

Дослідження присвячено вивченню впливу γ -променів в діапазоні малих доз на генетичний апарат. В даній роботі підтверджується наявність плато в області 0,1-0,3 Гр для променевиx маркерів - дицентричних хромосом. Показано, що радіаційно-індуковані цитогенетичні ефекти найкраще всього апроксимуються за допомогою моделі сплайнової регресії. З метою інтерпретації характеру дозових кривих за цитогенетичними показниками доцільно враховувати індивідуальну радіочутливість людини (G_2 assay).

Ключові слова: іонізуюча радіація, лімфоцити, генетичні пошкодження.

Резюме

Демченко Е. Н., Демина Э. А., Петунин Ю. И., Савкина М. Ю.
Индукция генетических повреждений в культуре лимфоцитов человека при действии малых доз ионизирующей радиации.

В исследовании изучали влияние γ -лучей в диапазоне малых доз на генетический аппарат. В работе подтверждается наличие плато в области 0,1-0,3 Гр для лучевых маркеров - дицентрических хромосом. Показано, что радиационно-индуцированные цитогенетические эффекты наилучше аппроксимируются с помощью модели сплайновой регрессии. С целью интерпретации характера дозовых кривых за цитогенетическими показателями целесообразно учитывать индивидуальную радиочувствительность человека (G_2 assay).

Ключевые слова: ионизирующая радиация, лимфоциты, генетические повреждения.

Summary

Demchenko E.N., Dyomina E.A., Petunin Yu. I., Savkina M.Yu.
Genetic injuries in human lymphocytes induced by the effects of low doses of ionizing radiation.

The investigation is devoted to the effect of γ -rays in low dose range on the genetic apparatus. Presence of the plateau in the dose range of 0,1-0,3 Gy for radiation markers - dicentric chromosomes, is confirmed. It is shown that the best approximation of radiation induced cytogenetic effect is reached by the application of the regression spline model. With the aim of the of dose curves character interpretation according to the obtained cytogenetic parameters it is expedient to take into account human individual radiation sensitivity (G_2 assay).

Key words: ionizing radiation, lymphocytes, genetic injuries.

Рецензент: д.біол.н., проф.Б.П.Романюк

УДК 575.224.056.3.345.857-02

РЕКОМБІНАЦІЙНІ ПОДІЇ У НАЩАДКІВ ПРЕДСТАВНИКІВ ПРИРОДНИХ ПОПУЛЯЦІЙ DROSOPHILA MELANOGASTER УКРАЇНИ

І.А. Козерецька, О.В. Проценко, С.В. Демидов

Київський національний університет ім.Тараса Шевченка

Вступ

Відомо, що рекомбінація є основним джерелом генетичної мінливості у вищих організмів. Реципрокні обміни між генетичними комплексами відіграють ключову роль в проходженні генетичних процесів в природних популяціях, обумовлюючи формування нових комбінацій генів, які мають різну селективну цінність. Крім того відомо, що різноманітні фактори як зовнішнього так і внутрішнього середовища здатні впливати на частоти рекомбінації. Отже, кожен конкретний представник даної популяції характеризується певними показниками рекомбінаційних процесів та вносить свій вклад в проходження цих процесів в популяції загалом.

Метою даної роботи було вивчення частоти гомологічної рекомбінації в особин *Drosophila melanogaster*, гетерозиготних по генах *w* (white: 1-1.5) і *ct* (cut: 1-20.0), один з гомологічних наборів хромосом яких походить від лабораторної лінії, інший від самців з природних популяцій дрозофіл України.

Матеріали та методи дослідження

В якості матеріалу для досліджень були використані особини з природних популяцій різних міст України, а саме: Києва, Одеси, Лубен, Пирятину, Умані, Варви, Магарача і Чорнобиля. Збір мух проводили в серпні - вересні 2005-2008 років. В усіх містах крім Чорнобиля відлов дрозофіл проводився в одній точці. В районі Чорнобиля були зібрані представники трьох популяцій з місць які різнилися по рівню радіоактивного забруднення (Поліське - 50 мкР/час, Чорнобиль - 100 мкР/час, Водойма охолоджувач - 2100 мкР/час). Для визначення частоти рекомбінаційних подій в статевій хромосомі між генами *white* (*w*, 1-1.5) і *cut* (*ct*, 1-20) у самок, один з хромосомних наборів яких походить від

самців з природних популяцій *Drosophila melanogaster*, самців з природних популяцій схрещували з віргінними самками лінії *w* *ct*. Нашадків першого покоління схрещували між собою. Частоту кросинговера оцінювали аналізуючи розподілення фенотипових проявів у нащадків в другому поколінні. Статистичну обробку результатів проводили по загально прийнятим методикам [2].

