

РАДИОБИОЛОГИЯ
РАСТЕНИЙ

УДК 635.2:581.14:577.1:577.2:57.084.1:539.1.047

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ γ -ИЗЛУЧЕНИЯ
НА СЕМЕНА ЛУКА ВЕТВИСТОГО (*Allium odorum* L.)

© 2019 г. Э. В. Филиппов¹, Г. В. Филиппова^{1,*}

¹Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, Якутск, Россия

* E-mail: nureeva@yandex.ru

Поступила в редакцию 22.04.2018 г.

В экспериментах на семенах дикорастущего вида *Allium odorum* (L.) были исследованы особенности действия острого γ -излучения на характер прорастания семян, ростовые процессы проростков, уровень перекисного окисления липидов и содержание низкомолекулярных антиоксидантов в тканях листьев и корешков, а также с использованием метода ДНК-комет был оценен уровень поврежденной ядерной ДНК проростков. Показано, что воздействие в диапазоне доз 1–500 Гр на семена *A. odorum* оказывало значительный стимулирующий эффект на начальные процессы прорастания семян. Максимальная доза облучения, используемая в эксперименте, вызывала повышение энергии прорастания, несвойственное данному виду. К сроку, соответствующему окончанию прорастания, стимулирующий эффект был отмечен только в варианте 1 Гр, что выражалось в увеличении в 1.5 раза числа проросших семян по сравнению с контролем. Облучение семян в этой дозе не вызывало повреждений ядерной ДНК и оказывало положительный эффект на рост листьев и корней, выше в 1.3 раза, чем в контроле. С повышением дозы облучения от 10 до 500 Гр отмечалось дозозависимое увеличение степени повреждений ядерной ДНК как в листьях, так и в корнях проростков. Незначительное ингибирующее действие на рост корней наблюдалось у проростков, выросших из семян, облученных 10 Гр, и значительно усугублялось при более высоких дозах, что также отражалось в низком содержании низкомолекулярных антиоксидантов в клетках корней (100 Гр.). Отставание в росте листьев отмечалось в варианте 500 Гр и сопровождалось низким уровнем перекисного окисления липидов в клетках относительно контроля.

Ключевые слова: *Allium odorum*, семена, γ -излучение, всхожесть, ростовые процессы, адаптивный ответ, метод ДНК-комет, ДНК-повреждения, радиочувствительность

DOI: 10.1134/S0869803119050059

В зависимости от дозы, мощности и продолжительности воздействия ионизирующей радиации в растительных организмах могут проявляться стимулирующие или ингибирующие эффекты. Известно, что воздействие низкими дозами способно ускорять деление клеток, прорастание семян, стимулировать рост и развитие растений, а также повышать продуктивность различных растений [1–3].

Покоящиеся семена растений, вследствие низкого содержания влаги и незначительной метаболической активности, более устойчивы к действию ионизирующих излучений, чем взрослые растения [4]. При прорастании, в период набухания семян, с увеличением содержания влаги и дыхательной активности генерируются свободно-радикальные продукты реакций, выступающие в качестве сигнальных молекул [5], что наряду с повреждениями, вызванными прямым действием радиации, может значительно усиливать негативное воздействие [6].

Значительный вклад в изучение радиочувствительности семян растений внесен Е.И. Преображенской. На основании изучения (по выживаемости к концу вегетационного сезона) около 700 видов культурных и дикорастущих растений из разных таксономических групп Е.И. Преображенской была предложена классификация радиочувствительности растений [7]. Вместе с тем при определении порога радиоустойчивости семян дикорастущих видов встречаются случаи изменения их радиочувствительности. Так, в работе [8] показано, что лабораторная выживаемость проростков одного вида может отличаться в разные годы сбора. Причем изменения могут быть таковы, что исследуемый вид из ранее установленной группы радиочувствительных растений “перемещается” в другую — средне-радиочувствительных. Изменчивость радиочувствительности связывают с температурно-влажностными условиями вегетации и созревания семян в год сбора [9]. Кроме того, возможны трудности при оценке лабораторной выживаемости проростков

у дикорастущих видов с замедленным характером прорастания семян, обусловленные частыми сдвигами в сроках начала и длительности прорастания. В этой связи оправданным является использование комплексного подхода, включающего изучение морфологических (длина корешка и побега) и биохимических параметров. Достаточно информативным может быть применение в исследованиях чувствительных методов, позволяющих количественно регистрировать генотоксические эффекты.

Цель данного исследования – определение особенностей действия острого γ -излучения на характер прорастания семян *Allium odorum* (L.), ростовые процессы проростков, уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) и содержание низкомолекулярных антиоксидантов (НМАО) в тканях листьев и корней, а также уровень повреждений ядерной ДНК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Материалом для исследований служили семена дикорастущего вида *Allium odorum*, собранные в природе на разнотравно-злаковом лугу долины Туймаада Центральной Якутии. Семена были просушены в сухом и проветриваемом темном помещении. Выбор вида в качестве объекта исследования был обусловлен компактностью произрастания с достаточным количеством особей на ограниченной территории и большим количеством семян с достаточно крупным размером проростков, позволяющим получить достаточную для проведения исследований вегетативную массу.

