

МЕХАНИЗМЫ ИНДУКЦИИ АСИММЕТРИИ ОРГАНОГЕНЕЗА РАСТЕНИЙ

Со времен известных исследований Н.И.Вавилова листья растений широко используются для изучения внутривидовой и внутрииндивидуальной изменчивости [1]. Одна из форм такой изменчивости представлена флуктуирующей асимметрией (ФАс) [1,2]. Растения в качестве квазифрактальных объектов представляют собой богатый материал для анализа билатеральной симметрии и асимметрии. Считается, что ФАс обусловлена незначительными отклонениями онтогенетических процессов от наследственной программы, представляя собой так называемый онтогенетический шум. По феноменологии ФАс представляет собой ненаправленные колебания от билатеральной симметрии, которые существенным образом не влияют на жизнеспособность организмов и не имеют адаптивного значения [3,4]. Однако не исключена и положительная зависимость между параметрами асимметрии и адаптивным потенциалом растений.

Уровень ФАс повышается в ответ на воздействие большинства абиотических и биотических факторов, в частности ионизирующего и УФ-излучения, загрязнения и засоления почвы, засухи, переувлажнения (для растений), конкурентных взаимоотношений, паразитизма и др. [5-10]. С другой стороны, уровень ФАс зависит и от состояния генома, именно — от его генетической коадаптации [3,11,12]. Возрастание ФАс связывают с высвобождением мутаторных элементов, увеличивающих мутационную активность разных частей генома, а также с перестройками в дублирующих последовательностях генома [13,14].

Итак, асимметрию вегетативных органов можно считать индикатором онтогенеза, удобным параметром, по которому оценивают влияние стрессовых факторов среды на растения. Мы показали, что одним из наиболее влиятельных стрессоров относительно увеличения уровня асимметрии является ионизирующее излучение [15-17]. Тем не менее, эта работа потянула за собой вереницу вопросов, в частности, относительно специфичности действия ионизирующего излучения, дозовых зависимостей, сохранения в онтогенезе “памяти” о действии стрессора, механизмов асимметрии и т.д. На данном этапе мы ставили целью изучение дозовых эффектов острого облучения, продолжительности его последствия в онтогенезе и выяснение возможных механизмов проявления асимметрии в органогенезе растений.

Объект исследования — сложный листок фасоли обычной (*Phaseolus vulgaris*) и сои (*Glycine max*). Параметром для определения асимметрии была сухая масса противоположных пластинок листка. Индексы асимметрии — коэффициент асимметрии (КАс) — определяли как отношение разности сухой массы левой и правой половинок листка к полусумме этих параметров для каждого отдельного листка, закончившего рост:

$$КАс = (l-r)/(l+r)/2,$$

где l и r — масса левой и правой половинок листка соответственно.

Анализировали распределение индивидуальных КАс. Коэффициенты корреляции (Кк) между последовательными рядами значений x_n и x_{n+1} и прочие

показатели вариационной статистики определяли, используя функции программы Microsoft Excel.

Для получения дозовой зависимости трехсуточные проростки сои и фасоли облучали в дозах 5, 10, 15 и 20 Гр. Для определения продолжительности проявлений асимметрии в онтогенезе трехсуточные проростки облучали в дозе 5 Гр, после чего их высаживали в открытый грунт. Стеблевую почку препарировали на момент облучения. Исследовали развитие 5-8 последовательных генераций листков.

Для проверки идеи о возможности появления асимметрии вследствие изменения рецепции инициальных клеток листовой пластинки под действием фитогормонов набухшие семена фасоли облучали в дозе 10 Гр, после чего обрабатывали 0,001%-м раствором гиббереллина в течение 4-х ч и через сутки проростки переносили в условия гидротрофной культуры.

Влияние острого облучения: дозовая зависимость в индукции асимметрии. На момент облучения стебельная почка фасоли состояла из пары простых листков, двух пар зачаточных чешуй и апекса с двумя листовыми примордиями. Стебельная почка сои состояла из одной пары простых листков и зачаточных чешуй, одного зачаточного сложного листка и апекса с 1-2 листовыми примордиями.

При остром облучении проростков масса листьев уменьшалась, а степень асимметрии возрастала пропорционально дозе (табл.1). Корреляционные отношения (Кк1) в границах листовой пластинки у фасоли оставались постоянными (за исключением тех случаев, когда появлялись морфозы), у сои — ослаблялись пропорционально дозе облучения. Корреляция между Кас и массой листка (Кк2, Кк3) у фасоли была слабо положительной или отсутствовала, у сои — отрицательной (очевидно, торможение роста листьев сопровождалось возрастанием асимметрии). При облучении обычно корреляция (Кк2 и Кк3), независимо от знака, уменьшалась и исчезала (табл.2). В диапазоне доз от 10 до 20 Гр асимметрия листовой пластинки резко возрастала. Изменялся относительный рост латеральных и верхних сегментов, увеличивалась частота недоразвитости или полного отсутствия одной из латеральных пластинок. При облучении в дозе 20 Гр угнетался рост листьев и всего растения. В целом, острое облучение в больших дозах изменяло коррелятивные отношения в растении, характер асимметрии листьев вплоть до появления антисимметрии.

