УДК 539/12/04 : 577

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНЫХ МЕХАНИЗМОВ ПОДАВЛЕНИЯ МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В КУЛЬТУРЕ ТКАНЕЙ, ДОНОРНЫЕ РАСТЕНИЯ КОТОРОЙ ПОДВЕРГАЛИСЬ ДЕЙСТВИЮ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ

А. А. Коноплева, Н. М. Рашидов, Д. М. Гродзинский

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Киев

В эксперименте использована каллусная культура табака крылатого *(Nicotiana alata* L.) из растений, выращенных в период вегетации при облучении со средней мощностью экспозиционной дозы 0,013мА/кг (контроль, Киев), 0,93, 9,3, 18,6 и 46,5 мА/кг (10-километровая зона ЧАЭС). Отмечено значительное снижение побего- и корнеобразования в культуре *in vitro* с увеличением дозовых нагрузок на донорные растения. Выясняются возможные механизмы подавления морфогенеза в культуре тканей облученных растений. Предполагается, что под действием хронического облучения на донорные растения утрачивается способность клеток реагировать на воздействие фитогормонов.

Введение

В формообразовании растений участвует такое важное явление, как наличие позиционной информации и ее воспроизведение клеткой. Под позиционной информацией понимается совокупность сигналов, которые определяют онтогенез данной группы клеток, что приводит к пуску процессов морфогенеза. Излучение способно воздействовать на позиционную информацию, приводя к ее ослаблению. Позиционная информация связана с сигнальной системой. Среди факторов сигнальной природы, определяющих характер морфогенеза, у растений самыми весомыми являются фитогормоны [1]. Нарушение формообразовательных процессов означает, что либо фитогормоны не синтезируются в необходимом количестве, либо клетка теряет способность ощущать их сигнальное участие в позиционной информации.

Исследования, проведенные ранее, показали существенное снижение морфогенетических показателей для каллуса, полученного от облученных растений из 10-километровой зоны ЧАЭС. Для того, чтобы выяснить причину снижения регенерационных способностей культуры *in vitro,* полученной из выросших под действием хронического облучения растений, в работе определялось эндогенное содержание фитогормона – индолилуксусной кислоты.

В работе в условиях радиоактивного загрязнения в районе ЧАЭС изучены морфогенетические эффекты и их возможные механизмы формирования в культуре тканей табака крылатого, донорные растения которой подвергались действию облучения в течение периода вегетации.

Материал и методика

Исследования проводили на культуре ткани *Nicotiana alata* L., полученной из подвергавшихся действию хронического облучения донорных растений в течение 75 сут в указанных ниже участках (табл. 1). В пределах прилегающей к промплощадке станции зоне были выбраны реперные точки, в которых выращивались в вегетационный период растения табака.

Для растений, вегетационный период которых проходил в Киеве (контроль), значение естественного фона равно 0,013 мА/кг. Для опытных растений, выращенных в реперных точках, мощность экспозиционной дозы представлена в табл. 1. Радиоактивность надземной сухой массы растений, взятых из участков с различным уровнем радиоактивного загрязнения, измеряли на гамма-спектрометре с анализатором АМА-АО2Ф1 с полупроводниковым

Таблица 1. **Режимы хронического облучения *Nicotiana alata* L. в 10-километровой зоне ЧАЭС в течение 75 сут вегетации**

№ опыта	Мощность экспозиционной дозы, мА/кг	Поглощенная доза, мГр			Суммарная поглощенная доза, мГр
		внешнего облучения	внутреннего облучения		
			созданного за счет бета-излучателей	созданного за счет гамма-излучателей	
1 (контроль)	0,013 ± 0,001	0,24 ± 0,024	0,066 ± 0,007	-	0,306 ± 0,03
2	0,93 ± 0,093	14,4 ± 1,44	3,6 ± 0,36	0,47 ± 0,047	18,47 ± 1,9
3	9,3 ± 0,93	144 ± 14,4	1,63 ± 0,16	0,85 ± 0,085	146,48 ± 14,7
4	18,6 ± 1,9	288 ± 28,8	8,1 ± 0,81	1,31 ± 0,13	297,41 ± 30
5	46,5 ± 4,65	420 ± 42	30,2 ± 3	1,58 ± 0,16	452,78 ± 45

германиевым детектором ДГДК-80 и на бета-радиометре РКБ4-1ем. Исходя из измеренной активности образцов, мощность поглощенной дозы бета- и гамма-излучения (Гр/с) рассчитывали по формулам, указанным в литературе [2 - 4]:

$$P_\beta = 1{,}38 \cdot 10^{-8} \cdot C \cdot f \cdot E_{ср},$$

где время в формуле выражено в сутках; C - удельная активность, Бк/кг; $E_{ср}$ - средняя энергия частиц, МэВ; f – выход излучения на распад;

$$P_\gamma = 6{,}5 \cdot 10^{-10} \cdot C \cdot \rho \cdot K_\gamma \cdot Z \cdot g,$$

где время в формуле выражено в сутках; C – средняя удельная активность радионуклида в рассматриваемом органе (ткани), Бк/кг; ρ - плотность ткани, г/см^3; K_γ – гамма-постоянная радионуклида, (Р · см) / ч · мКи; Z – коэффициент перевода единицы экспозиционной дозы в единицу поглощенной дозы, Гр/Р; g – геометрический фактор, см.