Семена подвергали воздействию γ -излучения (^{60}Co) на установке “ГУР-120” (ВНИИСХРАЭ, г. Обнинск, Россия). Мощность дозы источника составляла 60 Гр/ч, облучение проводили в дозах: 1, 10, 100, 500 Гр. В качестве образцов сравнения (контроль) использовали необлученные семена. Облученные и контрольные семена проращивали в чашках Петри на увлажненных фильтрах, в четырех повторностях по 50 штук в каждой. Проращивание проводили в климатической камере KBWF 240 (“Binder”, Германия) при стандартных условиях: температуре $24 \pm 0.1^\circ\text{C}$, фотопериодичности 16 ч свет/8 ч темнота, 70%-ной влажности. Интенсивность света 8 тыс. люкс, представлена холодно-белым светом люминесцентных ламп.

Семена *A. odorum* характеризуются медленным прорастанием, максимальное количество проросших семян приходится на середину периода прорастания. В этой связи определяли энергию прорастания (7-й день) и количество проростков на 30-й день от момента посева семян. Также оценивали длину главного зародышевого корешка и самый длинный лист 30-дневных проростков.

Материалом для биохимических и молекулярных исследований служили листья и корешки 30-дневных проростков. Все спектрофотометрические измерения были проведены на приборе UV-2600 (“Shimadzu”, Япония). Определение суммарного содержания низкомолекулярных антиоксидантов (НМАО) проводили по методике [10], основанной на окислении антиоксидантов хлоридом железа (III). При этом хлорид железа (III) восстанавливался до хлорида железа (II), количество которого измеряли по изменению интенсивности окраски при добавлении о-фенантролина ($\epsilon = 52.8/(\text{мМ см})$) при длине волны 510 нм. Интенсивность процессов ПОЛ определяли по накоплению окрашенного комплекса малонового диальдегида (МДА) с тиобарбитуровой кислотой ($\epsilon = 155/(\text{мМ см})$) при длине волны 532 нм [11].

Степень фрагментации ДНК в листьях и корнях проростков определяли с помощью щелочной версии метода ДНК-комет (одноклеточный гель-электрофорез) с некоторыми модификациями [12], позволяющего количественно измерить повреждения ДНК, включая однонитевые, двунитевые разрывы, щелочелабильные сайты (пуриновые и пиримидиновые) и др. [13]. Все операции по выделению изолированных ядер клеток проводили под тусклым желтым светом. Листья и корешки разделяли и помещали в чашку Петри (60 мм) на льду. С помощью острого лезвия бритвы листья и корешки были аккуратно нарезаны. Кончики корешков с апикальной меристемой отсекали. На срезы автоматической пипеткой капельно наносили 250 мкл холодного натрий-фосфатного буфера pH 7.5. Чашки держали наклоненными во льду, таким образом, чтобы высвобождающиеся из клеток ядра концентрировались в буфере. Суспензию (60 мкл) сразу вносили в пробирки с 240 мкл 1%-ного раствора легкоплавкой агарозы и наносили на предварительно покрытые тугоплавкой агарозой предметные стекла. После затвердевания агарозы микропрепараты помещали в щелочной буфер для электрофореза (300 ммоль/л NaOH, 1 ммоль/л ЭДТА, pH > 13) на 20 мин для денатурации ДНК и реализации щелочелабильных сайтов в однонитевые разрывы. Электрофорез проводили в течение 20 мин при напряженности поля 1 В/см и силе тока ~300 мА, после чего препараты промывали натрий-фосфатным буфером (pH 7.5), фиксировали в 70%-ном растворе этанола и высушивали. Непосредственно перед микроскопированием препараты окрашивали флуоресцирующим красителем SYBR Green I (20 мкг/мл) в течение 30 мин. Анализ проводили на флуоресцентном микроскопе (“ЛабМед-2Л”, Россия), при увеличении $\times 250$, используя возбуждающий и отсекающий светофильтры на 490, 530 нм соответственно. Полученные с микропрепаратов изображения “ДНК-комет” анализировали с использованием программного обеспечения

“CASP 1.2.2”. В качестве показателя поврежденности ДНК использовали процентное содержание ДНК в хвосте “комет” (% ДНК в хвосте от общего количества ДНК в “комете”). Атипичные ДНК-кометы, характеризующиеся отсутствующей или практически отсутствующей головой и широким диффузным хвостом, выделяли в отдельную категорию и подсчитывали (%) на каждые 100 шт. “ДНК-комет” [14].

Все измерения были выполнены в четырех повторностях. Результаты экспериментов представлены в виде средней арифметической величины и ее стандартной ошибки. Сравнение выборок проводили методом однофакторного дисперсного анализа (ANOVA), значимость отличия от контроля определяли с использованием критерия Даннета для множественного сравнения при уровне значимости $p \leq 0.05$. Расчет проводился с помощью пакета AnalystSoft, StatPlus – программа статистического анализа, v.2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Всхожесть семян. Изучение радиочувствительности дикорастущих растений сопряжено с некоторыми трудностями, вызванными, главным образом, особенностями биологии прорастания их семян. К важным показателям всхожести дикорастущих растений относят начало, длительность и характер прорастания [15]. Семена *A. odorum* по типу прорастания значительно схожи с семенами *A. mongolicum*. Последние относят к семенам с медленным появлением всходов и их максимальным количеством в середине периода прорастания, с длительностью от 15–20 (до 44) дней, всхожестью 50–70% (начало приходится на 4–7-й (до 20) день) [16]. В этой связи оценивали энергию прорастания, а также число проростков на 30-й день от момента посева семян, в срок, наиболее полно соответствующий биологии прорастания семян *A. odorum*.