Таблица 1

Влияние острого облучения на морфометрические показатели листьев фасоли

№ п/п	Доза облучения, Гр	Объем выборки, ЦП	Масса листа, мг	Среднее отклонение	Стандартное отклонение	Кас	Кк1	Кк2
1	Контроль	28	21,04	6,9	8,3	0,26	0,84	0,01
2	5	34	19,91	9,94	11,3	0,29	0,82	0,02
3	10	39	17,67	5,11	9,27	0,40	0,82	0,03
4	15	34	16,57	7,61	9,35	0,45	0,80	0,04
5	20	8	13,35	3,7	5,0	0,51	0,81	0,06
6	20 (морфозы)	9	10,33	2,75	3,53	1,91	0,11	0,07

Примечание. Кас, Кк1, Кк2 — коэффициенты: асимметрии листа относительно массы боковых пластинок; корреляции между массой верхней и боковых пластинок, между Кас и массой целого листа соответственно.

Таблица 2

Влияние острого облучения на морфометрические показатели листьев сои

	Доза облучения, Гр	Кас	Кк1	Кк2	Кк3
1	Контроль	0,12	0,95	-0,63	-0,49
2	5	0,16	0,42	-0,08	-0,33
3	10	0,14	0,72	-0,01	-0,30
4	20	0,19	0,53	-0,17	-0,16

Примечание. Кас, Кк1 — то же, что в табл. 1; Кк2, Кк3 — коэффициенты корреляции между Кас и массой верхней пластинки, между Кас и массой боковых пластинок соответственно.

Продолжительность проявлений асимметрии в последовательных генерациях вегетативных органов в ответ на действие острого облучения. В условиях острого облучения в дозе 5 Гр у сои в последовательных генерациях листьев наблюдалось ингибирование с переходом к стимуляции. Асимметрия возрастала в тех номерах листьев, инициалии которых находились в наиболее активном митотическом состоянии (1-й и 2-й листья). Последнее указывало на то, что периферическая меристема апекса характеризуется повышенной чувствительностью к гамма-облучению, вследствие чего влияние облучения сохраняется во многих клеточных генерациях.

Наиболее чувствительным параметром для оценки влияния стресса является графическое распределение индивидуальных коэффициентов асимметрии (ИндКас). Под влиянием облучения кривые распределения ИндКас деформировались: сдвигались максимум и минимум относительно нуля, появлялся второй пик, который указывал на изменения в характере флуктуирующей асимметрии.

У фасоли влияние облучения оказалось стимулирующим в отношении всех проанализированных листьев — вес их увеличивался. Степень и знак корреляционных связей между частями листовой пластинки существенным образом не изменялись. Корреляция между Кас и массой листовой пластинки исчезала. Таким образом, хотя облучение в дозе 5 Гр значительно не повлияло на развитие растений, его последствие проявлялось в многих генерациях вегетативных органов в виде деформации кривых распределения ИндКас листьев и изменения коррелятивных отношений в границах листовой пластинки. Один из возможных механизмов индукции асимметрии может быть связан с изменениями в рецепции инициальных клеток листовой пластинки к фитогормонального градиенту.

Влияние острого облучения на компетенцию инициальных клеток листовой пластинки к действию экзогенных фитогормонов. При облучении набухших семян наблюдалось торможение развития проростков и увеличение индексов асимметрии первых настоящих листьев. Обработка семени гиббереллиновой кислотой (ГК) ингибировало развитие, индуцировало увеличение массы листовой пластинки и индексов ее асимметрии, ослабляло корреляцию между частями листовой пластинки (табл.3). В условиях комбинированного действия обоих факторов ингибирующий эффект острого облучения относительно развития растений и Кас ослаблялся, иначе говоря, ГК влияла терапевтически. По показателям массы и Кас листьев чувствительность облученных растений к действию гиббереллина уменьшалась. Как острое облучение, так и ГК увеличивали показатели варьирования массы листьев, ослабляли корреляционные связи частей листовой пластинки (Кк1). Корреляция между Кас и массой листа

Таблица 3

Влияние острого облучения и гиббереллина на морфометрические показатели листьев

№ п/п	Вариант опыта	Объем выборки, шт.	Масса листа, мг	Среднее отклонение	Стандартное отклонение	Кас	Кк1	Кк2
1	Контроль	43	29,8	6,4	8,1	0,17	0,83	0,01
2	Гамма-облучение, 10 Гр	39	27,1	9,8	12,6	0,29	0,63	0,15
3	Гиббереллин	49	33,2	12,8	15,96	0,19	0,67	0,01
4	10 Гр+гиббереллин	68	27,6	9,8	12,6	0,22	0,67	0,01

Примечание. Кас, Кк 1, Кк 2 — то же, что в табл. 1.

(Кк2) отсутствовала. Итак, острое облучение влияет на чувствительность и компетенцию клеток стеблевой меристемы к ГК и, таким образом, может воздействовать на механизмы индукции асимметрии через нарушение гормональной регуляции основных составных морфогенеза — пролиферации и растяжения клеток (цитодифференциации).

