

ТАМАРА ШНАЙДЕР, АНТС-ПЭЭП СИЛЬВЕРЕ,
МАРЕ-АННЕ РОМЕЙКИС

ИЗУЧЕНИЕ СПОНТАННЫХ РАЗРЫВОВ КОРНЕВОЙ ТКАНИ ПРОРОСТКОВ КРЕСТОЦВЕТНЫХ

1. Влияние гамма-облучения

В предварительных опытах при электронно-микроскопическом просмотре ультратонких срезов корней проростков рапса, выращенных из семян, облученных летальной дозой гамма-лучей (300 кр), были обнаружены разрушенные клетки, содержащие бактериоподобные тела (Сильвере, Шнайдер, 1971), бактериальная природа которых установлена как последующими микробиологическими опытами, так и изучением их тонкого строения (рис. 1).

Дальнейшие исследования показали, что у 2—4-дневных проростков рапса, выросших из облученных и необлученных семян, регулярно встречаются нарушения развития корневой ткани в виде поперечного щелевидного разрыва, локализованные примерно в одинаковых участках корня в непосредственной близости от его конца, выше апикальной меристемы (рис. 2).

В наших первоначальных опытах, проведенных как в нестерильных, так и в стерильных условиях, обнаружилась связь разрывов корневой ткани со своеобразной микрофлорой, что навело на мысль о возможности бактериального поражения тканей. Однако в последующих многочисленных опытах, проведенных в стерильных условиях, микрофлору удавалось выявить не всегда. Кроме того, при повторном выращивании семян в среде, где до этого выращивались проростки, имевшие разрывы ткани и обильную микрофлору, не наблюдалось повышения частоты возникновения разрывов ткани корней. Это свидетельствует о том, что указанные микроорганизмы, очевидно, не патогенны для тканей и не являются причиной возникновения этих разрывов. Изучение микрофлоры, связанной со спонтанным разрывом корневой ткани, продолжается, однако уже сейчас можно утверждать, что мы имеем дело с эндофитной в отношении семян рапса микрофлорой.

Таким образом, результаты проведенных исследований позволили сформулировать сущность обнаруженного нами явления как спонтанный разрыв корневой ткани (СРКТ) проростков крестоцветных, связанный со специфической микрофлорой, не являющейся в то же время первичной причиной этих повреждений, частота которых зависит от условий опыта, в частности от гамма-облучения семян.

В литературе нам не удалось обнаружить данных о подобном явлении, несмотря на то что проростки растений, в том числе и крестоцветных, служат объектами радиобиологических исследований с начала этого века. Следует, однако, отметить, что в большинстве этих опытов про-

ростки использовались либо в качестве материала для изучения физиологических и биохимических реакций, происходящих в растении после облучения, либо же определялась их выживаемость в зависимости от дозы, без изучения индивидуальных деталей внешней морфологии, тем более — гистологии корней проростков.

Учитывая несомненную новизну и явную необычность изучаемого явления, основное внимание на настоящем этапе работы было уделено выявлению частоты встречаемости СРКТ и зависимости этого явления от гамма-облучения. Особого внимания заслуживает, на наш взгляд, тот факт, что такой сильный мутагенный фактор не вызывал качественно новых изменений в изучаемом материале, а лишь повышал частоту нарушений развития ткани, механизм возникновения которых имеется и в определенной мере реализуется практически в любой популяции исследованных нами видов крестоцветных.

В опытах использовались семена 12 сортов рапса, 4 сортов сурепицы и 2 сортов брюквы, полученные из коллекции Всесоюзного института растениеводства им. Н. И. Вавилова и из Всесоюзного научно-исследовательского института масличных культур, а также семена местной репродукции. В связи с этим авторы считают приятным долгом выразить благодарность сотрудникам вышеупомянутых институтов.

