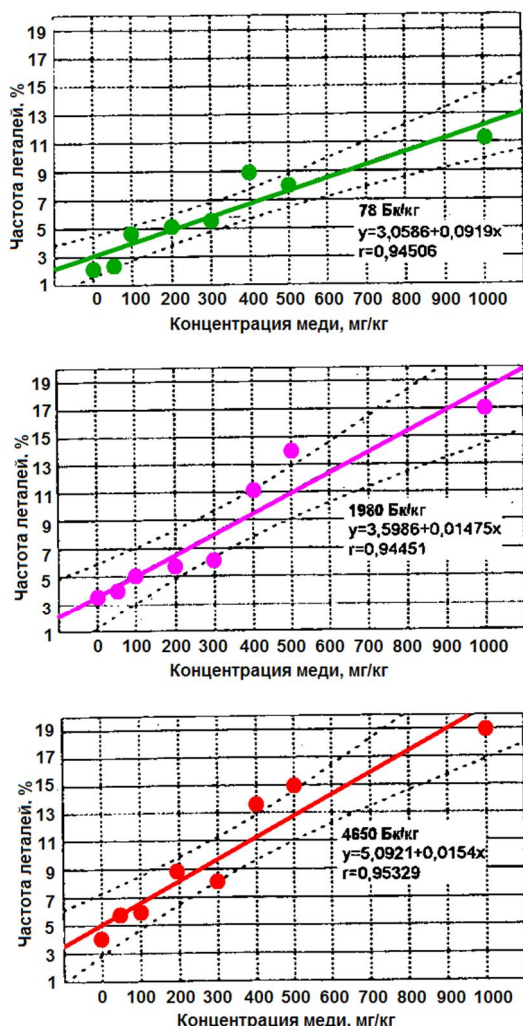


Рис. 2. Зависимости частот эмбриональных летальных мутаций у арабидопсиса от концентрации меди и радионуклидов цезия в почве.

не столько валовым их содержанием и даже не подвижной фракцией (концентрация которой очень низка в результате связывания ионов почвенно-поглощающим комплексом), а химической

активностью корневых выделений тех растений, которые растут на этих почвах. Отсюда следует вывод, что для растений токсическая и мутагенная опасность загрязнений почв тяжёлыми металлами будет зависеть не только от физико-химических свойств почв, но и от физиологических особенностей растений. Этот аспект проблемы тесно связан с вопросами видовых различий в чувствительности к химическим мутагенам и ионизирующей радиации. В отношении последнего фактора проблема ещё более усложняется особенностями биологического действия малых доз радиации [12].

Широко известна пластичность растений при адаптации к различным химическим мутагенам [9] и радиоактивности [7]. Поэтому, пытаясь экстраполировать полученные результаты на природные популяции растений, обитающие в зонах загрязнения, необходимо учитывать, что для проведения эксперимента были использованы семена тестерного вида растений, выращиваемых на экологически чистых почвах и чрезвычайно чувствительных к внешним воздействиям. Поэтому можно предположить, что в природных популяциях растений, вынужденных адаптироваться к химическому и радиационному загрязнению, адаптационные механизмы могут до некоторой степени нивелировать отмеченные нами процессы.

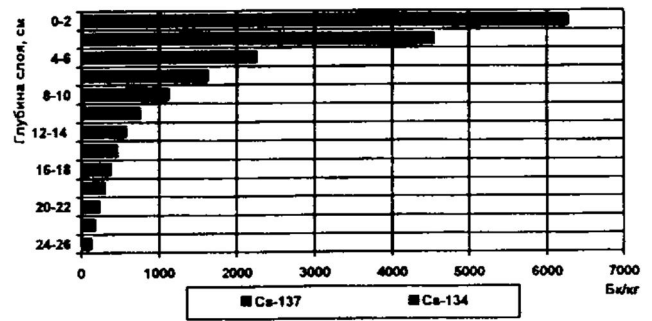


Рис.3. Распределение радионуклидов цезия в почве на паханных участках.

4. Выводы

1. Внесение в выщелоченный чернозём меди в концентрациях 50-1000 мг/кг дополнительно к фоновому содержанию не оказывало закономерного влияния на размах изменчивости суммарного количества семян, образующихся в стручках арабидопсиса, но снижало их среднее количество; статистически достоверное уменьшение последней величины происходило при концентрации меди 200-400 мг/кг почвы.

2. Увеличение удельной активности радионуклидов в почве с 78 до 1980 и 4650 Бк/кг приводило к статистически недостоверному снижению частоты нормальных эмбрионов с 86,6 до 76,6%. Добавление в почву меди вызывает снижение частоты нормальных эмбрионов в стручках, которое становилось статистически достоверным при концентрации металла 300-500 мг/кг.

3. При одновременном хроническом воздействии радионуклидов и меди образование стерильных семян происходило более интенсивно, чем при воздействии каждого из факторов отдельно.

4. При хроническом одновременном воздействии на растения меди и радионуклидов, находящихся в почве, частоты эмбриональных леталей возрастали интенсивнее, чем это происходило при воздействии только одного из факторов.