Таким образом, воздействие острого облучения носит дозозависимый характер. В небольших дозах гамма-облучение влияет в широком диапазоне ответов — от стимуляции до ингибирования роста и морфогенеза листьев разных генераций. Оно нивелирует корреляции между Кас и массой листа, влияет на соотносительный билатеральный рост листовой пластинки. Облучение в дозе от 10 Гр и больше можно рассматривать как векторизованное давление, которое вызывает переходы от флуктуирующей к направленной асимметрии и антисимметрии. Появление антисимметрии, вероятно, указывает на обострение конкурентных взаимоотношений между частями листовой пластинки. Последствия облучения проявляются во многих генерациях вегетативных органов — периферическая меристема апекса сохраняет „память” об облучении в многих клеточных генерациях. На регуляторном уровне гамма-облучение ослабляет коррелятивные связи и целостность листа как органа. Возможно, в механизмах индукции асимметрии определенную роль играет изменение компетенции инициальных клеток стеблевого апекса к действию фитогормонов, регулирующих основные процессы морфогенеза. Одна из причин асимметрии, по нашему мнению, может заключаться в нарушении согласованности между процессами пролиферации и цитодифференцировки в ходе морфогенеза листа.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Вавилов Н.И.* Избранные сочинения. В 2 т. — Л.:Наука 1967. — 2. *Mather K.* The genetic control of stability in development.// *Heredity*. 1953, с. 297-336. — 3. *Захаров В.М.* Асимметрия животных. Наука, 1987. — 4. *Graham J.H., G.M. Emlen, G.C. Freeman, L.G. Leamy, J.A.Kiser.* Directional asymmetry and measurement of developmental instability.//*Biol.J.Linn Soc*, 1998, 64,1-16. — 5. *Cowart N.M., Graham J.H.* Within and among-individual variation in fluctuating assymetry of leaves in the fig (*Ficus carica L.*).//*Int.J.Plant Sci.*, 1999, v.160,1,116-121. — 6. *Moller A.P.& Shykoff J.A.* Morphological development stability in plants: Patterns and Causes.// *Int.J.Plant Sci.*, 1999, 160 (6suppl.), s. 135-146. — 7. *Graham J.H., G.C. Freeman, Emlen G.M.* Developmental instability: a sensitive indicator of populations under stress. P.136-158 in W.G.Landis et al eds. *Environmental toxicology and risk assessment (ASTM_STP1179)*. Amer.Soc. Testing and Materials, 1993, Philadelphia. — 8. Wald-

mann P.A. Quantitative genetic method for estimating developmental instability. // *Evolution Int. J. Org. Evolution*, 2004, 58(2), 238-244. — 9. *Freeman D.C., Brown M.L., Duda J.J., Graham J.H., Emlen J.M., et al.* Developmental instability in *Rhus copallinum* L.: Multiple stressors, years, and responses. // *Int. J. Plant Sci.*, 2004, 165(1), 53-63. — 10. *Alados C.L., Escos J., Emlen J.M., Freeman D.C.* Characterization of branch complexity by fractal analyses // *Int. J. Plant Sci.*, 1999, 160 (6 suppl.): S. 147-155. — 11. *Хесин Р.Б.* Непостоянство генома. Наука, 1985. — 12. *Зайнуллин В.Г.* Генетические эффекты хронического облучения низкой интенсивности // *Радиация. Биология. Радиоэкология*. — 1997.-37,4. С.555-559. — 13. *Ратнер В.А., Васильева Л.А.* Индукция транспозиций мобильных генетических элементов стрессовыми воздействиями // *Сорос. Образоват. Журн.* -2000. -6,6, с.14-20. — 14. *Мазурик В.К., Михайлов В.Ф.* Радиационно-индуцируемая нестабильность генома: феномен, молекулярные механизмы, патогенетическое значение // *Радиация. Биология. Радиоэкология*. — 2001. - 41,3. - с. 272-289. — 15. *Портной О.А., Гродзинский Д.М., Рожко И.И.* Влияние ионизирующего облучения на проявления асимметрии в онтогенезе листовой пластинки сои. Тезиса докладов III съезда из радиационных исследований Украины (радиобиология и радиоэкология). Киев, 2003, с.391. — 16. *Кравец Е.А., Гродзинский Д.М., Рожко И.И., Бережная В.В., Шилина Ю.В., Овсянникова Л.Г.* Морфологическая асимметрия растений как реакция на действие ионизирующего излучения // *Агроэкологический журн. УААН*, 2005, N3. — 17. *Kravetz E.A., Grodzinsky D.M.* Induction of plant asymmetry by abiotic environmental factors. *Proc.35th Europ.Rad.res.Kiiv*, 2006.

*Е.А.Кравец, кандидат биологич. наук,
Д.М.Гродзинский, академик НАН Украины,
Ю.В.Шилина, кандидат биологич. наук,
Л.Г.Овсянникова,
Институт клеточной биологии
и генетической инженерии НАН Украины*