Расчет дозовых нагрузок на растения за период вегетации проводили на основе данных о радионуклидном составе выпадений и приближений, описывающих рост растений табака и миграцию радионуклидов по профилю почвы. Следует отметить совпадение расчетных данных с замерами мощности экспозиционной дозы с помощью аттестованных приборов ДРГ-01Т и ДП-5В. При определении суммарной поглощенной за вегетацию дозы использовали ТЛД-дозиметры на основе фтора и лития.

В конце периода вегетации верхние 15 - 20 см стеблей *Nicotiana alata* срезали, тщательно отмывали в теплом мыльном растворе, а затем под струей проточной воды. Отмытый растительный материал переносили в стерильный бокс. После ополаскивания в 70-градусном этиловом спирте в течение 30 - 60 с стебли погружали в отбеливатель «Белизна», разбавленный в соотношении 1 : 4 стерильной дистиллированной водой, на 15 - 20 мин. и прополаскивали в трех порциях стерильной дистиллированной воды по 10 - 15 мин. Пробкобуром выкручивали цилиндрики сердцевинной паренхимы диаметром 5 мм и разрезали на экспланты массой 100 - 120 мг.

Пассируемую ткань табака крылатого шестого пассажа помещали на основную среду для каллусогенеза (модифицированная среда Мурасиге и Скуга [5] с добавлением витаминов по Уайту), содержащую в составе один фитогормон – кинетин в концентрации 0,5 мг/л. Указанная среда в данном случае идентифицировалась как среда для корнеобразования. Через 9 сут (гормонозависимый период) каллусные экспланты переносили на модифицированную среду Мурасиге и Скуга того же состава, но добавляли вместо кинетина 0,5 мг/л 6-бензиламинопурин (БАП) (рис. 1).

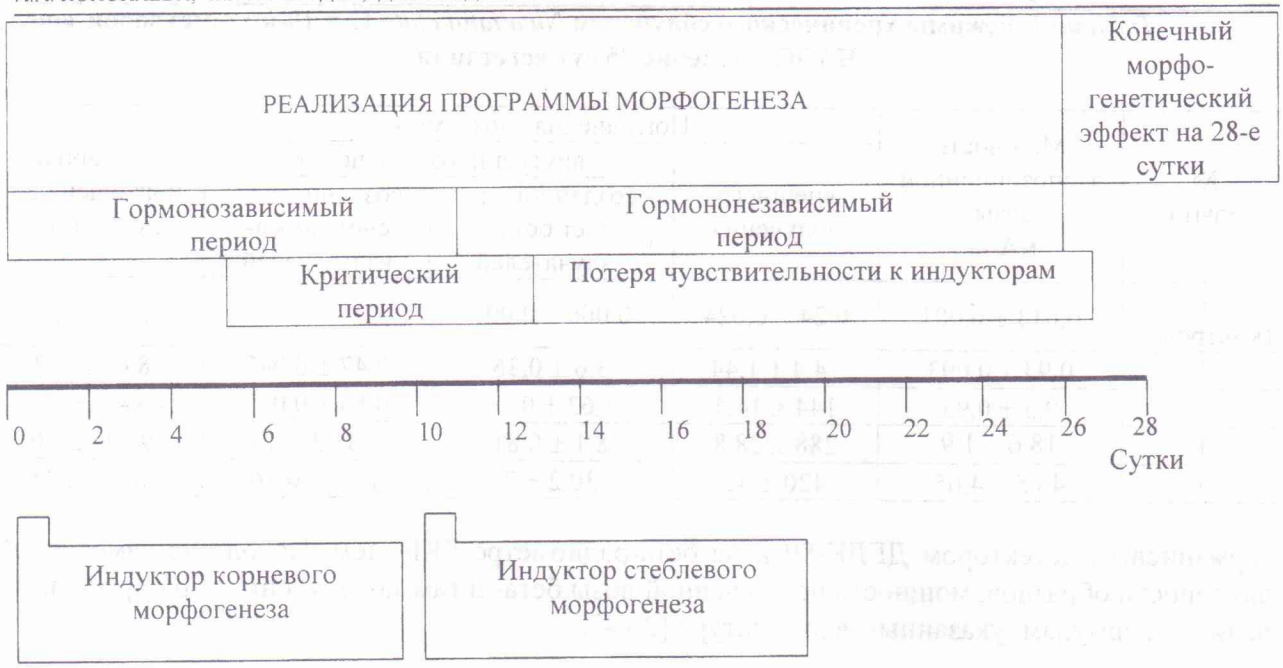

Рис. 1. Схема проведения физиологического эксперимента (по [6]).

