

ЧАСТОТА ПЕРЕСТРОЕК ХРОМОСОМ В ПРОРОСТКАХ СЕМЯН *CREPIS CAPILLARIS* 7-ЛЕТНЕГО ВОЗРАСТА В ПЕРВОМ, ВТОРОМ И ТРЕТЬЕМ МИТОТИЧЕСКИХ ЦИКЛАХ

В первых работах по изучению естественного мутационного процесса показано, что при старении семян повышается частота мутаций [1, 2]. Это явление подтверждено другими авторами [3—5]. Позднее высказана идея, что мутации в старых семенах вызываются в основном мутагенными продуктами обмена веществ [6, 7]. Так как естественный мутационный процесс вызывается многими факторами (как физическими, так и химическими), сравнение особенностей естественного мутирования с мутированием при воздействии химическими соединениями может до некоторой степени показать, какие факторы могут играть преобладающую роль в естественном мутационном процессе. Кроме того, до настоящего времени не исследовался вопрос о длительности действия аутомутагенов, изучение которого может дать некоторые сведения о моменте возникновения перестроек хромосом при старении семян. С этой целью мы предприняли изучение естественного мутационного процесса в трех последовательных митотических циклах при проращивании старых семян *Crepis capillaris*.

Для опытов, проводившихся в 1969—1970 гг. использованы семена *C. capillaris* урожая 1963 г., хранимые в комнатных условиях. В силу асинхронности клеточной популяции в одном сроке фиксации могут присутствовать одновременно клетки, находящиеся в первом, втором и третьем митотических циклах. Для того чтобы разграничить клеточные циклы, через 20 часов после замачивания (такие семена еще не проклюнулись) отстойную водопроводную воду заменяли 0,01%-ным раствором колхицина и проращивали в нем семена до конца опытов при температуре 25—26°C в термостате. Клетки, прошедшие одну редупликацию, были диплоидными, две—тетраплоидными и три—октоплоидными. Через 42 часа, с момента замачивания, наклюнувшиеся семена отбирали в чашку Петри и фиксировали с интервалом 4 часа (ранняя фракция). Через 99 часов с начала замачивания снова отбирали наклюнувшиеся семена и фиксировали через каждые 4 часа до 132 часов с момента замачивания (поздняя фракция); 3-ю фракцию семян отбирали через 156 часов и фиксации проводили через 4 часа от 156 до 169 часов после начала замачивания.

Фиксировали смесью спирта и ледяной уксусной кислоты (3:1). Учет перестроек хромосом в метафазах диплоидных, тетраплоидных и октоплоидных клеток проводили на давленных ацетокарминовых препаратах.

Так как число мишеней (хромосом) в полиплоидных клетках кратко увеличивается, для сравнения данных в клетках разной пloid-

ности, частоту перестроек в тетраплоидных и октоплоидных клетках пересчитывали на диплоидный набор хромосом (на 2 и 4 соответственно).

1. Анализ перестроек хромосом, возникающих в рано- и поздно-прорастающих старых семенах в первом митотическом цикле.

На рис. 1 приведены данные по уровню естественного мутирования клеток корневой меристемы *S. capillaris* в рано- и позднопрорастающих семенах. Как наблюдалось и ранее [8, 9], в старых семенах есть оба

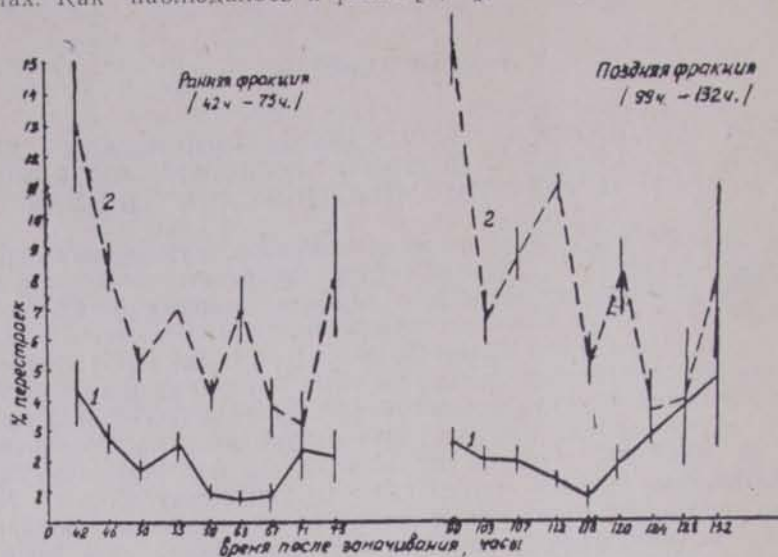


Рис. 1. Частота перестроек хромосом в проростках семян 7-летнего возраста в разные сроки от начала замачивания (диплоидные клетки).