Анализ полученных данных по энергии прорастания семян *A. odorum* показал, что все тестируемые дозы облучения привели к статистически достоверному увеличению этого показателя относительно контроля ($p \leq 0.05$), т.е. наблюдался стимулирующий эффект облучения (рис. 1). Минимальная доза (1 Гр) вызывала увеличение в 1.5 раза числа проросших семян, максимальная (500 Гр) приводила к повышению в 2.0 раза данного показателя относительно контроля ($p \leq 0.05$). К 30 дням стимуляционный характер воздействия γ -излучения сохранялся только в варианте 1 Гр, тогда как варианты 10 и 100 Гр статистически достоверно не отличались от контроля. В варианте 500 Гр не было отмечено дополнительно проросших семян *A. odorum*.

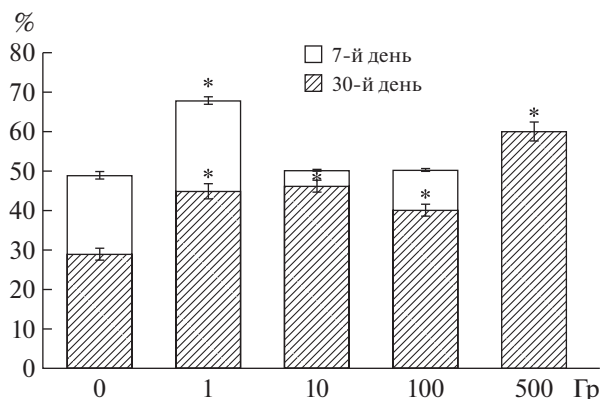


Рис. 1. Энергия прорастания и всхожесть семян *Allium odorum* в зависимости от воздействия дозы облучения. * Статистически значимые отличия от контроля при $p \leq 0.05$ (ANOVA, *t*-тест Даннета).

Fig. 1. Germination energy and germination of *Allium odorum* seeds, depending on the exposure to radiation dose.

Длина листьев и корня. К числу важных критериев оценки воздействия стрессорирующих факторов на растения, наряду с физиологическими реакциями, также относят анализ ростовых процессов как чувствительный параметр индивидуальной ответной реакции растительных организмов [17]. Длина листьев 30-дневных проростков в контроле составляла 37 ± 3 мм (рис. 2). Облучение семян 1 Гр вызывало статистически значимое увеличение этого показателя в 1.3 раза ($p \leq 0.05$). Дозы 10 и 100 Гр не оказывали такого эффекта, длина листьев не отличалась от необлученного варианта. Облучение семян в дозе 500 Гр приводило к достоверному снижению длины листьев в 1.6 раза относительно контроля ($p \leq 0.05$) и составляло 23 ± 2 мм. Изменение длины корня проростков в зависимости от дозы облучения имело несколько иной характер. С увеличением дозы облучения семян *A. odorum*, длина корней 30-дневных проростков снижалась. Угнетение корня было отмечено в варианте 10 Гр, а при 100 Гр длина корня была в 2.0 раза меньше относительно контроля ($p \leq 0.05$). Более высокая доза 500 Гр оказывала сильнейшее ингибирующее воздействие, длина корня составляла 2 ± 0.5 мм против 11 ± 1 мм в контроле.

Перекисное окисление липидов (ПОЛ) и низкомолекулярные антиоксиданты (НМАО). Исследовано накопление МДА как конечного продукта деградации жирных кислот биологических мембран, образующегося в результате воздействия АФК. МДА является маркером ПОЛ и окислительного стресса. К числу низкомолекулярных антиоксидантов относят различные по структуре соединения, способные инактивировать свободно-радикальные процессы [5]. В тканях листьев с увеличением дозы облучения наблюдалось сни-

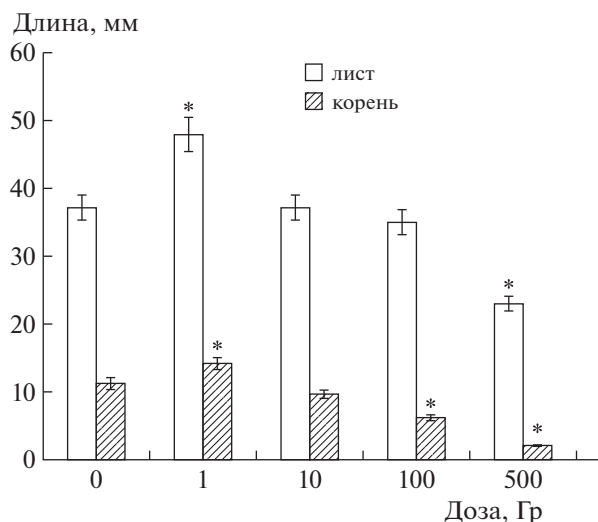


Рис. 2. Длина листа и корня у проростков *Allium odorum*, сформировавшихся из облученных семян.
* Статистически значимые отличия от контроля при $p \leq 0.05$ (ANOVA, t -тест Даннета).