Отримані результати та їх обговорення

В результаті було продемонстровано, що в 2005 році статистично достовірне зниження в порівнянні з контролем спостерігалось лише у самок, одна з X хромосоми яких походить від самців з природних популяцій Одеси, Поліського, Лубен, Києва та Пирятину (табл.1.).

Таблиця 1

Частота рекомбінації на ділянці між генами *white* і *cut* в досліджуваних природних популяціях України (2005 - 2007 рік)

Природні популяції	2005 рік		2006 рік		2007 рік	
	Частота кросинговеру (%)	Значення F	Частота кросинговеру (%)	Значення F	Частота кросинговеру (%)	Значення F
Київ	11,6	16,36	10,3	20,42	9,1	24,37
Умань	15,3	3,64	21,5	2,62	13,6	6,22
Одеса	9,3	28,51	14,4	4,08	15,8	0,97
Поліське	8,9	20,76	9,7	14,22	9,8	14,27
Чорнобиль	15,9	1,58	12,2	10,16	9,1	23,48
Водойма охолоджувач ЧАЕС	18,2	0,01	17,9	0	14,1	3,66
Лубни	10,1	24,82	6,6	48,76	10,9	12,76
Пирятин	13,9	6,33	12	12,65	13,8	4,81
Варва	-	-	13,5	4,46	14,6	2,25
Магарач	-	-	-	-	18,3	0,01
C-S (контроль)	18,4	-	17,9	-	18,1	-

Примітки: нульова гіпотеза про рівність часток у генеральних сукупностях відхиляється при $F > 3,8$ ($p = 0,05$)

При вивченні рекомбінації у самок нащадків, представників досліджуваних природних популяцій, в 2006 році статистично достовірне зниження відсотку кросинговеру було зафіксовано в особин з X хромосомою, що походить від самців з популяцій Київ, Одеса, Чорнобиль, Поліське, Пирятин, Лубни та Варва

(табл. 1.). В усіх інших досліджуваних популяціях зміни в частоті кросинговеру були статистично не достовірними.

В 2007 статистично достовірне зниження частоти кросинговеру спостерігалось у особин з X хромосомою, що походить від самців з популяцій з Києва, Умані, Поліського, Чорнобиля, Пирятину та Лубен (табл. 1.). В усіх інших, досліджуваних в цей рік популяціях *D. melanogaster*, зміни в частоті кросинговеру не були статистично достовірними. Отже, статистично достовірне зниження частоти рекомбінації протягом всіх трьох років моніторингу спостерігалось в популяції *D. melanogaster* Поліське, Київ, Пирятин та Лубни. В популяціях Чорнобиль зниження частоти кросинговеру було зафіксовано в 2006 та 2007 роках, а в популяції Одеса в 2005 та 2006 роках. В популяції Умань зниження частоти кросинговеру було зафіксовано лише в 2007 році, а в популяції Варва лише в 2006. В популяціях, Водойма охолоджувач та Магарач жодного разу за весь період моніторингу не було зафіксовано відхилення частоти кросинговеру від контрольних показників. Слід зазначити, що жодного разу не було зафіксовано статистично достовірного збільшення частоти рекомбінаційних подій на ділянці між генами *w* і *ct* в порівнянні з контролем, навіть у нащадків популяцій, які мешкають на радіоактивно забруднених територіях.

Згідно класичним дослідженням Т.Моргана, відстань між генами в хромосомах є величина стала за стандартних умов [11]. Вимірюється ця відстань в одиницях рекомбінації, а саме у відсотках кросинговеру, або гомологічної рекомбінації [8]. Хоча відстань для двох фіксованих точок на генетичній карті є величина постійна, частота кросинговеру залежить також від багатьох факторів як зовнішньої (температура, вологість, щільність популяції, забруднення різної природи, включаючи радіоактивне) так і внутрішньої (вік особини, місцезнаходження гену на генетичній карті, генетичне оточення, рівень метилування ДНК) природи [1,7].