Частота спонтанных разрывов корневой ткани у проростков крестоцветных из необлученных и облученных семян

Вид, сортообразец	Процент СРКТ		Общее число просмотренных проростков	
	контроль	300 кр	контроль	300 кр
Рапс яровой (2n=38)				
Украинский	3,1	15,6	162	141
Австрийский	2,3	32,5	213	129
'Регина II'	5,3	21,0	465	199
Финский	6,8	24,3	1445	230
Канадский	3,7	43,0	542	376
Польский	6,0	34,9	396	427
Японский	3,8	26,3	665	262
Марокко	6,5	27,6	397	134
'Носовский 9'	4,8	17,9	310	184
Итальянский	8,3	32,0	505	203
Чехословацкий	1,4	25,1	214	139
Рапс озимый (2n=38)				
'Немерчанский I'	4,3	32,9	182	189
Сурепица яровая (2n=20)				
ГДР	0,9	9,6	223	208
'Арло'	0	1,1	271	264
США	1,0	2,3	276	301
Сурепица тетраплоидная (из Краснодара) (2n=40)				
	8,8	29,2	183	171
Брюква (2n=38)				
'Куузику'	1,3	3,4	457	178
'Красносельская'	1,5	—	262	—



Рис. 1. Срез микроорганизма из разрушенной клетки в разрыве корневой ткани проростка рапса. Увелич. 80 000X.



Рис. 2. Спонтанные разрывы тканей на корешках 3-дневных проростков рапса. Увелич. 10X.

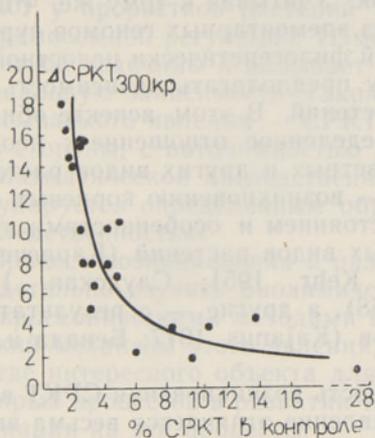


Рис. 3. Возрастание частоты спонтанных разрывов корневой ткани под влиянием облучения по сравнению с их частотой в контроле.

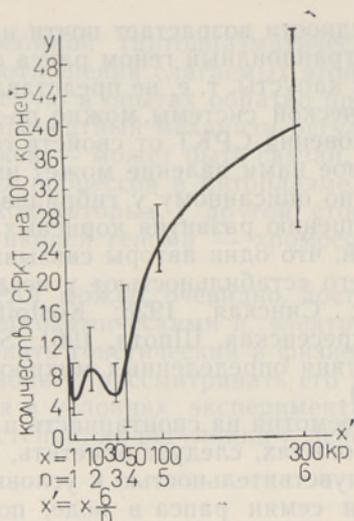


Рис. 4. Зависимость частоты спонтанных разрывов корневой ткани от дозы облучения.

Семена крестоцветных облучались гамма-лучами от источника ^{60}Co на установке Луч-1 Института экспериментальной биологии АН ЭССР. За помощь в проведении этих опытов выражаем глубокую благодарность сотрудникам института Ю. Вахеру и Т. Кёэпу.

Семена стерилизовались в течение 15 мин в 0,1%-ном растворе сулемы, после чего их несколько раз ополаскивали стерильной водой и помещали в стерилизованные чашки Петри со стерильной водой. Стерильность поверхности семян проверялась в специальных бактериологических опытах. На 3—4-й день с начала прорастания корни проростков просматривали под стереоскопическим микроскопом МБС-1 и учитывали число проростков, имеющих разрывы корневой ткани.

Объем материала и суммарные результаты опытов, в которых сравнивалась частота СРКТ у проростков крестоцветных из необлученных и облученных летальной дозой семян, представлены в таблице. Как видно из приведенных данных, повышение частоты возникновения СРКТ под влиянием облучения не вызывает сомнений, причем кажется, что это повышение тем значительнее, чем меньше частота СРКТ у необлученных проростков.