Fig. 2. The length of the leaf and root of *Allium odorum* seedlings formed from irradiated seeds.

жение уровня МДА на 19–31% по сравнению с контролем ($p \leq 0.05$; таблица 1). Процессы ПОЛ в тканях корней также не превышали контрольного уровня. В вариантах с облучением 1 и 100 Гр было отмечено снижение накопления МДА на 33% относительно контроля ($p \leq 0.05$). Ввиду незначительной длины корня в варианте 500 Гр измерение данного параметра не представлялось возможным.

Содержание НМАО в тканях проростков в зависимости от дозы облучения достоверно не превышало контрольных значений. В вариантах воздействия 1 и 500 Гр в тканях листьев содержание НМАО уменьшалось в 1.3 раза ($p \leq 0.05$), в осталь-

Таблица 1. Биохимические характеристики тканей проростков, сформировавшихся из облученных семян
Table 1. Biochemical characteristics of seedling tissues formed from irradiated seeds

Доза, Гр	НМАО МГ-ЭКВ _{кверцетин} /Г _{ткани}		МДА мкмоль/Г _{ткани}	
	лист	корень	лист	корень
0	2.4 ± 0.2	2.1 ± 0.2	1.6 ± 0.2	0.6 ± 0.05
1	1.9 ± 0.2	2.2 ± 0.2	1.3 ± 0.1	0.4 ± 0.03*
10	2.3 ± 0.2	2.0 ± 0.2	1.2 ± 0.1*	0.6 ± 0.05
100	2.4 ± 0.2	1.3 ± 0.1*	1.2 ± 0.1*	0.4 ± 0.03*
500	1.9 ± 0.1*	—	1.1 ± 0.1*	—

* Статистически значимые отличия от контроля при $p \leq 0.05$ (ANOVA, t -тест Даннета).

ных случаях было сопоставимо с уровнем контроля. В тканях корней проростков снижение в 1.6 раза ($p \leq 0.05$) содержания НМАО было отмечено только в варианте 100 Гр.

Комет-анализ ДНК. В настоящее время метод ДНК-комет нашел широкое применение в научных исследованиях, связанных с детекцией и оценкой степени повреждений ДНК клеток организмов, включая растения, вызванных различными факторами [18]. Использование в исследовании щелочной версии метода ДНК-комет позволило оценить степень фрагментации (одонитевые, дунитевые разрывы, щелочелабильные сайты и др.) ядерной ДНК в клетках проростков *A. odorum* в зависимости от дозы облучения семян. Показано, что однократное острое облучение семян приводило к дозозависимому увеличению степени повреждения ДНК, как в листьях (рис. 3), так и в корешках 30-дневных проростков (рис. 4). В контрольных образцах значение % ДНК в хвосте “кометы” листьев и корешков составляло 0.1%. Доза 1 Гр не вызывала генотоксического эффекта, тогда как воздействие 10 Гр приводило к увеличению % ДНК в хвосте (листья) и появлению значительного числа атипичных ДНК “комет” в листьях (42.9%) и корнях (22.7%) проростков. Зарегистрированные атипичные ДНК “кометы” имели две морфологические формы. Одна из них характеризовалась отсутствующей, или практически отсутствующей головой и широким диффузным хвостом, другая была представлена диффузной головой со свободным пространством в центральной части головы. Воздействие более высоких доз на семена вызывало увеличение ДНК в хвосте кометы в листьях проростков до 20% при 100 Гр, 21.5% при 500 Гр и корнях 6% (100 Гр), 47.9% (500 Гр). Также было отмечено увеличение числа атипичных ДНК “комет” в листьях – 79.3% в варианте 100 Гр и 83.3% при 500 Гр, в корешках – 34.3 и 43.7% соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что в ходе набухания семян поступление воды происходит путем диффузии, через мембраны. По достижении 60%-ной влажности в семенах функционирует основной метаболизм: активируются ферменты, повышается интенсивность дыхания, осуществляется мобилизация питательных веществ и др. [5, 19]. Проклевывание семян осуществляется при растяжении клеток зародыша за счет дальнейшей интенсификации поступления воды через аквапорины в осевые органы. Процесс ускорения прорастания семян при воздействии ионизирующего излучения связывают, в том числе, с увеличением скорости поступления воды, способствующей снижению концентрации ингибиторов, изменениями гормональной сети сигнализации в клетках растений,