З літератури відомо, що γ -опромінення й рентгенівські промені викликають підвищення частоти рекомбінації в *Drosophila melanogaster* [12, 14], але малі дози, особливо при опроміненні більше пізніх стадій розвитку, приводять до зниження частоти кросинговеру [13]. Необхідно відзначити, що всі ці ефекти опи-

сані для випадків з опроміненням гетерозиготних по досліджуваних генах самок [12-14]. Встановлено, що на метильованих ділянках ДНК гомологічна рекомбінація супресується. У особин, які підпали під радіаційне опромінення, відбувається додаткова генетична експресія, що супроводжується деметильованням протяжних нуклеотидних послідовностей. Це може призводити до підвищення частоти рекомбінації на деметильованих ділянках хромосом [7]. В той же час у виду *Drosophila melanogaster* метилування ДНК відбувається на дуже низькому рівні в порівнянні з іншими видами тварин (0.1-0.4% у ембріонів) [10], а отже, і процес активації окремих генів в наслідок ради активного опромінення повинен бути забезпеченим іншими, відмінними від деметильовання процесами. Одночасно це значить, що і підвищення частоти рекомбінації при високих дозах радіаційного опромінення у цього виду неможна пов'язувати з деметильованням [12-14].

Відомо, що для того, що б кросинговер мав місце, необхідно умовою є наявність протяжної гомології в послідовностях двох гомологічних хромосом. Така є присутня по-перше, не завжди, по друге, її зміни носять динамічний характер. Порушення гомології може бути наслідком мутаційного процесу й чим вище його швидкість, тим більше виникає мутацій, тим нижче буде очікувана частота рекомбінації. Динамічність пов'язана з наявністю в геномах абсолютно всіх живих організмів не тільки чітко локалізованих у них послідовностей, але так само й мобільних складових, а саме, так званих мобільних елементів (МЕ) [9]. По визначенню МЕ здатні змінювати своє місце розташування й копіюваність, але відбувається це не постійно, а під впливом різних активуючих факторів, одним із яких є низькодозове радіоактивне опромінення [5]. МЕ здатні не тільки вбудовуватися в місця, де їх раніше не спостерігалося в геномі, але так само й вирізатися із цих місць, тим самим відновлюючи чи ні вихідну нуклеотидну послідовність. Розміри МЕ та їх кількість в геномах різних видів організмів значно варіює [6], що в результаті може впливати на частоту рекомбінації.

Все вищесказане дозволяє зробити висновок, що у випадку з вивченням процесів гомологічної рекомбінації в природних популяціях *Drosophila melanogaster*, ми фактично оцінюємо

не вплив різних факторів навколишнього середовища на кросинговер як такий, а наслідку цих впливів (виникнення розходжень у гомологічних послідовностях), що проявляються в тому числі й у процесі гомологічної рекомбінації. Тобто чим більше вплив, тим більше змін, тим нижче очікувана частота кросинговеру.

Було показано, що природні популяції *D. melanogaster* України, що живуть на територіях з підвищеним фоном радіоактивного забруднення, характеризуються на порядок більше високим виходом у поколіннях видимих рецесивних мутацій [3]. У всіх вивчених природних популяціях *D. melanogaster* України встановлена наявність Р мобільного елемента [4]. Усе вище сказане дозволяє припустити, що нуклеотидна послідовність у хромосомах в особин із природних популяцій буде трохи відрізнятися від такої в лабораторних ліній й, отже, частота кросинговеру буде трохи нижче очікуваної. Підвищена концентрація рецесивних мутацій і можлива активність МЕ в природних популяціях *Drosophila melanogaster*, що живуть на територіях з підвищеним рівнем радіаційного забруднення дозволяє також припустити, що найнижчі показники гомологічної рекомбінації повинні спостерігатися саме в особин гетерозиготних по хромосомах, що походять з територій які підпали наслідком аварії на ЧАЕС. Це припущення підтверджується в популяціях Поліське та Чорнобиль де частота гомологічної рекомбінації статистично достовірно нижче контрольного рівня. В той же час в популяції Водойма охолоджувач частота рекомбінації на досліджуваній ділянці статистично достовірно не відрізнялась від контролю. Однак, на нашу думку такий результат можна пояснити впливом радіаційного опромінення так як ця популяція мешкає на території радіаційне забруднення якої перевищує поріг низьких доз радіації, як було зазначено вище радіаційне опромінення призводить до збільшення частоти рекомбінаційних. Тому на нашу думку саме радіаційне опромінення невілює зниження частоти рекомбінації в особин з цієї популяції.

Було показано, що природні популяції *Drosophila melanogaster* України, що мешкають на території з підвищеним фоном радіаційного забруднення, характеризуються на порядок більш високим рівнем виходу видимих рецесивних мутацій в поколіннях [3].