Для более четкого выявления зависимости повышения частоты появления разрывов от облучения было рассчитано возрастание частоты СРКТ под влиянием облучения для сортов рапса в каждом отдельном опыте по отношению к данным соответствующего контроля (рис. 3). Как видно из графика — гиперболы, зависимость возрастания частоты разрывов под влиянием облучения от частоты СРКТ в контроле имеет действительно достаточно четкий обратно пропорциональный характер.

При определении зависимости частоты СРКТ от дозы облучения было установлено, что кривая, выражающая ее, имеет в общем экспоненциальный характер (рис. 4), что наблюдается в большинстве случаев при облучении биологических объектов.

Помимо зависимости от видовых различий и от гамма-облучения предварительными опытами выявлена зависимость частоты появления СРКТ и от пloidности генома: на примере диплоидной и тетраплоидной сурепицы можно видеть, что частота встречаемости СРКТ при удвоении

плоидности возрастает почти на порядок. Учитывая к тому же, что аллотетраплоидный геном рапса состоит из элементарных геномов сурепицы и капусты, т. е. не представляет собой филогенетически целостной генетической системы, можно, по-видимому, предполагать зависимость возникновения СРКТ от свойств генома растений. В этом аспекте обнаруженное нами явление может иметь определенное отношение к неоднократно описанному у гибридов крестоцветных и других видов растений нарушению развития корневых тканей — возникновению корневых опухолей, что одни авторы связывают с состоянием и особенностями генома, его «стабильностью» у исследованных видов растений (Карпеченко, 1924; Синская, 1928; Kostoff, 1933; Kehr, 1951; Слудская, 1953; Воскресенская, Шпота, 1961; Smith, 1968), а другие — с результатами действия определенных микроорганизмов (Kajanus, 1917; Бенада и др., 1963).

Несмотря на спонтанность и регулярность возникновения СРКТ в наших опытах, следует отметить, что это явление отличается весьма высокой чувствительностью к условиям опыта. Так, например, при выращивании семян рапса в воде, покрывающей слой почвы, возникновение СРКТ почти полностью подавлялось даже у облученного летальной дозой материала.

Высокой чувствительностью к условиям опыта и стохастическим характером процессов, лежащих, вероятно, в основе СРКТ, объясняется, по-видимому, и наблюдаемый нами сравнительно большой разброс результатов отдельных опытов. Тем не менее, все полученные результаты в целом подчиняются как экспоненциальной зависимости от дозы облучения, причем частота СРКТ возрастает с увеличением дозы вплоть до летальной, так и весьма своеобразной обратно пропорциональной зависимости между увеличением частоты СРКТ под влиянием облучения и фоновой частотой СРКТ в контроле.

Учитывая неинфекционную природу и регулярное возникновение СРКТ независимо от стерилизации семян и каких-либо внешних воздействий, т. е. в контроле, у всех просмотренных сортов и видов, мы считаем обоснованным рассмотрение описываемого спонтанного явления в связи с какими-то внутриклеточными или внутритканевыми процессами, зависящими в определенной мере от состояния генома и в силу этого чувствительными к облучению.

Что же касается возможных механизмов возникновения СРКТ, то, абстрагируясь от имеющихся данных, можно предположить, что нарушение развития тканей корней, выявляемое в виде СРКТ, связано по меньшей мере с двумя внутриклеточными процессами, один из которых определяет возможность возникновения СРКТ, а другой регулирует реализацию этой возможности. Последний, по-видимому, непосредственно связан с генетическими структурами клетки. В таком случае свойства генома конкретного вида или сорта растения, в частности его физиологическая нестабильность (Кузин, 1970) и роль в регуляции внутриклеточных процессов, приводящих к возникновению СРКТ, определяют, очевидно, фоновую частоту СРКТ, наблюдаемую в контроле. При этом весьма чувствительный к облучению геном, его свойства и регуляторные функции обуславливают повышение частоты СРКТ под влиянием облучения и его зависимость от дозы.