Посредством культивирования тканей на данной питательной среде задавали программу стеблевого морфогенеза. На 28-е сутки оценивали количественную и качественную реакцию на последовательную смену ориентации развития (корневой и стеблевой морфогенез) в культуре тканей табака (см. рис. 1). Культуры содержали круглосуточно при t = 23 ± 1 °С.

Анализ ана-телофаз корневых меристем из каллуса табака крылатого проводили, используя общепринятые методы [7]. Кусочки каллусной ткани *Nicotiana alata* переносили на питательную среду, содержащую половинную дозу макро- и микроэлементов, витаминов по Мурасиге и Скугу с добавлением 20 мг/л сахарозы и 0,7 %-ного агара. На первые сутки образцы помещали в термостат при t +26 ± 1 °С, а затем на 2 сут для стимуляции корнеобразования в холодильник (t +(4 ± 1) °С). Спустя пять суток образцы тканей помещали на основную питательную среду с добавлением 0,01 мг/л полистимулина К (синтетический препарат-биостимулятор). Через полторы недели отмечали появление корней в каллусной культуре табака крылатого. Корни одинаковой длины фиксировали смесью „ледяная уксусная кислота – этанол" в соотношении 1 : 3 в течение 1 ч, а затем в течение 1 сут в свежей порции указанной смеси. Фиксатор промывали два - три раза 70 %-ным этанолом и хранили в холодильнике при t +4 °С в 70 %-ном этиловом спирте. Для подготовки материала к окрашиванию корни помещали в 45 %-ную ледяную уксусную кислоту на 30 - 60 мин для удаления этанола, затем окрашивали в 2 %-ном ацетоорсеине в течение 2 сут. В экспериментах использовали зону деления корней, составляющую для табака 0 - 0,26 мм [8]. Отрезанную меристему погружали в каплю молочной кислоты. Двумя препаровальными иглами достигали монослоя клеток и приступали к микроскопированию. Просматривали 100 - 220 ана-телофаз в каждом варианте, определяя долю аномальных клеток (%) и ошибку доли.

Эндогенное содержание индолилуксусной кислоты (ИУК) в тканях *Nicotiana alata L.* определяли по методике [9] с некоторыми модификациями. 4 г фиксированной жидким азотом каллусной ткани на четвертые сутки после начала третьего пассажа гомогенизировали и экстрагировали трижды по 10 мл 96 %-ного этанола в течение 1 ч при комнатной температуре. Отцентрифугированные спиртовые экстракты объединяли и упаривали под вакуумом при температуре от +40 до +45 °С. Сухой остаток растворяли в 1 мл этанола. 200 мкл супернатанта с помощью пипетки наносили на пластинку с тонким слоем силикагеля на алюминиевой подложке в виде полосы шириной 2 - 4 см и длиной 16 - 18 см

на расстоянии 4 см от верхнего края пластины. Пластинку проявляли в хлороформе. Верхнюю часть пластинки, содержащую вымытые из стартового пятна пигменты, отрезали на расстоянии на 1 см выше пигментированной зоны и выбрасывали, оставшуюся часть поворачивали в противоположном направлении и хроматографировали в 12,5 %-ном аммиаке до подъема фронта растворителя на 1 - 2 см выше стартового пятна и выбрасывали. По краям оставшейся части пластинки в месте, соответствующем фронту аммиака, наносили стандартные растворы ИУК, абсцизовой кислоты (АБК) и зеатина. Пластинку проявляли в системе растворителей „этилацетат – уксусная кислота" (20 : 1). Зоны, соответствующие по хроматографической подвижности стандартам ИУК и АБК, снимали с пластинки и элюировали этилацетатом. Для зеатина в качестве элюента использовали этанол. Элюаты упаривали досуха на ротационном испарителе при температуре от +40 до +45 °С. Сухой остаток растворяли в 20 мкл элюента (этилацетат – ИУК и АБК, этанол – зеатин), и аликвоты наносили на пластинку с сорбентом с помощью устройства "Лайномат". Рядом наносили известные количества стандартных растворов ИУК, АБК и зеатина. Для ИУК и АБК использовали пластинки с оксидом кремния (N 5715 "Merck"), для зеатина – пластинки с оксидом алюминия (N 5713 "Merck").

