

Enaleeva N. Kh. Experimental production of gametophyte mutants // Proc. XI Int. Symp. "Embryology and seed reproduction". Leningrad, 1990. Spb, 1992. P. 143-144.

Enaleeva N., Otkalo O., Tyrnov V. Cytological expression of ig mutant in megagametophyte // Maize Genetics Cooperation. NL. 1995. V. 69. P. 121.

Huang B.Q., Sheridan W.F. Embryo sac development in the maize indeterminate gametophyte1 mutant: abnormal nuclear behavior and defective microtubule organization // Plant Cell. 1996. V 8. № 8. P. 1391-1407.

Huyghe C. La polyembryonie haploide-diploide chez le lin (*Linum usitatissimum* L.). Etude cytologique et physiologique // Agronomie. 1987. V. 7. № 8. P. 567-573.

Kennel J.C., Horner H.T. Influence of the soybean male sterile gene (ms1) on the development of the female gametophyte // Can. J. Genet. Cytol. V. 27. P. 200-209.

Lin B.-Y. Structural modification of the female gametophyte associated with the indeterminate gametophyte (ig) mutant in maize // Can. J. Genet. Cytol. 1978. V. 20. № 2. P. 249-257.

Secor D.L., Russel S. Megagametophyte organization in a polyembryonic line of *Linum usitatissimum* // Amer. J. Bot. 1988. V. 75. № 1. P. 114-122.

Sheridan W.F., Huang B.Q. Nuclear behavior in defective in the maize (*Zea mays* L.) lethal ovule2 female gametophyte // Plant J. 1997. V. 11. № 12 P. 1029-1041.

УДК 581.817:615.27

МОДУЛИРОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТАМИ МУТАГЕННОГО ЭФФЕКТА ИОНИЗИРОВАННОГО ВОЗДУХА В КЛЕТКАХ АПИКАЛЬНОЙ МЕРИСТЕМЫ *ALLIUM FISTULOSUM* L.

Т.А. Пьянзина, В.А. Трофимов

*Мордовский государственный университет им. Н.П.Огарева,
Саранск, Большевикская, 68; E-mail: geneticLab@yandex.ru*

Направленность биологических эффектов ионизированного воздуха определяется дозой – концентрацией O_2^- как во внешней среде, так и внутри клетки (Трофимов В.А., Пьянзина Т.А., 2005). O_2^- служит предшественником образования других активных форм кислорода (АФК), включая HO_2^+ , OH , H_2O_2 и O_2^1 (Иванов Б.Н., 1998). В небольших количествах O_2^- является активатором функций клеток. В малых концентрациях (мкМ) O_2^- модулирует те же клеточные функции (рост, синтез белков и т.д.), что и многие естественные активаторы, действуя на активность фосфолипаз и ионных каналов плазматической мембраны, на окислительное фосфорилирование белков, на концентрацию внутриклеточного Ca^{2+} и т.д. Если же количество O_2^- достигает 3-5% от потреблённого кислорода, это приводит к окислительному взрыву и повреждению клеток (Саприн А.Н., Калинина Е.В., 1999). Можно

выделить четыре наиболее вероятных мишени окислительной атаки АФК: индукция процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в биологических мембранах (Владимиров Ю.А. и др., 1991), повреждение мембран связанных белков (Дубинина Е.Е., Шугалей И.В., 1993), инактивация ферментов (Арчаков А.И., Мохосов И.М., 1989) и повреждение ДНК (Пескин А.В., 1997; Зиновьева В.Н., Спасов А.А., 2004).

В данной работе для выявления роли свободнорадикальных процессов в реализации потенциального генотоксического действия АФК использовали специфические ловушки свободных радикалов – карнозин (5 мМ) и маннитол (5 мМ). Антиоксидантная активность карнозина и маннитола проявляется в их способности инактивировать активные формы кислорода, захватывать свободные радикалы и хелатировать прооксидантные металлы (Болдырев А.А., 1999).

Материал и методика

В качестве тест-объекта взят лук батун (*Allium fistulosum* L.). *Allium fistulosum* L имеет наибольшее число хромосом ($2n = 16$) с хорошо изученными типами перестроек. Воздействие ионизированным воздухом на семена проводили путем помещения их под ионизатор воздуха на расстоянии 25 см от кончиков игл и облучали их в течение 40, 60, 80 минут. Контрольные и аэроионизированные семена проращивали на фильтровальной бумаге в чашках Петри в растворах, содержащих модифицирующие вещества при 25°C в течение 48 ч. Число семян в одной чашке составляло 100 штук. Опыты проводили в трех повторностях. Проросшие семена, достигшие длины 5-6 мм, фиксировали в смеси этанола с уксусной кислотой (3:1). Временные давленные в хлоралгидрате препараты готовили из апикальной меристемы и окрашивали ацетокармином. Микроскопирование и фотографирование препаратов проводили на микроскопе МБИ-1 при увеличении 600х. В каждом препарате подсчитывали делящиеся клетки, анализировали все анателофазные клетки и учитывали долю клеток с абберациями хромосом. Анализ спектра аббераций проводили с выделением хроматидных (одиночных) и хромосомных (двойных) фрагментов и мостов. Сложные, не распознаваемые абберации относили к группе неклассифицируемых. Содержание малонового диальдегида (МДА) определяли спектрофотометрическим методом с помощью реакции с тиобарбитуровой кислотой. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли методом, основанным на способности фермента тормозить аэробное восстановление нитросинего тетразолия (Гуревич В.С. и др., 1990). Активность каталазы определяли по методу, основанному на способности перекисей образовывать комплекс с солями молибдена (Королюк М.А., 1988).