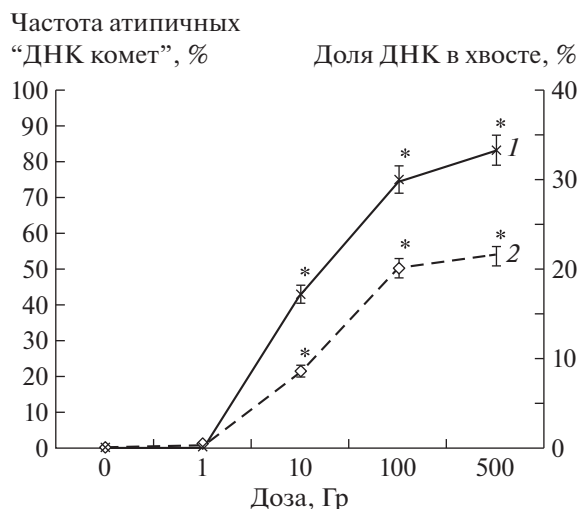


Рис. 3. Уровень повреждений ядерной ДНК в клетках листьев 30-дневных проростков *Allium odorum* в зависимости от дозы облучения семян. 1 — частота атипичных "ДНК комет"; 2 — доля ДНК в хвосте кометы. * Статистически значимые отличия от контроля при $p \leq 0.05$ (ANOVA, *t*-тест Даннета).

Fig. 3. The level of nuclear DNA damage in the leaf cells of 30-day-old *Allium odorum* seedlings, depending on the seed irradiation dose.]

вызывающих перевод зародыша в активное состояние [5, 17]. Так, авторами [20] показано, что у облученных в диапазоне 25–200 Гр семян риса во время набухания (в период 0–8 ч) увеличивалось поступление воды в семена, а при 100 и 200 Гр было выше контрольного до 36 ч. Также отмечено усиление прорастания семян при этих тестируемых дозах по сравнению с необлученными семенами. Это согласуется с полученными нами данными по энергии прорастания семян *A. odorum*, облученных в диапазоне 1–500 Гр. Особенно важно отметить стимулирующий эффект 500 Гр, который может быть обусловлен высокой скоростью поступления воды в семена и осевые органы зародышей, что вызывало быстрые темпы проклевывания семян и соответственно повышение энергии прорастания, несвойственное для этого вида.

К числу основных критериев оценки стимулирующих эффектов также относят темпы роста растений, обусловленные ускорением развития корня и побега в первые дни с момента прорастания семян и характеризующиеся относительным приростом этих показателей [17]. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что рост корня и листьев стимулировался лишь при воздействии на семена дозой 1 Гр, при более высоких дозах наблюдается ингибирование ростовых процессов. Вместе с тем длина корешка являлась более радиочувствительным параметром. Дозозависимое снижение длины корешка наблюдалось в

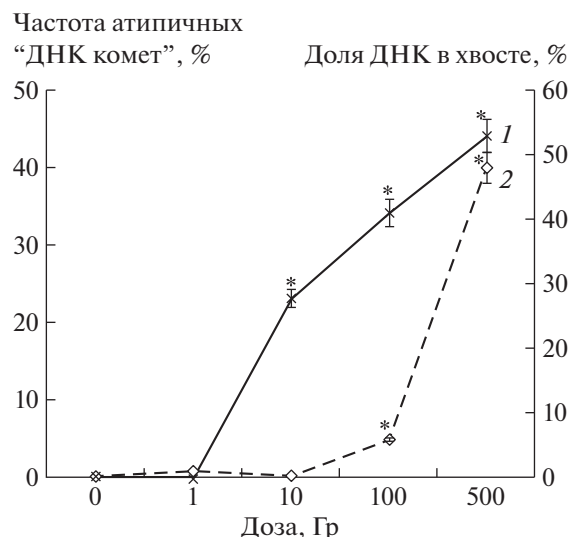


Рис. 4. Уровень повреждений ядерной ДНК в клетках корней 30-дневных проростков *Allium odorum* в зависимости от дозы облучения семян. 1 — частота атипичных "ДНК комет"; 2 — доля ДНК в хвосте кометы. * Статистически значимые отличия от контроля при $p \leq 0.05$ (ANOVA, *t*-тест Даннета).

Fig. 4. The level of damage to nuclear DNA in the cells of the roots of 30-day-old *Allium odorum* seedlings, depending on the seed dose.

диапазоне 10–500 Гр, а достоверное снижение длины листа лишь при 500 Гр. В работе [21] на семенах ячменя было показано, что при облучении в стимулирующих дозах увеличение размеров корня и ростка происходит за счет увеличения темпов развития, а не более раннего прорастания.

К эффектам, часто наблюдаемым в ответ на воздействие облучения в низких или высоких дозах, наряду с усилением или ингибированием прорастания семян и роста проростков, также относят антиоксидантные реакции и накопление повреждений ДНК [22–24].

Определение уровня перекисного окисления липидов (полиненасыщенных жирных кислот) является одним из важных критериев оценки пострадиационных эффектов. Дозозависимое накопление продукта ПОЛ в проростках сои было показано при воздействии облучения на семена в дозах 100, 120, 140 и 200 Гр [25]. Наибольшее увеличение содержания МДА в тканях растений регистрировалось при высоких дозах ионизирующей радиации, используемых в экспериментах [25, 26]. Вместе с тем имеются сведения о более низком содержании H_2O_2 и МДА в тканях облученных растений, чем в необлученном контроле [27, 28]. Схожие результаты были получены в нашем исследовании — показан относительно низкий, по сравнению с контролем, уровень ПОЛ в листьях 30-дневных проростков *A. odorum*, сформировавшихся из семян, облученных при 10, 100,

500 Гр и в корешках при 100 Гр, что не исключает возможности интенсификации процессов ПОЛ на более ранних сроках. Вероятно, низкие значения МДА могут быть обусловлены повышенной активностью ферментативных (не исследовались в данной работе) антиоксидантных систем. Значительное снижение содержания НМАО нами отмечено в корнях при 100 Гр, а в листьях при 500 Гр.

