

## ВЛИЯНИЕ ТЕРМИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ДО РЕНТГЕНОБЛУЧЕНИЯ НА ВОЗНИКНОВЕНИЕ АБЕРРАЦИЙ ХРОМОСОМ У ПШЕНИЦЫ

Ионизирующие излучения наряду с другими изменениями в клетках вызывают структурные изменения хромосом основных носителей наследственной информации—аббераций хромосом. Принято вообще считать, что действие радиации приводит к появлению двух типов генетических изменений: точковых (генные мутации, микроабберации) и структурных (абберации хромосом) мутаций хромосом (Дубинин, 1966). Механизм возникновения аббераций хромосом впервые сформулирован Левитским и Араратяном (1931). Они установили, что структурные изменения хромосом под влиянием рентгеновых лучей (X-лучей) носят случайный, неправильный характер, являются первичным актом воздействия излучений.

Дальнейшим развитием этого представления можно считать распространенную гипотезу Сакса, согласно которой выход хромосомных аббераций определяется сочетанием отдельных событий ионизации и механических эффектов (состояние, движение хромосом, вероятность воссоединения, перекombинаций и др.), (Sax, 1950; Циммер, 1962; Ли, 1963; Тимофеев-Ресовский, 1963; Дубинин, 1962, 1963, 1966).

О механизме образования разрывов хромосом имеется альтернативная гипотеза, по которой абберации реализуются через изменения в химическом состоянии, в метаболизме кариоплазмы и цитоплазмы (Лучник, 1956; Нуждин и др., 1963, 1965; Вольф, 1963 и др.).

Относительно первичных цитогенетических повреждений имеются разные высказывания и представления, в основном примыкающие к одной из вышеуказанных гипотез. В отношении образования аббераций хромосом Н. В. Лучник их разделяет на четыре группы (Лучник, 1965).

Известно, что в конечном счете в судьбе радиационных повреждений играют большую роль процессы восстановления. В отношении последнего исследователи придерживаются мнения, что эти процессы зависят от физиолого-структурного состояния организмов.

Именно процессы восстановления исходной структуры или состояния «вуализуют» механизмы первичного действия радиации. Считается, что радиация наряду с эффективным разрывом нуклеопротеидных нитей вызывает потенциальные изменения участков хромосом, которые в определенных условиях могут реализоваться в истинный разрыв или же восстановиться до исходной структуры (репарация), (Дубинин, 1966; Щербаков, 1965 и др.).

Исследованиями Н. П. Дубинина и сотрудников (1964) обнаружено явление цепной реакции в протекании процесса образования аббераций хромосом. Сущность этого явления заключается в том, что хромосомы

после однократного воздействия мутагеном приобретают способность в ряде клеточных поколений наращивать количество мутаций до некоторого высокого уровня.

Это показывает весьма сложный характер возникновения и реализации мутаций хромосом после воздействия мутагенами.

Общепризнанным является модифицирующее влияние физиологического состояния организмов и сопутствующих условий во время и после облучения на эффект радиации. «Радиогенетический эффект зависит от многих факторов внутренней и внешней среды, он может быть как сенсibilизирован (усилен), так и подавлен (защитное действие факторов среды)», (Дубинин, 1963, стр. 187).

Совместное применение различных агентов с радиооблучением способствует выяснению механизма первичного действия ионизирующих излучений, роль физиологическо-структурного состояния организмов в их радиоустойчивости. С генетической точки зрения это важно еще и в том отношении, что такие приемы дают возможность изменять ход процессов, ведущих к появлению радиационных мутаций, увеличить или уменьшить их общее количество. Более того, в последнее время установлена возможность изменения количественных соотношений типов мутаций, уменьшения количества перестроек хромосом с сохранением высокого уровня точковых мутаций. Хвостова, Эльшунни (1965), Эльшунни, Хвостова, Столетов (1965), Хвостова (1966) показали, что при облучении семян  $\gamma$ -лучами на сухом льду при температуре  $-78^{\circ}\text{C}$  с последующим тепловым шоком ( $60^{\circ}\text{C}$  в течение 30 сек.) и замачиванием в течение 1,5 часов в дистиллированной воде (бескислородная среда) снимается часть хромосомных перестроек, тогда как количество мутаций (в %) в  $M_2$  остается высоким.

