

## ВЛИЯНИЕ УФ-В-ИЗЛУЧЕНИЯ НА ИНДУКЦИЮ РАДИОАДАПТИВНОГО ОТВЕТА У РАСТЕНИЙ

О. А. Данильченко, Д. М. Гродзинский

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Киев

Истощение озонового слоя вследствие антропогенного загрязнения атмосферы сопровождается увеличением интенсивности УФ-излучения и сдвигом его спектра в коротковолновую сторону, что обуславливает усиление различных биологических эффектов облучения. В частности, увеличивается частота цитогенетических повреждений, интенсивность мутагенеза, повышается чувствительность растений к увеличившимся уровням УФ и снижается урожайность сельскохозяйственных культур. Важное значение в приспособлении растений к УФ-излучению имеет радиоадаптивный ответ растительного организма. Показано, что радиоадаптивную реакцию вызывает не только облучение в малых дозах ионизирующей радиацией, но и УФ-лучами. При этом радиоадаптивный ответ имеет неспецифический характер, что проявляется в повышении устойчивости к УФ-облучению.

В результате воздействия антропогенных выбросов наблюдается уменьшение содержания озона в атмосфере, что оценивается как ослабление озонового слоя к действию УФ-излучения. Озоновый слой предотвращает проникновение УФ-излучения с длиной волны менее 295 нм на поверхность Земли. На основании различий в проникающей способности и фотохимической активности биологический диапазон УФ делят на три части: А (400 - 320 нм), В (320 - 280 нм) и С (280 - 180 нм). На сегодняшний день установлено, что из достигающей поверхности Земли УФ-радиации максимальной биологической активностью характеризуется УФ-В-область спектра [1, 2].

В настоящее время истощение озонового слоя сопровождается увеличением интенсивности наиболее биологически эффективной УФ-В-компоненты естественной УФ-радиации, достигающей поверхности Земли. Редукция озонового слоя представляет существенную опасность для высших растений. Около 70 % сортов культурных растений характеризуются высокой чувствительностью к УФ-излучению [3]. В связи с этим изучение механизмов биологического действия УФ-радиации и поиск эффективных методов защиты и повышения устойчивости растений к повреждающему действию ультрафиолета имеют значительную практическую ценность.

Одним из процессов, сформировавшихся в процессе эволюции как общая защитная реакция на повреждающее действие различных стрессоров, является реакция адаптивного ответа - повышение устойчивости клеток организма к большим повреждающим дозам токсических и генотоксических агентов после предварительного воздействия тех же или других агентов в малых дозах [4].

Радиоадаптивный ответ регистрируется по различным проявлениям реакции клеток на облучение: количеству повреждений ДНК, образованию хромосомных aberrаций и микроядер, клеточной выживаемости, величине митотического индекса, генным мутациям [5].

По выживаемости или ростовым реакциям также четко проявляется адаптивный ответ организма на предварительное облучение в малой дозе [3].

Задачей данной работы было исследование и оценка условий проявления и развития неспецифической адаптивной реакции у растений, индуцированной малыми дозами УФ-В и  $\gamma$ -радиации.

## Материалы и методы

Как объект исследования использовали *Arabidopsis thaliana*, линия С-24 (*Glabrous wild type*). Растения выращивались в пластиковых чашках Петри на питательной среде

Ленгриджа - Квитко при 22 °С. Семена стерилизовали в смеси 96 % этанола и 3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Трехдневные проростки были разделены на четыре экспериментальные группы.

Первая группа проростков облучалась в широком диапазоне доз УФ-В (0,002 – 6,15 кДж/м<sup>2</sup>), вследствие чего была определена ЛД<sub>50</sub> для УФ-В. Облучение производили однократно с помощью лампы Philips TL20W/12.

Вторая группа проростков облучалась малыми дозами  $\gamma$ -облучения (от 0,4 до 0,8 Гр) с последующим воздействием тестирующей дозы УФ-В (ЛД<sub>50</sub>). Интервал времени между этими двумя воздействиями составлял от 30 мин до 2 ч. Облучение проводили на рентгеновском аппарате РУМ-17 (мощность дозы 0,43 рад/с).

Третья группа проростков подвергалась комбинированному воздействию малых доз УФ-В-облучения (от 0,008 до 0,068 кДж/м<sup>2</sup>) и большой тестирующей дозы  $\gamma$ -облучения (ЛД<sub>50</sub> - 17 Гр). Временной интервал между двумя воздействиями варьировал от 30 мин до 2 ч.

Четвертая группа проростков – контрольные необлученные растения.

Для оценки эффектов облучения использовали относительную скорость роста проростков, средний рост и выживаемость растений на 10 – 12-й день после облучения. Статистическую обработку результатов производили с помощью программы CORDIF.