Ингибирование роста, индуцированное высокими дозами облучения, связывают с нарушениями клеточного цикла при соматическом делении клеток и/или различными повреждениями во всем геноме [29]. Анализ ДНК комет показал увеличение повреждений ДНК в листьях и корнях проростков в зависимости от дозы облучения семян *A. odorum*, за исключением варианта воздействия 1 Гр, которое не оказывало генотоксического эффекта. Схожие результаты были получены в исследованиях на 4-недельных проростках *Zoysia japonica* [26], при облучении семян в дозах 100, 200 и 400 Гр. Авторы этого исследования прослеживали генотоксические эффекты в корешках проростков, начиная со 100 Гр, а в варианте 400 Гр % ДНК в хвосте был в 5.5 раз выше, чем в контроле. При этом достоверное увеличение МДА в образце 400 Гр не превышало 50% от необлученного варианта. Полученные результаты в нашем исследовании и в работе [26] позволяют предположить, что радиоиндуцируемые высокие уровни генотоксического эффекта при низком уровне ПОЛ (зафиксированные на 4–5-й неделе от начала прорастания) являлись результатом прямого и косвенного действия ионизирующей радиации на молекулы ДНК и, по-видимому, на фоне подавления репарационных процессов, приводили к накоплению повреждений.

Следует отметить, что в листьях проростков показатели уровня повреждений ДНК были значительно выше, чем в корешках. Поскольку в эксперименте для оценки уровня повреждений ДНК использовалась щелочная версия “комет”, которая позволяет суммарно регистрировать одно- и двухцепочечные разрывы, а также щелочлабильные сайты, уточнение характера повреждений в ДНК клеток листьев требует дальнейших исследований.

Полученные результаты по воздействию на семена *A. odorum* максимальной дозы, используемой в эксперименте (500 Гр), согласуются с представлениями о том, что если дозы слишком высоки и реализация регенерационных процессов подавляется, а в клетках и тканях растений способны протекать метаболические процессы и многие физиологические функции, то проявляется эффект метаболической выживаемости [4].

Таким образом, воздействие острого γ -излучения в диапазоне доз 1–500 Гр на семена *A. odorum* оказало значительный стимулирующий эффект

на начальном сроке прорастания семян. Причем облучение высокой дозой (500 Гр) вызвало повышение энергии прорастания, несвойственное данному виду. К 30 дням стимулирующий эффект всхожести был отмечен только у семян, облученных в дозе 1 Гр. Облучение семян в этой дозе не вызывало повреждений ядерной ДНК в тканях листьев и корней проростков и оказывало положительный эффект на их рост. С увеличением дозы облучения в диапазоне 10–500 Гр отмечалось дозозависимое увеличение степени повреждений ядерной ДНК, как в листьях, так и в корнях проростков, относительно контроля. По-видимому, более высокое количество атипичных ДНК комет, отмеченное в клетках листьев, обусловлено различным характером повреждений ДНК в листьях и корнях проростков *A. odorum*. Незначительное ингибирующее действие на рост корней наблюдалось у проростков, выросших из семян, облученных в дозе 10 Гр и значительно усугублялось при более высоких дозах, что также отражалось в низком содержании низкомолекулярных антиоксидантов в клетках корней (100 Гр). Отставание в росте листьев отмечалось при 500 Гр и сопровождалось низким уровнем ПОЛ в клетках относительно контроля. Полученные результаты свидетельствуют о том, что при определении радиочувствительности дикорастущих растений необходимо учитывать биологию прорастания семян исследуемых видов. Наряду с ростовыми процессами, достаточно информативными для прогнозирования радиочувствительности, могут также являться показатели стабильности структуры ядерной ДНК, изучение специфики и характера повреждений которой, несомненно, требует дальнейших исследований.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках госзадания ИБПК СО РАН на 2017–2020 гг. по проекту VI.52.1.8. Фундаментальные и прикладные аспекты изучения разнообразия растительного мира Северной и Центральной Якутии (0376-2019-0003; № АААА-А17-117020110056-0).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гродзинский Д.Н., Коломиец К.Д., Гудков И.Н. и др. Формирование радиобиологической реакции растений. Киев: Наука, 1984. 216 с. [Grodzinskiy D.N., Kolomiec K.D., Gudkov I.N. i dr. Formirovanie radiobiologicheskoy reakcii rastenij. Kiev: Nauka, 1984. 216 s. (In Russian)]
2. Kim J.-S., Lee E.-K., Back M.-H., Kim D.-H., Lee Y.-B. Influence of low dose γ radiation on the physiology of germinative seed of vegetable crops // Korean J. Environ. Agric. 2000. V. 19. P. 58–61.
3. Wi S.G., Chung B.Y., Kim J.-H. et al. Ultrastructural changes of cell organelles in Arabidopsis stem after