5. Сочетанное хроническое воздействие ионов меди и ионизирующего излучения радионуклидов, попавших в экосистемы в результате техногенного загрязнения, может интенсифицировать мутагенез у некоторых форм живых организмов и/или вести к отбору форм, наиболее устойчивых к этим факторам.

Литература

1. Гераськин С.А. Критический анализ современных концепций и подходов к оценке биологического действия малых доз ионизирующего излучения // Радиационная биология. Радиоэкология.- 1995. -Т. 35, №5. -С. 563-571.
2. Гераськин С.А. Концепция биологического действия малых доз ионизирующего излучения на клетки // Радиационная биология. Радиоэкология.- 1995.- Т.35, -№ 5.- С. 571-580.
3. Государственный доклад «О состоянии окружающей природной среды Российской Федерации в 1994 году» // Экос. -1995, -№3-4. - С. 2-124.
4. Ильин В.Б. Тяжелые металлы в системе почва-растение.- Новосибирск: Наука, 1991.- 150 с.

5. *Крюков В.И., Шишкин В.Л., Соколенко С.Ф.* Влияние хронического воздействия азотнокислого свинца и ионизирующего излучения на мутагенез у *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh //Радиационная биология. Радиоэкология. - 1996. - Т.36, -№ 2. -С. 209-218.
6. *Кулаичев А.П.* Статистическая диалоговая система «STADIA 4.5». Руководство пользователя.- М.: Изд-во НПО «Информатика и компьютеры», 1991.- 165 с.
7. *Моссэ И.Б., Савченко В.К. Лях И.П.* Некоторые закономерности формирования адаптивной реакции популяций // Проблемы экологии Прибайкалья (Тез. докл. III Всесоюзн. научн. конф.). - Иркутск, 1988. - Ч. 1.-С.41.
8. *Мур Д.В., Рамамурти С.* Тяжёлые металлы в природных водах. Контроль и оценка влияния.- М.: Мир, 1987.-285 с.
9. *Порошенко Г.Г.* Возможна ли адаптация к мутагенам? //Природа.- 1987, -№ 3.-С. 101-102.
10. *Рубин Б.А.* Курс физиологии растений.- М : Высшая школа, 1971 - 672 с.
11. *Северов В.И., Калашиников К.Г., Крюков В.И.* Конструирование агроценозов в условиях загрязнения почв радионуклидами // Производство экологически безопасной продукциирастениеводства. Региональные рекомендации. Вып. 2.- Пушино: Изд-во РАСХН, 1996. С. 15-17.
12. *Усманов П.Д., Мюллер А.* Применение эмбрион-теста для анализа эмбриональных леталей, индуцированных облучением пыльцевых зерен *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. // Генетика,- 1970. -Т.6, №7. -С. 50-60.
13. *Hsieh D.P.* Genotoxic agents in the agro-ecosystem. Chairman's comments // «Genet.Toxicol.: Agr. Perspect. Proc. Symp., Davis, Calif, 1-5 Nov., 1981». -New York, London, 1982. - P. 117-118.
14. *Redei G.P.* Mutagen assay with *Arabidopsis*. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program // Mutat. Res. - 1982 -V. 99, -№2. -P. 243-255.

Summary

MUTAGENESIS IN ARABIDOPSIS THALIANA AS A RESULT OF THE INFLUENCE OF THE ACTION OF COPPER SULPHATE AND IONISING RADIATION

V. I. Kryukov

The embryonic lethal mutation rate was analyzed in *Arabidopsis* plants, which has grown on the ground (black earth, chernozem) with three gradation of radioactive isotopes of cesium (78, 1980 and 4650 Bq/kg) and various contents of the copper (0, 50, 100, 200, 300, 400, 500 and 1000 mg/kg).

The average number of seeds in pods decreased with the increasing of a copper concentration in the ground. Statistically, the authentic reduction of this value occurred since concentration 200-400 mg Cu⁺²/kg of the ground. A chronic influence of copper ions and the ionizing radiation due to radioactive cesium being in the ground caused higher embryonic mutation frequency, than when only one of the factors influenced.

An increase of specific activity of ¹³⁴⁺¹³⁷Cs in the ground from 78 up to 1980 and 4650 Bq/kg brought in statistically doubtful decrease of a normal embryo frequency from 86,6 up to 76,6%. An addition of copper in the ground causes a reduction of the normal embryo frequency in pods, which became statistically authentic at the concentration of metal of 300-500 mg/kg. A formation of sterile seeds occurred more heavily under a simultaneous chronic influence of the radioactive isotopes of cesium and copper ions, than under influence of each of the factors separately. The embryonic mutation rates grew more heavily with the chronic simultaneous influence of copper and radioactive isotopes of cesium on plants, than when only one of the factors influenced.

Оформление библиографической ссылки:

Крюков, В.И. Мутагенез у *Arabidopsis thaliana* при сочетанном действии сернокислой меди и ионизирующего излучения / В.И. Крюков // Вестник новых медицинских технологий –1998 –Т. 5, № 2 –С. 22-25.