Пластинки с оксидом кремния проявляли в системе растворителей "хлороформ – этилацетат – уксусная кислота" (100 : 100 : 1). Пластинки с оксидом алюминия проявляли в системе растворителей "хлороформ - уксусная кислота" (19 : 1). Пластинки высушивали, элюировали ИУК и АБК этилацетатом, а зеатин – этанолом. Детекцию осуществляли на спектроденситометре Camag TLC Scanner (Швейцария), по поглощению при 280 нм. Площади пиков определяли с помощью интегратора и рассчитывали количество фитогормонов из уравнений линейной регрессии, связывающих площадь пика с количеством внесенного стандарта.

Содержание эндогенной ИУК в каллусных образцах табака крылатого, донорные растения которого получили разную дозовую нагрузку в период вегетации, определяли по отношению к содержанию ИУК в контрольной ткани (%). В расчетах использовали соотношение, предлагаемое авторами метода:

Содержание ИУК (нг) = (S - 3,98)/0,24), где S – площадь пика ИУК.

Результаты исследований и их обсуждение

Для понимания механизмов формирования радиобиологической реакции у растений важное значение придается фитогормональной регуляторной системе, определяющей не только интенсивность различных физиолого-биохимических процессов, но и их направленность. В культуре ткани табака можно вызвать реализацию нескольких морфогенетических процессов: стеблевого морфогенеза, корневого морфогенеза и каллусогенеза. Причем тип морфогенеза контролируется, согласно теории гормональной регуляции Скуга и Миллера, соотношением концентраций экзогенных фитогормонов (ауксина и цитокинина) в среде. Превышение содержания цитокининов над ауксинами вызывает побегообразование, и, напротив, превышение ауксинов над цитокининами ведет к ризогенезу. Предполагается, что компетенция основной массы клеток каллусной ткани, неорганизованно растущей в культуре *in vitro*, не позволяет им участвовать в морфогенетическом процессе. Вместе с тем компетентные клетки могут возникать и возникают в процессе культивирования каллусной ткани в условиях, индуцирующих стеблевой морфогенез. Очевидно, здесь можно говорить об «эффекте минимальной массы», который сводится к тому, что способность уже детерминированных клеток к дальнейшей дифференцировке зависит от наличия некоторой минимальной массы, необходимой для морфогенеза. Считается, что в морфологически оформленном меристематическом очаге содержится необходимое и достаточное количество детерминированных клеток. Временной интервал, в течение которого происходит индукция компетентных клеток, а затем детерминация индуцированных клеток, является величиной постоянной, равной 9 - 12 сут. Способность развиваться в адвентивный побег в отсутствие

индуктора компетентные клетки приобретают приблизительно на 10-е сутки. Это еще не служит неопровержимым доказательством, что судьба таких клеток определена окончательно. Не исключено, что к этому сроку индуцированные клетки приобретают определенную, но не окончательно фиксированную тенденцию к развитию в адвентивный побег. Поэтому можно предположить, что компетенция таких клеток еще позволяет им реагировать на иные индукторы, которые направляют их развитие по другому пути (например, корнеобразование). Поэтому в нашем эксперименте на 9-е сутки (гормонозависимый период) тканям меняли программу развития (см. рис. 1). При смене индукторов морфогенеза происходит дисбаланс в фитогормонах, что сигнализирует о приоритетности в направленности развития определенных органов. Показано, что определенную пластичность имеют трех-, четырехклеточные образования. В тех же условиях на эксплантах, которые культивировались на среде, индуцирующей стеблевой морфогенез 12 - 14 и более суток, развивались уже только побеги. По литературным данным [1], к этому сроку клетки уже «полностью» детерминированы. В связи с этим программу морфогенеза меняли до наступления фазы "потеря чувствительности к индукторам" (см. рис. 1).

Принимая во внимание приведенные выше доводы, сравнивалась степень чувствительности тканей растений, получивших разную дозовую нагрузку в период вегетации, к экзогенным фитогормонам. При этом наблюдали за индукцией компетентных клеток к определенному типу морфогенеза и детерминацией индуцированных клеток (табл. 2 и рис. 2 и 3).