- 1 — хроматидные перестройки,
2 — перестройки хромосомного типа.

типа aberrаций, причем доля перестроек хромосомного типа превышает выход хроматидных перестроек. По нашим наблюдениям, такая закономерность сохраняется в ранней (6,6 и 2,06%) и в поздней фракциях (7,8 и 1,6% соответственно). Частота хроматидных перестроек по точкам фиксации колебалась незначительно, но зафиксирована достоверная разница в проценте aberrаций между максимальными и минимальными точками как в ранней, так и в поздней фракциях. Что касается перестроек хромосомного типа, то в первых фиксациях обеих фракций наблюдали максимальный процент перестроек (13,0 в ранней и 15,2 в поздней), достоверно отличающихся от последующих точек фиксации, где идет падение процента aberrаций. Сравнение частоты перестроек хромосомного типа в рано- и позднопрорастающих семенах показало, что в поздней фракции имеется тенденция к повышению частоты перестроек хромосомного типа, в то время как процент хроматидных перестроек остается на одном уровне (2,06 и 1,6). Для проверки этого факта мы проследили динамику мутирования хромосом в проростках семян через 156 часов после замачивания (табл. 1). Было просмотрено 4 срока фиксации. Суммарный процент перестроек хромосомного типа по этим срокам фиксации в диплоидных клетках составлял 10,0%. Из табл. 1 видно, что с увеличением времени прорастания семян наблюдается достоверное увеличение процента перестроек хромосомного типа.

Частота перестроек хромосом в диплоидных клетках проростков 7-летнего
возраста, проросших через 156 часов после начала замачивания

Время фиксации от начала зама- чивания	Число изу- ченных метазел	Перестройки					
		все типы		хроматидные		хромосомные	
		число	%	число	%	число	хромосом- ные
156	484	98	$29,2 \pm 1,82$	3	$0,6 \pm 0,35$	95	$19,6 \pm 1,79$
160	598	56	$9,4 \pm 1,19$	6	$1,0 \pm 0,4$	50	$8,4 \pm 1,13$
164	491	53	$10,8 \pm 1,40$	7	$1,3 \pm 0,5$	46	$9,4 \pm 1,31$
169	610	30	$4,9 \pm 0,87$	2	$0,3 \pm 0,2$	28	$4,6 \pm 0,84$
Средний %	—	—	$11,3 \pm 0,67$	—	$0,8 \pm 0,17$	—	$10,5 \pm 0,64$

В диплоидных клетках во всех трех фракциях отмечалась резкая неравномерность в эффекте старения. Отдельные клетки были сильно поражены. Трудности учета типов перестроек не позволили нам внести данные по таким клеткам в общие таблицы. Подавляющее число перестроек в этих корешках были хромосомного типа и лишь единичные—хроматидные. Очевидно, причиной этого являются физиологические изменения в семени. Таким образом, изучив уровень и спектр естественного мутирования в первом митотическом цикле при прорастании старых семян, мы показали, что количество хроматидных aberrаций в рано- и позднопроросших семенах невелико и не зависит от срока прорастания семян. Количество перестроек хромосомного типа в несколько раз выше, чем хроматидных, максимальный процент их наблюдали в первых фиксациях, и с увеличением срока прорастания семян увеличивалась частота перестроек хромосомного типа.

2. Анализ перестроек хромосом, возникающих в рано- и позднопрорастающих старых семенах во втором митотическом цикле.

Динамика естественного мутационного процесса в тетраплоидных клетках приведена на рис. 2. Во втором митозе снова были обнаружены хроматидные перестройки. Они составляли приблизительно одинаковый процент в обеих фракциях (2,9 в ранней фракции и 3,4 в поздней). Число хроматидных перестроек в пересчете на диплоидный набор не превышало такового в первом митотическом цикле, то есть мутирование шло на том же самом уровне. Различия в частоте хроматидных перестроек по точкам фиксации внутри ранней и поздней фракции невелики, как и в диплоидных клетках, но также наблюдали достоверные различия между максимальными и минимальными точками фиксации.