При рассмотрении обратно пропорциональной зависимости между фоновой частотой СРКТ и ее возрастанием под влиянием облучения, выражаемой в общем случае формулой $V = \frac{C}{X}$, константной величиной можно, по-видимому, считать суммарное влияние на процесс возникновения

СРКТ у проростков растений внехромосомной (цитоплазматической?) и хромосомной регуляции. Изменение соотношения слагаемых этой константной величины и вызывает наблюдаемую в опытах обратно пропорциональную зависимость. Такой двухкомпонентный механизм регуляции описываемого явления — СРКТ проростков — может быть связан, с одной стороны, с автономностью некоторых процессов в цитоплазме (цитоплазматической наследственностью), ход которых, с другой стороны, регулируется определенным образом функцией генома — хромосомной наследственностью.

Процесс возникновения и развития СРКТ можно, очевидно, достаточно детально изучить биохимическими, гистохимическими и электронно-микроскопическими методами и исследовать генетический и физиологический механизм этого явления, что позволяет рассматривать его в качестве интересного объекта для изучения в условиях эксперимента некоторых процессов в развитии тканей растений, их регуляции и действия радиации на эти процессы.

ЛИТЕРАТУРА

- Бенада Я., Шедивы И., Шпачек Я., 1963. Атлас болезней и вредителей масличных культур. IV. Прага.
- Воскресенская Г., Шпота В., 1961. Корневые опухоли горчично-рапсовых гибридов и использование их в селекции. Ботан. ж. **46** (12) : 1787—1793.
- Карпеченко Г., 1924. Межродовые гибриды *Raphanus sativus* L. × *Brassica oleracea* L. Научно-агрономический ж. **1** (5—6) : 390—410.
- Кузин А., 1970. Структурно-метаболическая гипотеза в радиобиологии. М.
- Сильвере А.-П., Шнайдер Т., 1971. Бактериоподобные тела в клетках корней проростков из гамма-облученных семян рапса. Изв. АН ЭССР, Биол. **20** (3) : 279—282.
- Синская Е., 1928. Масличные и корнеплоды семейства *Cruciferae*. Тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции **19** (3) : 1—648.
- Слудская Л., 1953. Образование опухолей и другие патологические явления при отдаленной гибридизации косточковых. Тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции **30** (1) : 59—64.
- Kajanus B., 1917. Über Bastardierungen zwischen *Brassica napus* L. und *Brassica rapa* L. Z. Pflanzenzüch. **5** (3) : 265—322.
- Kehr A., 1951. Genetic tumors in *Nicotiana*. Amer. Naturalist **85** (820) : 51—64.
- Kostoff D., 1933. Tumor problem in the light of researches on plant tumors and galls and its relation to the problem of mutation. (A critical review from biophysical, biochemical and cytogenetical point of view.) *Protoplasma* **20** : 440—456.
- Smith H., 1968. Recent cytogenetic studies in the genus *Nicotiana*. *Advances Genetics* **14** : 1—54.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
30/XI 1971

TAMARA SNAIDER, ANTS-PEEP SILVERE, MARE-ANNE ROMEIKIS

JUUREKOE SPONTAANSEST LÖHENEMISEST RISTOIELISTEL

I. Gammakiirguse toime

Resümee

Autorite poolt kirjeldatud (Сильвере, Шнайдер, 1971) rapsiidandite juurekudede lõhenemise (joon. 2) edasisel uurimisel selgus, et lõhenemist ei põhjusta koelõheded esinev spetsiifiline mikrofloora (joon. 1), vaid see tekib spontaanselt, tingituna arvatavasti mingitest koe- või rakusisestest protsessidest. Kuna kirjanduses ei leidunud andmeid ristõieliste idandite juurekudede spontaanse lõhenemise (JKSL) kohta, seadsid käesoleva uurimuse autorid endale esmaseks ülesandeks selgitada uuritava nähtuse esinemise ulatust ja tingimusi, erilist tähelepanu aga pöörata gammakiirguse toimele.