В усіх досліджених природних популяціях *Drosophila melanogaster* України встановлено наявність Р мобільного елемента [4]. Все вище викладене дозволяє припустити, що нуклеотидна послідовність в хромосомах у особин з природних популяцій буде дещо відрізнятися від такої у лабораторних ліній, а отже частота кросинговеру буде дещо нижча очікуваної. Підвищена концентрація рецесивних мутацій та можлива активність МЕ в природних популяціях *Drosophila melanogaster*, що мешкають на території з підвищеним рівнем радіаційного забруднення дозволяє також припустити, що найнижчі показники гомологічної рекомбінації мають бути саме в особин гетерозиготних по хромосомах, які походять з територій які постраждали після аварії на ЧАЕС.

Також окрему ситуацію склали популяції Київ та Лубни де також було зафіксовано зниження частоти рекомбінації в той же час ці регіони характеризуються як відносно чисті стосовно радіаційного забруднення. Однак, при дослідженні МЕ активність мобільного Р-елементу в цих популяціях вище ніж в усіх інших досліджуваних нами природних популяціях, що може бути пов'язано з збільшенням кількості копій цього МЕ в геномах особин з цих популяцій. Що в свою чергу може бути причиною, зниження частоти рекомбінації в особин з цих популяцій.

Висновок

1. У популяціях Одеси, Києва, Поліського, Чорнобиля, Лубен, Пірятина зафіксовано зниження частоти рекомбінації (на 1 - 9 сМ).

2. В інших досліджених природних популяціях (Умань, Варва, Магарач, чорнобильська водойма-охолоджувач) протягом усіх трьох років дослідження такі ефекти не спостерігались.

Література

1. Жученко А.А. Рекомбінація в еволюції і селекції / А.А. Жученко, А.Б.Король. - М.: Наука. - 1985. - 400 с.
2. Лакін Г.Ф. Биометрия / Г.Ф.Лакін. - М.: Высшая школа, 1990. - 352 с.
3. Проценко О.В. Мутаційні процеси в природних популяціях *Drosophila melanogaster* України / О.В.Проценко, І.А.Козерецька // Фактори експериментальної еволюції

організмів : збірник наукових праць. - Київ, 2006. - Т. 3. - С.49-53.

4. Проценко А.В. Поширення Р-елемента в природних популяціях *Drosophila melanogaster* України / А.В.Проценко, І.А.Козерецька, О.В.Жук // Вісник українського товариства генетиків і селекціонерів. - 2007. - Т.5, № 1-2. - С. 62-68.

5. Ратнер В.А. Индукция транспозиций мобильных генетических элементов стрессовыми воздействиями / В.А. Ратнер, Л.А.Васильева // Образовательный журнал. - 2000. - № 6. - С. 2-7.

6. Хесин Р.Б. Непостоянство генома / Р.Б.Хесин. - М.: Наука, 1984. - 472 с.

7. Colot V. Eukaryotic DNA methylation as an evolutionary device / V.Colot, J.L.Rossignol // BioEssays. - 1999. - Vol. 21. - P. 402-411.

8. Griffiths A.J.F. An introduction to genetic analysis / A.J.F. Griffiths, J.H.Miller, D.T.Suzuki. - New York: W.H. Freeman and Co,1993. - P.132-135.

9. Kidwell M.G. Hybrid Dysgenesis in *Drosophila melanogaster*: A Syndrome of Aberrant Traits Including Mutation, Sterility and Male Recombination / M.G.Kidwell, J.F.Kidwell, J.A.Sved // Genetics. - 1977. - Vol. 86. - P. 813-833.

10. Lyko F. DNA methylation in *Drosophila melanogaster* / F. Lyko, B.H. Ramsahoye, R. Jaenisch // Nature. - 2000. - Vol. 408. - P. 538-539.

11. Morgan T.H. Chromosomes and associative inheritance / T.H.Morgan // Science. - 1911. - Vol. 34, № 880. - P. 636-638.

12. Muller H.J. The regionally differential effect of X-rays on crossing over in autosomes of *drosophila* / H.J.Muller // Genetics. - 1925. - Vol. 10, № 5. - P. 470-507.

13. Plough H.H. Radium radiation and crossing over / H.H.Plough // Amer. Natur. - 1924. - Vol. 58. - P. 85-87.

14. Whittingill M. Some effects of gamma rays on recombination and crossing-over in *Drosophila melanogaster* / M.Whittingill // Genetics. - 1951. - Vol. 36. - P. 332-355.