- gamma irradiation // *J. Plant Biol.* 2005. V. 48. №2. P. 195–200.
4. Храмченкова О.М. Основы радиобиологии. Гомель: УО “ГГУ им. Ф. Скорины”, 2003. 238 с. [*Hramchenkova O.M. Osnovy radiobiologii. Gmel': UO "GGU im. F. Skoriny", 2003. 238 s. (In Russian)*]
 5. Bailly C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology // *Seed Sci. Res.* 2004. V. 14. P. 93–107.
 6. Корогодин В.И. Восстановление клеток от повреждений. М.: Знание, 1976. [*Korogodin V.I. Vosstanovlenie kletok ot povrezhdenij. M.: Znanie, 1976. (In Russian)*]
 7. Преображенская Е.И. Радиостойчивость семян растений. М., 1971. 232 с. [*Preobrazhenskaja E.I. Radioustojchivost' semjan rastenij. M., 1971. 232 s. (In Russian)*]
 8. Филиппов Э.В., Троева Е.И. Радиочувствительность семян растений Центральной Якутии к острому гамма-облучению // *Растительный мир Азиатской России.* 2016. № 3 (23). С. 75–80. [*Filippov E.V., Troeva E.I. Radiochuvstvitel'nost' semjan rastenij Central'noj Jaku-tii k ostromu gamma-oblucheniju // Rastitel'nyj mir Aziatskoj Rossii. 2016. № 3 (23). S. 75–80. (In Russian)*]
 9. Антонова Е.В., Каримуллина Э.М., Позолотина В.Н. Внутривидовая изменчивость дремы белой в градиенте радионуклидного загрязнения ВУРСа // *Экология.* 2013. № 1. С. 20–29. [*Antonova E.V., Karimullina Je.M., Pozolotina V.N. Vnutrividovaja izmenchivost' dremy beloj v gradiente radionuklidnogo zagrijaznenija VURSa // Jekologija. 2013. № 1. S. 20–29. (In Russian)*]
 10. Ермаков А.И. Методы биохимического исследования растений. Л.: Агропромиздат, 1987. 430 с. [*Ertakov A.I. Metody bihimicheskogo issledovanija rastenij. Leningrad: Agropromizdat, 1987. 430 s. (In Russian)*]
 11. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 252 с. [*Vladimirov Ju.A., Archakov A.I. Perekisnoe okislenie lipidov v biologicheskijh membranah. M.: Nauka, 1972. 252 s. (In Russian)*]
 12. Gichner T., Patkova Z., Szakova J., Demnerova K. Cadmium induces DNA damage in tobacco roots, but no DNA damage, somatic mutations or homologous recombination in tobacco leaves // *Mutat. Res.* 2004. V. 559. P. 49–57.
 13. Tice R.R., Agurell E., Anderson D. et al. Single cell gel/Comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing // *Environ. Mol. Mutag.* 2000. V. 35. P. 206–221.
 14. Жанатаев А.К., Никитина В.А., Воронина Е.С., Дурнев А. Д. Методические аспекты оценки ДНК-повреждений методом ДНК-комет // *Прикл. токсикология.* 2011. Т. 2. № 4. С. 28–37. [*Zhanataev A.K., Nikitina V.A., Voronina E.S., Durnev A. D. Metodicheskie aspekty ocenki DNK-povrezhdenij metodom DNK-komet // Prikladnaja toksikologija. 2011. T. 2. № 4. S. 28–37. (In Russian)*]
 15. Вихирева-Василькова В.В. О прорастании семян некоторых арктических растений // *Ботан. журн.* 1958. Т. 43. № 7. С. 1024–1029. [*Vihireva-Vasil'kova V.V. O prorastanii semjan nekotoryh arkticheskijh rastenij // Botanicheskij zhurnal. 1958. T. 43. № 7. S. 1024–1029. (In Russian)*]
 16. Борисова И.В. Типы прорастания семян степных и пустынных растений // *Ботан. журн.* 1996. Т. 81. № 12. С. 9–22. [*Borisova I.V. Tipy prorastanija semjan stepnyh i pustynnyh rastenij // Botanicheskij zhurnal. 1996. T. 81. № 12. S. 9–22. (In Russian)*]
 17. Чурюкин Р.С., Гераськин С.А. Влияние облучения (⁶⁰Co) семян ячменя на развитие растений на ранних этапах онтогенеза // *Радиация и риск.* 2013. Т. 22. №3. С. 80–92. [*Churjukin R.S., Geras'kin S.A. Vlijanie obluchenija (60Co) semjan jachmenja na razvitie rastenij na rannih jetaпах ontogeneza // Radiacija i risk. 2013. T. 22. №3. S. 80–92. (In Russian)*]
 18. Филиппов Э.В. Использование метода “ДНК-комет” для детекции и оценки степени повреждений ДНК клеток организмов растений, животных и человека, вызванных факторами окружающей среды (обзор) // *Наука и образование.* 2014. № 2 (74). С. 72–78. [*Filippov E.V. Ispol'zovanie metoda "DNK-komet" dlja detekcii i ocenki stepeni povrezhdenij DNK kletok organizmov rastenij, zhivotnyh i cheloveka, vyzvannyh faktoriami okruzhajushhej sredy (obzor) // Nauka i obrazovanie. 2014. № 2 (74). S. 72–78. (In Russian)*]
 19. Обручева Н.В., Синькевич И.А., Литягина С.В., Новикова Г.В. Особенности водного режима при прорастании семян // *Физиол. растений.* 2017. Т. 64. № 4. С. 311–320. [*Obrucheva N.V., Sin'kevich I.A., Litjagina S.V., Novikova G.V. Osobennosti vodnogo rezhima pri prorastanii semjan // Fiziologija rastenij. 2017. T. 64. № 4. S. 311–320. (In Russian)*]
 20. Macovei, A., Garg, B., Raikwar, S. et al. Synergistic exposure of rice seeds to different doses of γ-ray and salinity stress resulted in increased antioxidant enzyme activities and genespecific modulation of TC-NER pathway // *Biomed. Res.* 2014. Int. 2014:676934.
 21. Гераськин С.А., Чурюкин Р.С., Казакова Е.А. Модификация развития ячменя на ранних этапах онтогенеза при воздействии γ-излучения на семена // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2015. Т. 55. № 6. С. 607–615. [*Geras'kin S.A., Churjukin R.S., Kazakova E.A. Modifikacija razvitija jachmenja na rannih jetaпах ontogeneza pri vozdejstvii γ-izluchenija na semena // Radiacionnaja biologija. Radiojekologija. 2015. T. 55. № 6. S. 607–615. (In Russian)*]
 22. Song J. Y., Kim D.S., Lee M-C et al. Physiological characterization of gamma-ray induced salt tolerant rice mutants // *Austral. J. Crop. Sci.* 2012. V. 6. № 3. P. 421–429.
 23. Wi S.G., Chung B.Y., Kim J. et al. Effects of gamma irradiation on morphological changes and biological responses in plants // *Micron.* 2007. V. 38. №6. P. 553–564.
 24. Kovacs E., Keresztes A. Effect of gamma and UV-B/C radiation on plant cells// *Micron.* 2002. V. 33. №2. P. 199–210.
 25. Stajner D., Popovic B. M., Taski K. Effects of γ-irradiation on antioxidant activity in soybean seeds // *Central Eur. J. Biol.* 2009. V. 4. №3. P. 381–386.