Mitmesuguste ristõieliste liikide ja sortidega tehtud arvukate katsete (vt. tab.) põhjal selgus, et JKSL teke sõltub teatud katsetingimustest, kuid teda esineb kõikidel uuritud ristõielistel. Selle juurekude arenguhäire esinemissagedus sõltub kiirguse doosist eksponentselt (joon. 4). Võrreldes kiiritamata materjaliga, esineb teda letaalse doosiga õhkuvalt kiiritatud seemnetest arenenud idanditel 5—15 korda enam, kusjuures tema teke on leeb ilmselt taime genoomi omadustest (ploidsusest jms.). Seejuures on kiirguse mõjul esinev JKSL-i sageduse tõus pöördvõrdeline JKSL-i esinemissagedusega kiiritamata seemnetel (joon. 3). Kiirituse toime muutub vaid spontaansete koelõhede esinemissagedus, idandite arengus aga ei ilmne mingeid kvalitatiivset uusi nähtusi.

Kiirguse sellise ebatavalise toimemehhanismi seletamiseks esitavad autorid hüpoteesi kahesuguste rakusiseste protsesside osalemisest JKSL-i kujunemises: ühelt poolt näivad koelõhede tekke võimalust määravad protsessid olevat tsütoplasmaatilise regulatsiooniga, s. o. genoomi suhtes suhteliselt autonoomsed, teiselt poolt näib JKSL-i aluseks olevate protsesside realiseerumist reguleerivat genoom, mis määrab JKSL-i kujunemismehhanismi tundlikkuse kiirguse suhtes. Selle hüpoteesi järgi tuleneb kiirguse mõju pöördvõrdelisus JKSL-i esinemissagedusega kiiritamata seemnetel tsütoplasmaatilise ja kromosoomse regulatsiooni summaarsest konstantsusest, kusjuures erinevatel liikidel ning erinevates katsetingimustes realiseeruvad JKSL-i esinemissagedused sõltuvalt nende kahe regulatsiooni suhtest antud tingimustes.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalbioloogia Instituut

Toimetusse saabunud
30. XI 1971

TAMARA SHNAIDER, ANTS-PEEP SILVERE, MARE-ANNE ROMEIKIS

STUDIES ON SPONTANEOUS FISSURES IN ROOT TISSUES OF CRUCIFEROUS SEEDLINGS

I. Effects of gamma-irradiation

Summary

In our previous investigation (Сильвере, Шнайдер, 1971) fissure-like injuries in the roots of rape seedlings were detected. Following experiments revealed the spontaneous character (depending upon some intracellular or intratissual processes) of these injuries in the roots tissues (Fig. 2), and elucidated the independence of spontaneous fissures in the root tissues (SFRT) on specific microorganisms (Fig. 1), which are not the cause of SFRT.

Since we could not find references on anything like SFRT in the literature, at the first step of these studies the frequency of SFRT appearance in some cruciferous species was determined and the effects of gamma-irradiation on that phenomenon were investigated.

In all varieties of crucifers (oil rape, oil turnip rape and swede) used in our experiments (Table) SFRT appeared in the control material with a definite frequency, and a considerable increase of that phenomenon was observed after gamma-irradiation of seeds; therefore it seems that SFRT frequency depends, too, on the ploidy level of plants. Radiation effects exhibit an exponential dose curve (Fig. 4). The increase of SFRT frequency in irradiated materials was inversely proportional to SFRT frequency in the control plants (Fig. 3). As an explanation of this unusual relationship between the background SFRT frequency in the control and its increase after irradiation, the hypothesis of the biological mechanism of that phenomenon has been proposed. Accordingly SFRT appearance and increase of its frequency, in the root tissues after irradiation of seeds may depend on the dual character of intracellular regulatory processes: on the one hand, on cytoplasmatic regulation (which is autonomous from genome regulation) and, on the other hand — on genome regulation.

Academy of Sciences of the Estonian SSR,
Institute of Experimental Biology

Received
Nov. 30, 1971