Результаты и обсуждение

Нами показано, что карнозин и маннитол в присутствии H_2O_2 , $FeSO_4$ и ионизированного воздуха снижали выход хромосомных аббераций в

клетках апикальной меристемы проростков *Allium fistulosum*. Наиболее выражено снижение числа хромосомных aberrаций происходило при действии ионизированного воздуха в течение 40 минут. В этих условиях карнозин снижал выход хромосомных aberrаций в присутствии H_2O_2 (2 мМ) на 55 %, при действии $FeSO_4$ (50 мкМ) на 78 %, при действии $FeSO_4$ (5 мМ) на 51 %, при совместном действии H_2O_2 (50 мкМ) и $FeSO_4$ (50 мкМ) на 58 %, а при совместном действии H_2O_2 (2 мМ) и $FeSO_4$ (2 мМ) на 10 % по сравнению с контролем.

При действии карнозина и маннитола наблюдалась активация антиоксидантных ферментов и снижение содержания МДА. Наиболее выражены эти процессы при действии ионизированного воздуха в течение 40 минут. При этом наблюдалось резкое повышение активности СОД, каталазы и понижение уровня пероксидации липидов в проростках *Allium fistulosum* по сравнению с контролем.

Маннитол в отличие от карнозина встречается у многих растений. Концентрация маннитола возрастает в клетках в ответ на гиперосмотический шок (Тарчевский И.А., 2001). Содержание маннитола в клетках регулируется не только скоростью его биосинтеза, но и активностью ферментов, которые отвечают за утилизацию маннитола, а также ферментов, осуществляющих его катаболизм. Маннитол, который является ловушкой для ОН-радикалов, снижал число aberrаций хромосом менее эффективно, чем карнозин (рис. 1).

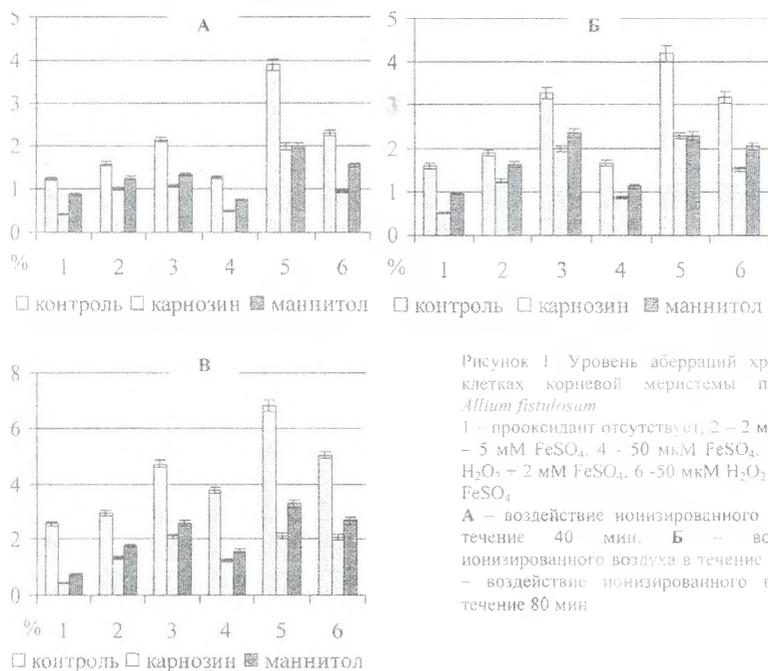


Рисунок 1. Уровень aberrаций хромосом в клетках корневой меристемы проростков *Allium fistulosum*

1 – прооксидант отсутствует, 2 – 2 мМ H_2O_2 , 3 – 5 мМ $FeSO_4$, 4 – 50 мкМ $FeSO_4$, 5 – 2 мМ H_2O_2 + 2 мМ $FeSO_4$, 6 – 50 мкМ H_2O_2 + 50 мкМ $FeSO_4$

А – воздействие ионизированного воздуха в течение 40 мин. **Б** – воздействие ионизированного воздуха в течение 60 мин. **В** – воздействие ионизированного воздуха в течение 80 мин

При воздействии ионизированного воздуха в течение 40 минут маннитол снижал выход хромосомных перестроек в присутствии H_2O_2 (2 мМ) на 43 %, при воздействии $FeSO_4$ (50 мкМ) на 65 %, при действии $FeSO_4$ (5 мМ) на 40 %, при совместном действии H_2O_2 (50 мкМ) и $FeSO_4$ (50 мкМ) на 29 %, а при совместном действии H_2O_2 (2 мМ) и $FeSO_4$ (2 мМ) на 9 % по сравнению с контролем. Маннитол также менее активно по сравнению с карнозином повышал активность антиоксидантных ферментов (СОД и каталазы) и снижал уровень МДА в проростках *Allium fistulosum*.