Одним из факторов, модифицирующих физиологическое и цитогенетическое действие радиооблучения на живые объекты, является высокая (супероптимальная, сублетальная) температура.

Исследованиями показано, что термическое воздействие на семена перед облучением способствует снижению количества aberrаций хромосом (Caldecott, Smith, 1952; Gaul, 1957; Шапиро, Бочарова, 1960; Шапиро, Протопопова, 1964 и др.).

Имеется представление, согласно которому температурный эффект проявляется на базе кислородного эффекта. Результаты некоторых исследований не согласуются с этим представлением (Faberge, 1954; Конгер, 1963; Бабаян, 1965 и др.).

Изучая влияние температурного воздействия ( $53^{\circ}\text{C}$ ) на семена ячменя после облучения  $\gamma$ -лучами (учитывалось количество aberrаций хромосом), Шапиро и Бочарова (1960) приходят к выводу, что действия кислорода и температуры независимы друг от друга. В другой работе, обсуждая данные опытов по влиянию термических воздействий ( $85^{\circ}\text{C}$ ) до облучения семян ячменя, авторы приходят к выводу, что температурный эффект является модификацией кислородного эффекта.

Выяснение сущности модифицирующего действия, предшествующего облучению высоких температур, представляет значительный интерес для расшифровки цитогенетического действия ионизирующих излучений.

Этим диктуется необходимость более детального изучения этого явления и накопления экспериментальных данных.

Под влиянием высоких температур в растительных клетках происходят физиолого-структурные изменения, степень которых зависит от температуры воздействия и времени, в течение которого организм находится в условиях данной температуры.

После термического воздействия эти изменения со временем восстанавливаются, приближаясь к норме (Александров, 1956, 1964).

Рабочим представлением, по которому мы планировали наши опыты, было следующее: под влиянием высоких температур угнетается метаболизм у растений, это состояние во многом сходно с состоянием вынужденного покоя и является причиной более высокой радиостойкости семян. Поскольку после термических воздействий угнетенные функции клеток восстанавливаются, то радиочувствительность соответственно будет изменяться.

Изменение общей радиочувствительности, сопряженное с восстановлением проницаемости для электролитов, нами описано в другой работе. В настоящей работе приводятся данные об изменении количества хромосомных aberrаций, вызванных рентгенооблучением в зависимости от времени после термического воздействия.

Опыты проводились с сухими и наклюнувшими семенами сорта Эритролеукоп 12 (Tr. aest. var. erythroleucon Körn) и Украинка (Tr. aest. var. erythrospermum Körn).

Сухие семена во время обработки заключались в полиэтиленовые мешочки, во избежание замочки семян во время обработки в водяном термостате. Облучение проводилось аппаратом РУМ-11 при 185 кв, 18 ма, мощность дозы 500 р/минут.

У проростков фиксировался конус нарастания. Фиксация велась измененным фиксатором Карнуа (смесь 96° этилового спирта и ледяной уксусной кислоты 3:1). Проростки фиксировались через 48 часов после замачивания семян. Готовились давленные временные препараты, которые окрашивались ацето-орсеином по Ла Куру. Учтено общее количество анафазных клеток, в том числе клеток с хромосомными aberrациями.

Результаты этих опытов показывают, что количество клеток с хромосомными aberrациями значительно изменяется в зависимости от времени после термических воздействий.

Таблица 1

Выход клеток с хромосомными aberrациями в конусе нарастания пшеницы сорта Эритролеукоп 12 в зависимости от времени облучения после термического воздействия при 70°C, 10 минут. Доза облучения 10 кр

| № варианта опыта | Время облучения после теплообработки      | Количество проростков с анафаз | Из них с хромосомными aberrациями |          | Достоверность различия (t) от варианта 1 | Достоверность различия (t) от варианта 2 |
|------------------|-------------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|----------|------------------------------------------|------------------------------------------|
|                  |                                           |                                | кол-во                            | %        |                                          |                                          |
| 1                | Облучение                                 | 400                            | 294±6,36                          | 73,5±1,6 | —                                        | 12,6                                     |
| 2                | Теплообработка + облучение сразу          | 400                            | 189±5,28                          | 47,2±1,3 | 12,6                                     | —                                        |
| 3                | Теплообработка + облучение через 6 часов  | 400                            | 263±6,40                          | 67,7±1,6 | 3,4                                      | 8,9                                      |
| 4                | Теплообработка + облучение через 12 часов | 400                            | 283±8,08                          | 70,7±2,0 | 1,0                                      | 10,1                                     |

t = 3,5 при вероятности P = 0,01.