Таблица 2. **Морфогенетическая реакция и индукция корне- и побегообразования в культуре тканей *Nicotiana alata* L. при хроническом облучении донорных растений** в 10-километровой зоне ЧАЭС (шестой пассаж; 9 сут 5 мг/л кинетина, затем 0,5 мг/л БАП)

Суммарная поглощенная доза, мГр	Морфогенетическая реакция		Индукция побегообразования и корнеобразования, %	
	Количество побегов на один эксплант	Количество корней на один эксплант	Экспланты с побегами	Экспланты с корнями
0,31 ± 0,03 (контроль)	15,29 ± 0,45	11,20 ± 2,77	55,0 ± 3,8	78,8 ± 2,3
18 ± 1,8	2,46 ± 0,96	3,44 ± 1,14	48,0 ± 4,7	48,0 ± 4,7
146 ± 14,6	0,06 ± 0,01	4,11 ± 1,51	5,9 ± 2,5	10,0 ± 2,7
297 ± 29,7	1,00 ± 0,17	2,00 ± 0,30	5,0 ± 1,9	8,2 ± 0,9
452 ± 45,2	0	0	0	0

В результате в контрольной ткани в течение первых 9 сут уже начинали появляться корни, и в силу пластичности морфогенетического потенциала контрольная ткань реагировала на замену морфогенетической ориентации появлением побегов (см. рис. 3).

В своем большинстве каллусы табака, растения которых выращивались в 10-километровой зоне ЧАЭС, такой пластичностью морфогенетической программы не обладали. Отмечалось значительное снижение интенсивности образования корней и побегов в культуре тканей облученных растений с увеличением дозовых нагрузок на материнские растения. Реакция на смену внешнего стимула в культуральной среде для указанных тканей практически отсутствовала. Так, например, из табл. 2 видно, что к концу культивирования (28-е сутки) экспланты с корнями в контроле составляют 78 %, а в опыте уже при наименьшей дозе хронического облучения донорных растений (18 мГр) уменьшаются до 48 %. С увеличением суммарной поглощенной дозы количество побегов в культуре тканей уменьшается до 10 %, т.е. в 5,5 раза, при дозе 146 мГр, а затем, при дальнейшем увеличении дозы, уменьшается до 8,2 % (доза хронического облучения 297 мГр) и нуля при дозе облучения донорных растений 452 мГр. Если экспланты с побегами в этом эксперименте составляют 55 % для контроля, то в опытных вариантах каллусных тканей этот показатель существенно снижается до 48, 5,9, 5 % соответственно и нуля для каллусной культуры

стебля облученных растений табака. Таким образом, каллусная ткань табака, материнские растения которой подвергались хроническому облучению в 10-километровой зоне ЧАЭС, обладает меньшим объемом и меньшей пластичностью морфогенетического потенциала.

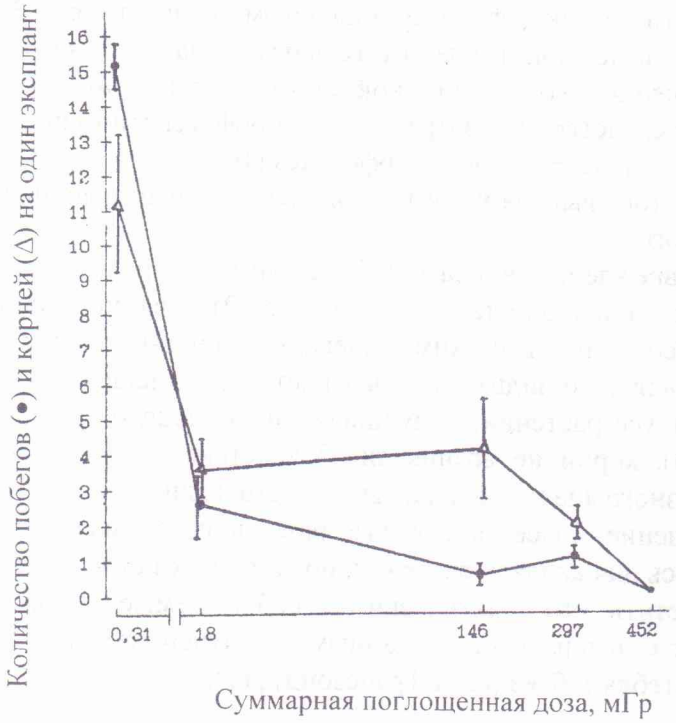

Рис. 2. Морфогенетическая реакция в культуре тканей *Nicotiana alata* L. при хроническом облучении донорных растений в 10-километровой зоне ЧАЭС (шестой пассаж; 9 сут 5 мг/л кинетина, затем 0,5 мг/л БАП).