### Результаты и выводы

Исходя из дозовой зависимости можно утверждать, что ЛД<sub>50</sub> для проростков первой группы составила 0,17 кДж/м<sup>2</sup> и в дальнейшем эту дозу использовали как тестирующую (рис. 1).

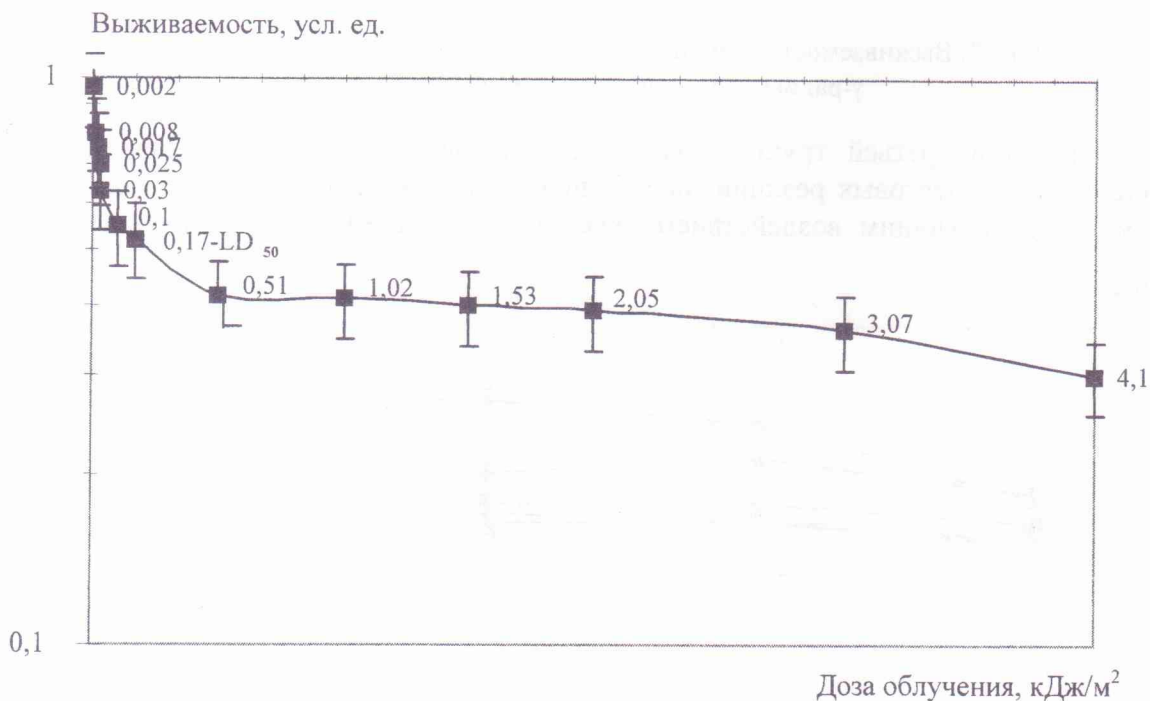


Рис. 1. Зависимость выживаемости первой группы проростков *Arabidopsis thaliana* от дозы УФ-В.

Полученные результаты показали, что у растений первой группы при облучении дозой 0,17 кДж/м<sup>2</sup> наблюдалась 50 %-ная смертность по отношению к контролю. В дальнейшем отмечалось снятие апикального доминирования и активный рост боковых корней. На 8 - 10-й день после облучения рост главного корня полностью прекращался, апексы корней бурели. У растений второй группы наблюдалось повышение выживаемости на 30 % по сравнению с растениями первой группы. Также было отмечено увеличение скорости ростовых процессов, которая приблизилась к показателям необлученных растений

четвертой группы. Повышение выживаемости и интенсификация ростовых реакций наблюдались наиболее интенсивно при определенных условиях: при дозах  $\gamma$ -облучения 0,6 Гр и временном интервале между дозами 1 ч - 1ч 30 мин (рис. 2).



Рис. 2. Выживаемость второй группы *Arabidopsis thaliana* после облучения  $\gamma$ -радиацией (малые дозы) и УФ-В ( $LD_{50}$ ).