Выход хромосомных aberrаций существенно изменяется у сухих семян в зависимости от времени облучения после термического воздействия. При облучении сразу же после термического воздействия количество анафаз с хромосомными aberrациями снижается от 73,5 до

47,2%, при облучении через 6 и 12 часов после термической обработки количество поврежденных клеток повышается.

Таблица 2

Выход клеток с хромосомными aberrациями в конусе нарастания у наклюнувших семян пшеницы сорта Эритролеукоп 12 в зависимости от времени облучения после термического воздействия при 40° С, 10 минут. Доза облучения 1 кр

| № варианта опыта | Время облучения после теплообработки      | Количество просмотренных анафаз | Из них с хромосомными aberrациями |          | Достоверность различия (t) от варианта 1 | Достоверность различия (t) от варианта 2 |
|------------------|-------------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|----------|------------------------------------------|------------------------------------------|
|                  |                                           |                                 | кол-во                            | %        |                                          |                                          |
| 1                | Облучение                                 | 250                             | 196±6,0                           | 78,4±2,4 | —                                        | 7,2                                      |
| 2                | Теплообработка + облучение сразу          | 250                             | 140±6,5                           | 56,0±2,6 | 7,2                                      | —                                        |
| 3                | Теплообработка + облучение через 30 минут | 250                             | 129±4,0                           | 51,6±1,6 | 10,3                                     | 1,4                                      |
| 4                | Теплообработка + облучение через 2 часа   | 250                             | 174±4,0                           | 69,6±1,6 | 3,4                                      | 3,5                                      |
| 5                | Теплообработка + облучение через 3 часа   | 250                             | 137±12,5                          | 54,8±5,0 | 4,3                                      | 0,0                                      |

t=4,3 при вероятности P=0,01.

Облучение семян в разное время после термических воздействий дает различное количество aberrантных клеток.

Сходная картина наблюдается при облучении замоченных семян (но не наклюнувшихся), сорт Украинка.

Таблица 3

Выход хромосомных aberrаций в конусе нарастания у замоченных семян пшеницы сорта Украинка в зависимости от времени облучения после термического воздействия при 40°С, 10 минут. Доза облучения 1 кр

| № варианта опыта | Время облучения после теплообработки      | Количество просмотренных анафаз | Из них с хромосомными aberrациями |          | Достоверность различия (t) от варианта 1 | Достоверность различия (t) от варианта 3 |
|------------------|-------------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|----------|------------------------------------------|------------------------------------------|
|                  |                                           |                                 | кол-во                            | %        |                                          |                                          |
| 1                | Облучение                                 | 300                             | 187±4,8                           | 62,3±1,6 | —                                        | 7,2                                      |
| 2                | Теплообработка + облучение сразу          | 300                             | 171±5,3                           | 57,0±1,8 | 2,3                                      | —                                        |
| 3                | Теплообработка + облучение через 30 минут | 300                             | 144±7,2                           | 48,0±2,4 | 5,0                                      | 1,4                                      |
| 4                | Теплообработка + облучение через 2 часа   | 300                             | 217±3,5                           | 72,3±1,2 | 5,1                                      | 3,5                                      |
| 5                | Теплообработка + облучение через 3 часа   | 300                             | 207±6,0                           | 69,0±2,0 | 2,6                                      | 0,0                                      |

t=3,71 при вероятности P=0,01.

Данные опыта показывают, что устойчивость хромосом к рентген-облучению значительно повышается благодаря предшествующей рентгенооблучению теплообработке.

Радиочувствительность по выходу количества хромосомных aberrаций достоверно различна в разное время после термических воздействий.

Как уже было сказано, радиочувствительность семян пшеницы по

показателям начального роста тоже изменяется в зависимости от времени после термических воздействий.

В литературе приводятся данные о влиянии физиологического состояния на цитогенетическую радиочувствительность растительных организмов.