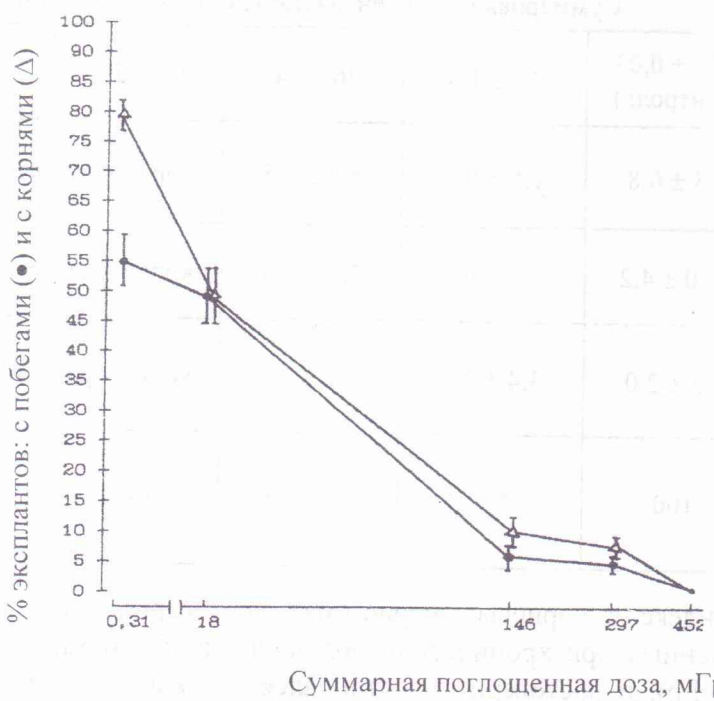

Рис. 3. Индукция корне- и побегообразования в культуре ткани *Nicotiana alata* L. при хроническом облучении донорных растений в 10-километровой зоне ЧАЭС (шестой пассаж; 9 сут 5 мг/л кинетина, затем 0,5 мг/л БАП).

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что при сравнительно низких дозах - меньше 0,5 Гр за период до получения культуры ткани – имеет место резкое ослабление чувствительности клеток к фитогормональным воздействиям. Вследствие этого оказывается заторможенным и морфогенез на питательных средах обычного состава.

Отсутствие или снижение регенерационной способности может быть обусловлено мутациями, которые непосредственно затрагивают морфогенетические процессы или нарушают регуляторные пути, вовлеченные в морфогенез [10].

Для подтверждения этого вывода нами проводился хромосомный анализ культивируемых тканей табака крылатого.

Анализ частоты повреждений в ана-телофазах митоза проводился на меристемах корней, полученных в каллусной ткани табака крылатого. Это связано с более высоким, по сравнению с самим каллусом, митотическим индексом корневых меристем. Эндогенный баланс фитогормонов в тканях, по-видимому, был настолько смещен, что на стандартной среде для ризогенеза в каллусе растений, получивших наибольшую суммарную поглощенную дозу (297 и 452 мГр), корни не возникали. Вследствие этого наиболее важные и интересные для ана-телофазного анализа варианты отсутствовали.

Достоверное повышение более чем в два раза доли аномальных клеток в ана-телофазах митоза отмечалось для каллуса растений, получивших поглощенную дозу 146 мГр (табл. 3). Необходимо отметить, что практически все наблюдаемые мосты (95 %) были без фрагментов. Это совпадает с литературными данными, полученными для каллусной ткани сердцевинной паренхимы стебля табака (сорт Трапезонд) [11].

Таблица 3. **Влияние хронического облучения донорных растений *Nicotiana alata* L. на индекс корнеобразования, митотический индекс, долю аномальных клеток в ана-телофазе корневой меристемы, полученной в культуре тканей (на среде с полистимулином К), и содержание ИУК**

Регистрируемый эффект, %	Суммарная поглощенная доза донорных растений, мГр				
	0,31 ± 0,03 (контроль)	18 ± 1,8	146 ± 14,6	297 ± 29,7	452 ± 45
Индекс корнеобразования	6,3 ± 0,8	2,5 ± 0,3	5,4 ± 0,5	корнеобразование отсутствует	
Митотический индекс	15,0 ± 4,2	0,9 ± 0,3	5,1 ± 1,3	корнеобразование отсутствует	
Доля аномальных клеток в ана-телофазе	3,5 ± 2,0	3,4 ± 2,4	8,1 ± 2,4	корнеобразование отсутствует	
Содержание ИУК к контролю	100	167 ± 17	176 ± 18	175 ± 18	110 ± 11

Митотический индекс в корневых меристемах достоверно снижался для каллуса растений табака, выращенных при хроническом облучении в 10-километровой зоне ЧАЭС (поглощенная доза 18 мГр), и достоверно не отличался от контроля при более высоких дозовых нагрузках (146 мГр).

Итак, в исследуемых корневых меристемах табака с указанными значениями суммарной поглощенной дозы исходных растений отмечаются генетические повреждения; на уровне соматических клеток сохраняются нарушения в ана-телофазах митоза.

Однако установлено, что не только генетические факторы контролируют морфогенез. Снижение степени дифференцирования в тканях может быть также вызвано эпигенетиче-

скими изменениями, такими как изменения содержания эндогенных фитогормонов [12, 13]. В силу этого предполагается, что эффекты снижения интенсивности морфогенеза, наблюдаемые при хроническом облучении исходных растений, могут быть обусловлены также изменением фитогормонального баланса тканей. Об этом можно судить, либо варьируя концентрацией экзогенных фитогормонов в питательной среде для достижения в опытной ткани эффектов, сходных с контрольными, либо определяя содержание эндогенных фитогормонов.