У проростков третьей группы также наблюдались повышение выживаемости и увеличение скорости ростовых реакций (рис. 3) при облучении адаптирующей дозой УФ-В  $0,05 \text{ кДж/м}^2$  с последующим воздействием через 1 ч – 1 ч 30 мин тестирующей дозы

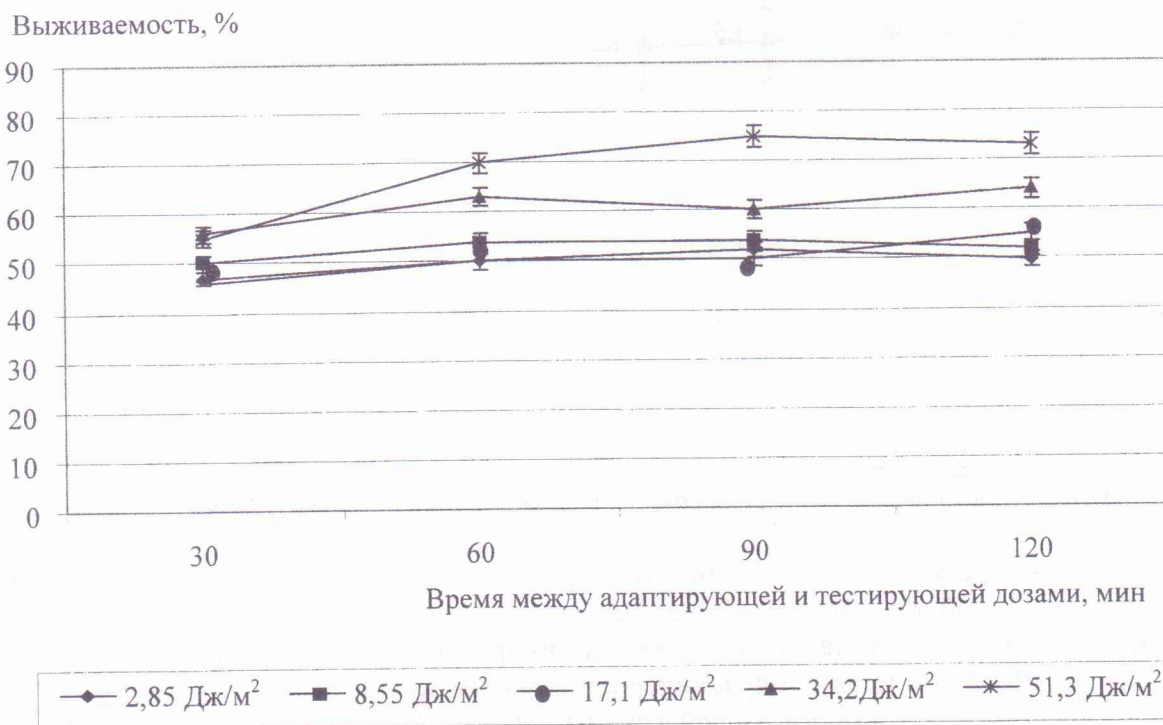


Рис. 3. Зависимость выживаемости растений третьей группы от адаптирующей УФ-В-дозы и временного интервала между адаптирующей и тестирующей ( $\gamma$ -излучение) дозами.

$\gamma$ -облучения, которая составила 17 Гр (рис. 4). Таким образом, полученные данные показывают наличие взаимозаменяемого адаптивного ответа при влиянии УФ-В и  $\gamma$ -облучения, что свидетельствует о неспецифичности адаптивной реакции и возможности модификации устойчивости растений к повреждающему воздействию УФ-В.



Рис. 4. Зависимость относительной скорости роста третьей группы проростков арабидопсиса от адаптирующей дозы УФ-В и времени между адаптирующей и тестирующей ( $\gamma$ -излучение) дозами.

Эксперименты с ферментами рестрикции показали, что индукция повреждений ДНК может приводить к повышению радиорезистентности [6]. Предполагается, что разрывы ДНК могут быть триггерами адаптационного механизма, обуславливая переключение клетки в новый режим функционирования. При воздействии малых адаптирующих доз  $\gamma$ -радиации, по сравнению с ультрафиолетом [7], образование односторонних разрывов ДНК происходит в большей степени, поэтому адаптивный ответ более выражен. Наличие радиоадаптивного ответа при интервалах времени 1 - 2 ч в некоторой степени совпадает с временными интервалами репарационных процессов у растений, что указывает на возможное участие систем репарации ДНК в формировании адаптивных реакций.

Адаптивный ответ относится к детерминистическим эффектам малых доз. Под влиянием малых доз ионизирующего излучения изменяется экспрессия определенных генов, в том числе и генов ферментов репарации, что отображается в адаптивном ответе клеток [8].