По данным Вольфа (1963), ингибиторы клеточного метаболизма препятствуют восстановлению радиационных повреждений, в частности восстановлению структуры хромосом.

С. А. Валева (1964) установило, что ослабление энергетического обмена в проростках кукурузы введением 2,4-динитрофенола повышает количество перестроек после воздействия гамма-облучения.

Thornley (1965) указывает, что «состояние обмена после облучения оказывает влияние на цепь событий, ведущих от начальных поражений, обусловленных радиацией, до конечного проявления этих поражений» (стр. 199, 1965).

Нуждин и другие (1963) изучали радиоустойчивость семян ячменя в органическом и вынужденном покое. Они показали, что выход хромосомных aberrаций зависит не только от физических условий облучения, но и от физиологического состояния облученных семян. В другой работе (1965) эти исследователи показали, что выход хромосомных aberrаций у семян пшеницы изменяется под влиянием ингибиторов (левомецитин, стрептомицин) и активаторов (АТФ) клеточного метаболизма.

Батыгин и Мисюк (1965) связывают радиочувствительность с вязкостью протоплазмы.

Исследования В. О. Бабаян и других (1964) показали разную радиочувствительность семян пшеницы разной спелости.

Известно, что неглубокие термические повреждения с течением времени восстанавливаются. Например, изучение изменения проницаемости для электролитов у семян и проростков пшеницы после термических воздействий показало, что с течением времени повышенная проницаемость снижается, приближаясь к норме (Бабаян, Мусаелян, 1967). Данные по восстановлению термических повреждений и снижению радиочувствительности сходны. Угнетенные термическими воздействиями жизненные функции с течением времени постепенно восстанавливаются, вследствие чего растения становятся более поражаемыми рентгенооблучением.

Состояние семян после термического воздействия можно уподобить состоянию вынужденного покоя (с точки зрения угнетения метаболизма). Известно, что радиоустойчивость организмов в состоянии покоя намного выше по сравнению с жизнедеятельным состоянием.

На основании полученных результатов можно предполагать, что термический эффект появляется на базе таких физиолого-структурных изменений, порождаемых термическим воздействием, которые характерны для угнетенной жизнедеятельности растений. Облучая семена в разные сроки после термического воздействия, можно в определенных пределах управлять общим и цитогенетическим эффектом рентгенооблучения.

ՄԻՆԶ ՌԵՆՏԳԵՆՅԱՆ ՀԱՌԱԳԱՅԹԱՀԱՐՈՒՄԸ ԿԱՏԱՐՎԱԾ ՋԵՐՄԱՅԻՆ  
ՄՇԱԿՄԱՆ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՑՈՐԵՆԻ ՄՈՏ ՔՐՈՄՈՍՈՄԱՅԻՆ  
ԽՈՏՈՐՈՒՄՆԵՐԻ (ԱԲԵՐՐԱՅԻԱՆԵՐԻ) ԱՌԱՋԱՑՄԱՆ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Հետազոտությունը կատարվել է ելնելով այն պատկերացումից, որ բարձր ջերմությունը ձնշում է նյութափոխանակությունը սերմերում, ստեղծելով յուրատեսակ հանգստի վիճակ, որը և բարձր ճառագայթազիմացկունության պատճառ է դառնում:

Ջերմային մշակումից հետո, տարբեր ժամկետներում ճառագայթաճարված սերմերը ծլեցվել են և նրանց մոտ հաշվառման է ենթարկվել քրոմոսոմային խոտորումների (աբերացիաների) քանակը: Պարզվել է, որ այդ քանակի փոփոխությունը մեծ չափով կախված է ճառագայթաճարման ժամանակից:

Նկատվում է զուգահեռ պրոցես ջերմային վնասվածքի վերականգնման և ճառագայթազգայնության բարձրացման միջև: Ճառագայթաճարելով սերմերը, տարբեր ժամանակ ջերմային ազդեցությունից հետո, որոշակի սահմաններում կարելի է դեկավարել ճառագայթաճարման ընդհանուր և ցիտոգենետիկական ազդեցությունը:

R. S. BABAYAN, R. B. HAIRAPETIAN, M. S. MUSAEIAN

EFFECT OF THERMAL TREATMENT ON THE CAUSE OF  
CHROMOSOME ABERRATIONS IN THE WHEAT BEFORE BEING  
SUBJECT TO X-IRRADIATION