Нами было показано, что на питательной среде для побегообразования стандартного состава в каллусной ткани табака, донорные растения которой получили за вегетацию 320 мГр, регенерация отсутствовала. Кроме побегов, в контрольной ткани отмечалось появление большого количества почек, тогда как в опытной ткани, несмотря на способность каллуса к позеленению на свету, почек обнаружено не было. Необходимо было повысить концентрацию БАП в среде с 0,2 до 1 мг/л, чтобы достичь появления растений-регенерантов в каллусной ткани табака из хронически облученных материнских растений [14]. Т. е. пятикратное увеличение концентрации цитокининов ведет к восстановлению органогенеза в культуре тканей облученных донорных растений. Обратимость эффектов облучения при действии экзогенных фитогормонов дает определенную ориентацию в поисках причин нарушения гормонального баланса в облученных тканях.

Объектом исследования данных экспериментов служили растения *Nicotiana alata* L. класса Двудольных [15], ранее опыты проводились на другом виде табака - *Nicotiana tabacum* L. [14], а также на растениях класса Однодольных - еже сборной (*Dactylis glomerata* L.) [16] и моркови (*Daucus sativus* (Hoffm.) Roehl.) [17, 18]. Нами показана одинаковая тенденция снижения интенсивности процессов каллусогенеза и морфогенеза при пролонгированном радиационном воздействии низкой интенсивности на материнские растения. Это позволяет предположить, что наблюдаемые эффекты не являются реализацией неких специфических черт определенных видов растений, свойственных конкретному организму, а, возможно, в данном случае включаются общебиологические процессы [1].

Под влиянием облучения либо утрачивается способность к синтезу одного из фитогормонов, либо клетка теряет способность воспринимать воздействие фитогормонов. Для этого определяли содержание ИУК. Уровень эндогенных ауксинов, как предполагается, является ключевым фактором регуляции органогенеза *in vitro* [19].

В табл. 3 приводятся данные по содержанию ИУК в каллусе табака крылатого по отношению к контролю.

Отмечено значительное увеличение содержания эндогенной ИУК с повышением дозовых нагрузок на материнские растения (на 67 % в варианте для ткани, донорные растения которой получили поглощенную дозу 18 мГр, 76 % - при поглощенной дозе 146 мГр по отношению к контролю). Во всех испытываемых вариантах концентрация ИУК в тканях была выше контрольного уровня, т. е. под действием хронического облучения на донорные растения происходит накопление ИУК в каллусной ткани.