Предполагается, что активация систем репарации ДНК лежит в основе радиоадаптивного ответа. При этом происходит синтез дополнительных к конститутивным ферментов репарации, благодаря чему ускоряется восстановление возникших радиационных повреждений ДНК. Однако репаративный механизм не является единственно возможным. Скорее всего, реакция адаптивного ответа – это комплекс причин и механизмов, приводящих к формированию адаптации и формированию радиоустойчивости к различным стрессовым факторам, одним из которых является УФ-В-излучение [6]. Кроме того, необходимо учитывать также гетерогенность популяционного состава у растений. Исходя из теории естественного отбора, при непрерывно идущем процессе изменчивости популяция растений состоит из отличающихся по свойствам особей. Под давлением внешних факторов повышенной интенсивности происходит элиминация отдельных особей. В популяции остаются растения более устойчивые к стрессовым влияниям. Мы решили проанализировать,

наблюдается ли гетерогенность популяционного состава *Arabidopsis thaliana* к повышенным уровням УФ.

Полученная дозовая зависимость (см. рис. 1) носит многокомпонентный характер. Очевидно, внутри одной популяции существует три группы растений, различающихся по радиоустойчивости, и ЛД<sub>50</sub> для них будет варьировать. По нашему предположению, в данном случае гетерогенность популяции обусловлена эпигенетической изменчивостью. Исходя из вышесказанного, можно заключить, что эволюционный процесс приспособления растений к повышенным уровням УФ возможен. Это, однако, не снимает вопроса об изучении повышения радиорезистентности растений к стрессовым факторам окружающей среды (в том числе и УФ-В), интенсивность которых будет возрастать в ближайшие годы.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Стржижовский А. Д. Влияние ультрафиолетовой радиации повышенной интенсивности на растения: вероятные последствия разрушения стратосферного озона // Радиационная биология. Радиоэкология. - 1999. - Т.39, вып. 6. - С. 683 - 692.
2. Stapleton A. E. Ultraviolet radiation and plants: Burning questions // Plant Cell. - 1992. - Vol. 4, No. 11. - P. 1353 - 1358.
3. Гродзинский Д. М. Радиобиология. - Киев, 2000. - 448 с.
4. Пелевина И. И., Афанасьев Г. Г., Алещенко А. В. и др. Радиоиндуцированный адаптивный ответ у детей и влияние на него внешних и внутренних факторов // Радиационная биология. Радиоэкология. - 1999. - Т.39, вып. 1. - С. 106 - 112.
5. Филипович И. В. Феномен адаптивного ответа клеток в радиобиологии // Там. же. - 1991. - Т. 31, вып. 6. - С. 803 - 813.
6. Котеров А. Н., Никольский А. В. Молекулярные и клеточные механизмы адаптивного ответа у эукариот // Украинский биохимический журнал. - 1999. - Т. 71, вып. 3. - С. 13 - 23.
7. Тарасов В. А. Молекулярные механизмы репарации и мутагенеза. - М., 1982. - 226 с.
8. Засухина Г. Д. Радиоадаптивный ответ в клетках человека, различающихся по репарации ДНК // Радиационная биология. Радиоэкология. - 1999. - Т. 39, вып. 1. - С. 58 - 63.

#### ВПЛИВ УФ-В-ВИПРОМІНЮВАННЯ НА ІНДУКЦІЮ РАДІОАДАПТИВНОЇ ВІДПОВІДІ У РОСЛИН

О. О. Данильченко, Д. М. Гродзинський

Зменшення озонного шару внаслідок антропогенного забруднення атмосфери супроводжується збільшенням інтенсивності УФ-випромінювання і зсувом його спектра в короткохвильовий бік, що зумовлює підсилення різноманітних біологічних ефектів опромінення. Зокрема, зростає частота цитогенетичних пошкоджень, інтенсивність мутагенезу, підвищується чутливість рослин до збільшених рівнів УФ та знижується урожайність сільськогосподарських культур. Важливе значення в пристосуванні рослин до УФ-променів має радіоадаптивна відповідь рослинного організму. Показано, що радіоадаптивну реакцію викликає не тільки опромінення в малих дозах іонізуючою радіацією, але й УФ-промені. При цьому радіоадаптивна відповідь має неспецифічний характер, що знаходить свій прояв у підвищенні стійкості до УФ-опромінення.

#### PLANT'S ADAPTIVE RESPONSE UNDER UV-B-RADIATION INFLUENCE

O. A. Danilchenko, D. M. Grodzinsky

Reduction of ozone layer, owing to anthropogenic contamination of an atmosphere results in increase of intensity of UV-radiation and shift of its spectrum in the short-wave side that causes strengthening of various biological effects of irradiation. Consequences of these processes may include increase of injuring of plants and decrease of productivity of agricultural crops to increased UV levels. The important significance in the plant's adaptation to different unfavorable factors has the plant's radioadaptive answer. It has been shown that radioadaptation of plants occurred not only after irradiation with  $\gamma$ -radiation in low doses but after UV-rays action. Reaction of radioadaptation it seems to be nonspecific phenomenon in relation to type radiations.

Поступила в редакцию 28.05.02,  
после доработки – 22.10.02.