Во всех вариантах опыта при использовании карнозина и маннитола в условиях обработки семян прооксидантами (H_2O_2 и $FeSO_4$) наблюдалось понижение выхода хромосомных аберраций, снижение уровня пероксидации липидов и повышение активности антиоксидантных ферментов в проростках *Allium fistulosum* при воздействии ионизированного воздуха в течение 40 минут. При повышении времени воздействия ионизированного воздуха до 60 минут и выше происходило повышение выхода хромосомных аберраций, уровня МДА, понижение активности СОД и каталазы в проростках *Allium fistulosum*.

Таким образом, наши данные свидетельствуют о том, что карнозин и маннитол ингибируют свободнорадикальные процессы и как следствие предотвращают повреждения ДНК.

Литература

- Арчаков А.И., Мохосоев И.М. Модификация белков активным кислородом и их распад // Биохимия. 1989. т.54, № 2. С. 179–185.
- Болдырев А.А. Карнозин и защита тканей от окислительного стресса. Москва, 1999. С. 56–59.
- Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. Свободные радикалы в живых системах // Итоги науки и техники. Сер. Биофизика. 1991. т. 29. С. 1–249.
- Гуревич В.С., Конторщикова К.Н., Шаталина Л.В. Сравнительный анализ двух методов определения активности супероксиддисмутазы // Лабораторное дело. 1990. № 4. С. 44–47.
- Дубинина Е.Е., Шугалей И.В. Окислительная модификация белков // Успехи современной биологии. 1993. т.31, №1. С. 71–79.
- Иванов Б.Н. Восстановление кислорода в хлоропластах и аскорбатный цикл // Биохимия. 1998. т. 63, № 2. С. 165–170.
- Зиновьева В.Н., Спасов А.А. Окисление ДНК при патологиях человека, сопряженных с окислительным стрессом // Успехи современной биологии. 2004. т. 124, вып. 2. С. 144–156.
- Королук М.А. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. 1988. №1. С. 18–19.
- Пескин А.В. Взаимодействие активного кислорода с ДНК // Биохимия. 1997. т. 62, вып. 12. С. 1571–1577.

Саприн А.Н., Калинин Е.В. Окислительный стресс и его роль в механизмах апоптоза и развития патологических процессов // Успехи биологической химии. 1999. Т.39. С. 289–326.

Тарчевский И.А. Метаболизм растений при стрессе. Казань: Фэн, 2001. С. 32–34.

УДК 633.174 : (575.224.4 + 581.143.6 + 581.331.2)

ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МУТАНТОВ СОРГО С МУЖСКОЙ СТЕРИЛЬНОСТЬЮ, ПОЛУЧЕННЫХ ОБРАБОТКОЙ КАЛЛУСНОЙ КУЛЬТУРЫ *IN VITRO* СТРЕПТОМИЦИНОМ

М.И. Цветова, Л.А. Эльконин

ГНУ Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Юго-Востока РАСХН,
410010 Саратов, ул. Тулайкова, 7; e-mail: elkonin@mail.saratov.ru

К настоящему времени у различных видов растений выявлены и исследованы многочисленные гены, контролирующие развитие пыльцы. Мутации в таких генах, ведущие к мужской стерильности, найдены или искусственно индуцированы у разных видов, и их исследование представляет интерес, как с теоретической точки зрения, так и в целях практической селекции. При этом, было установлено, что отдельные гены влияют на строго определённые этапы формирования пыльцы (Kaul, 1988; Kaul, Singh, 1991; Kindiger et al., 1991).

В данной работе исследовали цитологические механизмы стерилизации пыльцы у линии сорго Майло-*ms-str* с мутацией мужской стерильности, которая была получена от регенеранта из каллуса линии Майло-10, обработанного стрептомицином (Эльконин, 1999).

Материал и методика

Линия зернового сорго (*Sorghum bicolor* (L.) Moench раса *durra*) Майло-*ms-str* была получена на основе одного мужски-стерильного растения, регенерированного из каллуса линии Майло-10, обработанного стрептомицином (500 мг/л). Этот регенерант с мутацией мужской стерильности, обозначенной *ms-str*, был опылен пыльцой исходной линии. Стерильные растения из гибрида F1 были вновь бэккроссированы с Майло-10. Полустерильные растения из BC1 были самоопылены и в их потомстве выявлены стерильные, полустерильные и фертильные растения. В дальнейшем мутация мужской стерильности поддерживалась путем самоопыления полустерильных растений в течение 9 поколений. Стерильные растения из 8-го поколения были подвергнуты цитологическому исследованию.

Соцветия фиксировали в ацетоалкоголе (1:3), промывали и хранили в 75% спирте. Для окраски использовали ацетокармин (2%) после предварительного протравливания материала в 4% растворе железоммонийных квасцов в течение 25 минут при температуре 45-50о. Для