26. Lee H.-J., Kim Y.-S., Jo Y. D. et al. Oxidative stress and DNA damage induced by gamma irradiation in Korean lawngrass (*Zoysia japonica* Steud.) // Eur. J. Horticultural Sci. 2016. V. 81. №6. P. 303–309.
27. Seung Gon Wi, Byung Yeoup Chung, Jae-Sung Kim et al. Effects of gamma irradiation on morphological changes and biological responses in plants // Micron. 2007. V. 38. P. 553–564.
28. Hammed A., Shah T.M., Atta B.M. et al. Gamma irradiation effects on seed germination and growth, protein content, peroxidase and protease activity, lipid peroxidation in Desi and Kabuli chickpea // Pakistan J. Botany. 2008. V. 40. P. 1033–1041.
29. Preussa S.B., Britta A.B. A DNA-damage-induced cell cycle checkpointing in Arabidopsis // Genetics. 2003. V. 164. P. 323–334.

Peculiar Properties of the Effect of γ -Radiation on Seeds of *Allium odorum* L.

E. V. Filippov^a and G. V. Filippova^{a, #}

^aInstitute of Biological Problems of Cryolithozone SB RAS, Yakutsk, Russia

[#]E-mail: nureeva@yandex.ru

In the experiments on seeds of wild-growing species *Allium odorum* (L.), the peculiarities of the effects of acute γ -radiation on seed germination, the processes of seedling growth, the level of lipid peroxidation (LPO) and the content of low-molecular antioxidants in leaf and root tissues, the level of DNA damage to seedlings were evaluated using the method DNA comets. It is shown that exposure of seeds to radiation in the range of 1–500 Gy has a significant stimulating effect on the initial processes of seed germination. The maximum radiation dose used in the experiment caused an increase in the germination energy unusual for this species. By the end of germination, the stimulating effect was observed only in variant 1 Gy, which was expressed in an increase by 1.5 times in the number of shoots as compared to the control. Irradiation of seeds at this dose did not cause damage to nuclear DNA in the tissues of leaves and roots of the seedlings and had a positive effect on their growth, which was 1.3 times higher than in the control. With an increase in the dose from 10 to 500 Gy, a dose-dependent increase in the degree of nuclear DNA damage was observed, both in the leaves and roots of seedlings. A slight inhibitory effect on the root growth was observed in the seedlings grown from the seeds irradiated with 10 Gy, and significantly increased at higher doses, which was also reflected on the low content of low molecular weight antioxidants in root cells (100 Gy.). The lag in leaf growth was noted in the 500 Gy variant and was accompanied by a low level of LPO in the cells relative to the control.

Key words: *Allium odorum*, seeds, γ -radiation, germination, growth processes, adaptive response, DNA comet assay, DNA damage, radiosensitivity