Summary

This study is based on the fact that high temperature suppresses the metabolism in the seeds, creating a specific kind of stable state, which causes them to acquire a high radiostability. Following the thermal treatment, the seeds, irradiated in different dates, were let to sprout and the amount of chromosome aberrations in them were calculated. The amount was found to be dependent largely on the duration of irradiation. There seems to be a parallel process between the restoration of thermal injury and the increase of irradiation sensibility. By irradiating the seeds in different dates following the thermal treatment, it should be possible to some extent to regulate the general and cytogenetic effect of irradiation.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александров В. Я. «Бот. журнал», т. 41, № 7, 1956.
2. Александров В. Я. В кн.: «Клетка и температура среды», изд. «Наука», 1964.
3. Бабалян В. О., Авакян Д. О., Бабалян Р. С., Азатян Р. А. «Изв. АН Арм. ССР», биолог. науки, XVII, № 12, 1964.

4. Бабалян Р. С. «ДАН Арм. ССР», т. XLI, № 1, 1965.
5. Бабалян Р. С., Мусаелян М. С. «Биологический журнал Армении» АН Арм. ССР, т. XX, № 5, 1967.
6. Батыгин Н. Ф., Мисюк Л. А. «Радиобиология», т. V, № 5, 1965.
7. Валева С. А. «Радиобиология», IV, № 4, 1964.
8. Валева С. А. «Генетика», № 2, 1965.
9. Дубинин Н. П. Проблемы радиационной генетики, Атомиздат, 1962.
10. Дубинин Н. П. Молекулярная генетика и действие излучений на наследственность, Атомиздат, 1963.
11. Дубинин Н. П. Эволюция популяций и радиация, Атомиздат, 1966.
12. Дубинин Н. П. Руководство по цитологии, т. 2, изд. «Наука», 1966.
13. Дубинин Н. П., Сапрыкина Е. Г. ДАН СССР, 158, 1964.
14. Вольф Ш. В кн.: «Восстановление клеток от повреждений», Атомиздат, 1963.
15. Конгер А. Д. Там же.
16. Левитский Г. А. и Араратян А. Г. Тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции, т. 27, вып. 1, 1931.
17. Ли Д. Е. Действие радиации на живые клетки, Госатомиздат, 1963.
18. Лучник Н. В. Биофизика, № 1, 1956.
19. Лучник Н. В. «Радиобиология», информационный бюллетень, № 7, 1965.
20. Нуждин Н. И., Дозорцева Р. Л., Самохвалова Н. С. «Известия АН СССР», сер. биол., № 4, 1963.
21. Нуждин Н. И., Дозорцева Р. Л., Самохвалова Н. С. Труды института генетики, № 32, 1965.
22. Тимофеев-Ресовский Н. В. В кн.: «Первичные механизмы биологического действия ионизирующих излучений», изд. АН СССР, 1963.
23. Торилей М. И. (Thornley M. I.). В кн. «Радиационные эффекты в физике, химии и биологии», Атомиздат, 1965.
24. Хвостова В. В., Эльшунин К. А. «Радиобиология», т. V, № 1, 1965.
25. Хвостова В. В. Труды Моск. общества испыт. природы, т. 23, 1966.
26. Циммер К. Г. Проблемы количественной радиобиологии, Атомиздат, 1962.
27. Шапиро Н. И., Бочарова Е. М. и Белищина Н. В. ДАН СССР, т. 126, № 1, 1959.
28. Шапиро Н. И., Бочарова Е. М. ДАН СССР, т. 133, № 2, 1960.
29. Шапиро Н. И., Протопопова Е. М. «Радиобиология», т. IV, вып. 2, 1964.
30. Щербakov В. К. «Радиобиология», инф. бюллетень, № 7, 1965.
31. Эльшунин К. А., Хвостова В. В., Столетов В. К. «Генетика», 1, № 3, 1965.
32. Caldecott R., Smith L. «Genetics», 37, 1952.
33. Faberge A. C. «Radiation Res.», 1, 1954.
34. Gaul H. «Pflanzenzucht», 38, 1957.
35. Sax K. «J. Gen. Physiol.», 25, 1942.