Резюме

Козерецька І.А., Проценко О.В., Демидов С.В. *Рекомбінаційні події у нащадків представників природних популяцій *Drosophila melanogaster* України.*

Проаналізовано частоту рекомбінаційних подій у особин *Drosophila melanogaster*, гетерозиготних по генах *w* (white: 1-1.5) і *ct* (cut: 1-20.0), один з гомологічних наборів хромосом яких походить з лабораторної лінії, а інший від самців з 9 природних популяцій дрозофіл України. Показано, що у представників популяцій Одеси, Поліського Києва, Чорнобиля, Лубен, Пірятина частота рекомбінації понижена порівняно з контролем (на 1 - 9 сМ). У представників природних популяцій Умань, Варва, Магарач, Чорнобиль і Водоймище охолоджувач протягом трьох років моніторингу подібні ефекти не спостерігалися.

Ключові слова: гомологічна рекомбінація, природні популяції, *Drosophila melanogaster*.

Резюме

Козерецкая И.А., Проценко А.В., Демидов С.В. *Рекомбинационные события у потомков представителей природных популяций *Drosophila melanogaster* Украины.*

Проанализировано частоту рекомбинационных событий у особей *Drosophila melanogaster*, гетерозиготных по генам *w* (white: 1-1.5) и *ct* (cut: 1-20.0), один из гомологичных наборов хромосом которых происходит из лабораторной линии, а другой от самцов из 9 природных популяций дрозофил Украины. Показано, что у представителей популяций Одессы, Киева, Полесского, Чернобыля, Лубнов, Пирятина частота рекомбинации снижена в сравнении с контролем (на 1 - 9 сМ). У представителей природных популяций Умань, Варва, Магарач, Чернобыль и Водоем охладитель в течении трех лет мониторинга подобные эффекты не наблюдались.

Ключевые слова: гомологическая рекомбинация, природные популяции, *Drosophila melanogaster*.

Summary

Kozeretska, I.A., Prosenko O.V., Demidov. S.V. *Recombination in the offspring of *Drosophila melanogaster* from natural populations of Ukraine.*

We analyzed recombinant frequency in *Drosophila melanogaster* individuals heterozygous on genes *w* (white: 1-1.5) and *ct* (cut: 1-20.0), one of homologous sets of which comes from laboratory line, and other from males of 9 Ukraine natural *Drosophila* populations. We showed, that representatives from Odessa, Kiev, Poliss'ke, Chernobyl, Lybny and Pyryatyn populations had decreased recombination frequency comparing to control (1 - 9 cM). Representatives from natural populations of Uman, Varva, Magarach, Chernobyl and Cooling pond haven't had such effects observed during all 3 year experiments.

Key words: homologous recombination, natural populations, *Drosophila melanogaster*.

Рецензент: д.мед.н., с.н.с. Ж.М. Мінченко

УДК 582.284 (477.60 : 477.62)

БАЗИДИОМІЦЕТИ ПРИРОДНИХ ТА ТРАНСФОРМОВАНИХ ЕКОТОПІВ СХОДУ УКРАЇНИ

Т.А. Лешан, М.І. Конопля

Луганський національний університет ім.Тараса Шевченка

Вступ

Гриби дуже чутливі до змін навколишнього середовища. Вони активно накопичують більшість токсичних речовин, викидів та залишків різної природи з субстрату, ґрунту, деревини, води, повітря тощо. Тобто, екологічний стан довкілля впливає не тільки на розвиток, а й на хімічний склад карпофоров та рівень безпеки вживання грибів. Екологічна ситуація на Сході України продовжує погіршуватися та потребує комплексних заходів щодо усунення наслідків екологічно небезпечних галузей промислового виробництва, сільського й лісового господарства, невиробничої сфери тощо. Тому актуальними проблемами екології регіону залишаються питання інвентаризації сучасного складу, еколого-трофічних зв'язків, охорони та відтворення всіх компонентів ландшафтів, в тому числі й грибів. Базидіоміцети широко розповсюджені на Сході України, але за останні 50 років траплялися лише фрагментарні дані про гриби окремих об'єктів ПЗФ, площа яких складає менше 5% території регіону, решта ж представлена штучними, антропогенно й техногенно трансформованими ценозами, які залишалися недослідженими.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконувалася відповідно плану науково-дослідних робіт (НДР) Луганського національного університету ім.Тараса Шевченка та являє собою фрагмент теми НДР кафедри біології "Біологічні основи раціонального використання, збереження флори і фауни Сходу України" (№ держреєстрації 0103U003611).

Метою роботи було проведення комплексної інвентаризації базидіоміцетів, визначення їх видового, еколого-трофічного та еколого-ценотичного складу, виявлення характеру поширен-