На основании проведенных экспериментов нам удалось подтвердить правильность предположения о связи изменения гормонального содержания при хроническом облучении донорных растений со снижением интенсивности регенерационных процессов в культивируемых тканях табака.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что снижение способности тканей к формообразованию не связано с отсутствием синтеза фитогормона, а, по-видимому, клетка теряет способность реагировать на него в обычных концентрациях. Очень важным является тот факт, что утрата морфогенетической реакции в культуре тканей преодолевается многократным увеличением концентрации экзогенного фитогормона в питательной среде. Известно, что влияние фитогормонов осуществляется через гормон-опознающие белки. Предполагается, что у облученной клетки повреждается система синтеза белков либо оскудевают сайты узнавания белков.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Тарчевский И.А.* Сигнальные системы клеток растений. - М.: Наука, 2002. - 294.
2. *Моисеев А.А., Иванов В.И.* Справочник по дозиметрии и радиационной гигиене. - 4-е изд., перераб. и доп. - М.: Энергоатомиздат, 1990. - 252 с.
3. *Козлов В.Ф.* Справочник по радиационной безопасности. - М.: Энергоатомиздат, 1987. - 192 с.
4. *Коноплева А.А.* Эффекты хронического облучения растений в каллусообразовании и регенерации в культуре тканей: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. - Киев, 1992. - 17 с.
5. *Murashige T., Skoog F.* A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. - 1962. - No. 15. - P. 473 - 497.
6. *Моисеева Н. А.* Молекулярные и клеточные механизмы морфогенеза в культуре клеток растений // Биология культивируемых клеток и биотехнология растений. - М.: Наука, 1991. - С. 166 - 185.
7. *Паушева З. П.* Практикум по цитологии растений. - М.: Колос, 1974. - 288 с.
8. *Обручева Н. В.* Физиология растущих клеток корня. - М.: Наука,1965. - 111 с.
9. *Савинский С.Е., Кофман Я.Ш., Кофанов Е.Я. и др.* Методические подходы к определению фитогормонов с помощью спектроденситометрической тонкослойной хроматографии // Физиол. и биохим. культ. растений. - 1987. - Т. 19, № 2. - С. 195 - 197.
10. *Сидоров В. А.* Биотехнология растений. Клеточная селекция. - Киев: Наук. думка, 1990. - 280 с.
11. *Шамина З. Е., Бутенко Р. Г., Тарасов В. А.* Цитологическое изучение культуры тканей табака // Генетика. - 1966. - № 1. - С. 70 - 76.
12. *Street H.E.* Plant tissue and cell culture. - Oxford, 1973. - 485 p.
13. *Street H.E.* Plant tissue and cell culture. - Oxford Blackwell Scientific Publications. - 1977. - P. 614.
14. *Коноплева А.А., Желтоножская Л.В., Гродзинский Д.М.* Морфогенетический анализ каллусной ткани *Nicotiana tabacum* L. при хроническом облучении растений // Цитология и генетика. - 1993. - Т. 27, № 1. - С. 63 - 67.
15. *Konoplyova A.A., Grodzinsky D.M.* Ana-telophasis analysis of tissue in vitro from chronically irradiated *Nicotiana alata* L. donor plants // Abstracts 25 Annual meeting of the European Society for Radiation Biology, ESRB. – Stockholm, 1993. - P. 10 - 14.
16. *Konoplyova A.A., Zseltonozskaya L.V., Conger B.V., Grodzinsky D.M.* In vitro response of *Dactylis glomerata* L. leaf segments as affected by growing donor plants in radioactive soil // Env. and Exp. Bot. - 1993. - No. 33(4). - P. 501 - 504.
17. *Коноплева А.А., Гуща Н.И., Гродзинский Д.М.* Изучение регенерации в культурах *in vitro* табака и моркови при действии хронического облучения на донорные растения (Радиобиологическая конференция, Днепропетровск, 1993). - Киев, 1993. - С. 493.
18. *Konoplyova A.A., Guscha N.I., Grodzinsky D.M.* Decreasing of regeneration abilities of callus cultures in vitro of *Nicotiana tabacum* L. and *Daucus sativus* (Hoffm., Roehl.) from chronically irradiated donor plants // Abstracts of the 3-rd Congress on Radiation Research (radiobiology and radioecology), Kyiv, 21 - 25 May 2003. - P. 157.
19. *Philip V. J., Padikkala J.* The role of indoleacetic acid in the conversion of root meristems to shoot meristems in Vanilla planifolia // J. Plant Physiol. - 1989. - Vol. 135, No. 2. - P. 233 - 236.

ДОСЛІДЖЕННЯ МОЖЛИВИХ МЕХАНІЗМІВ СТРИМУВАННЯ МОРФОГЕНЕТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ У КУЛЬТУРІ ТКАНИН, ДОНОРНІ РОСЛИНИ ЯКОЇ ПІДПАДАЛИ ПІД ХРОНІЧНЕ ОПРОМІНЕННЯ

А. О. Конопльова, Н. М. Рашидов, Д. М. Гродзинський

В експерименті використано калусну культуру тютюну крилатого *(Nicotiana alata* L.) із рослин, вирощених у період вегетації з середньою потужністю експозиційної дози 0,013мА/кг (контроль, Київ), 0,93, 9,3, 18,6 та 46,5 мА/ кг (10-кілометрова зона ЧАЕС). Спостерігалось значне зниження пагоно- та кореневоутворення в культурі *in vitro* із збільшенням дозових навантажень на донорні рослини. З'ясовуються можливі механізми стримування інтенсивності морфогенезу в культурі тканин опромінених рослин. Є припущення, що внаслідок хронічного опромінювання на донорні рослини втрачається здатність клітин реагувати на дію фітогормонів.

RESEARCH OF POSSIBLE MECHANISMS OF MORPHOGENETIC PROCESSES SUPPRESSION IN TISSUE CULTURE, DONOR PLANTS OF WHICH WERE EXPOSED UNDER ACTION OF CHRONIC IRRADIATION

A. A. Konoplyova, N. M. Rashydov, D. M. Grodzinsky

The callus culture of tobacco alate *(Nicotiana alata* L.) from the plants which have been grown for the period of vegetation with the average dose rate 0,013mA/kg (the control, Kiev), 0,93, 9,3, 18,6 and 46,5 mA/kg (10-kilometer zone of Chernobyl Nuclear Power Plant) was used in the experiment. Significant reduction of shoot- and root-formation in culture in vitro with augmentation of dose loads on donor plants was marked. The possible mechanisms of supression of morphogenesis intensity in tissue culture of irradiated plants are found out. It is supposed that under action of chronic irradiation on donor plants the ability of cells to react on phytohormonal influence is lost.

Поступила в редакцию 14.04.04,
после доработки – 25.08.04.