В отличие от мутирования хромосом в диплоидных клетках, в тетраплоидных клетках мы не обнаружили вновь возникших перестроек хромосомного типа. Их количество было равно количеству хроматидных перестроек в диплоидных клетках, это были перестройки, пришедшие из первого митоза (размноженные).

3. Анализ перестроек хромосом, возникающих в рано- и позднопрорастающих старых семенах в третьем митотическом цикле.

В октоплоидных клетках, как и в тетраплоидных вновь возникали только хроматидные перестройки (рис. 3). Они составляли 7,0% в ранней фракции и 6,3% в поздней. Частота хроматидных перестроек в пересчете на диплоидный набор не отличалась от таковой в диплоидных и тетраплоидных клетках.

Соотношение основных типов хроматидных aberrаций в первом, втором и третьем митотических циклах было одинаковым. Доминирую-

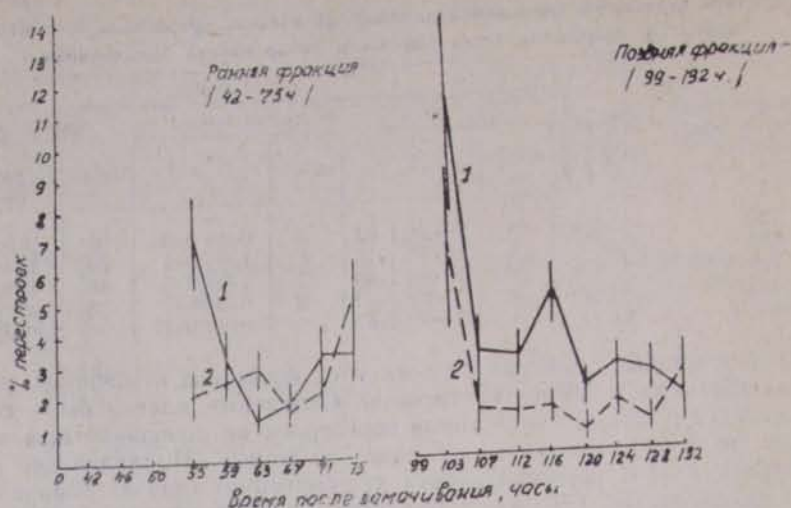


Рис. 2. Частота перестроек хромосом в проростках семян 7-летнего возраста в разные сроки от начала замачивания (тетраплоидные клетки).

1 — хроматидные перестройки,
2 — перестройки хромосомного типа.

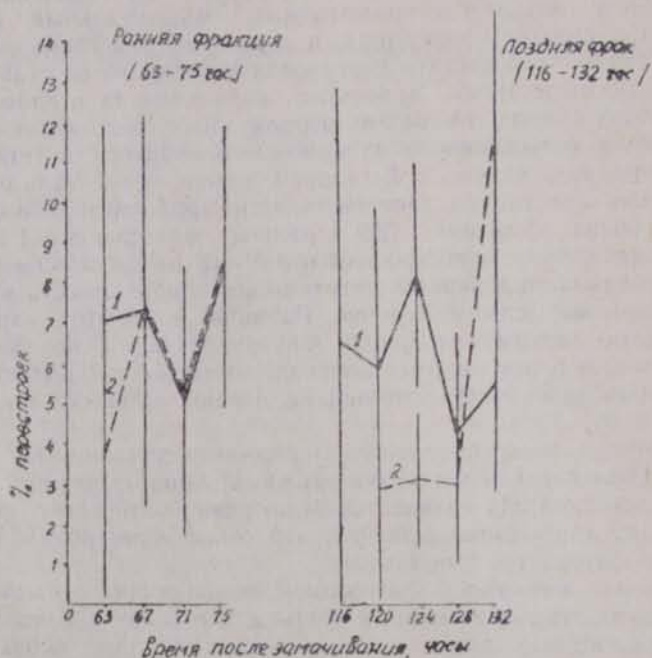


Рис. 3. Частота перестроек хромосом в семенах, прорастающих в разные сроки от начала замачивания (октоплоидные клетки).

1 — хроматидные перестройки,
2 — перестройки хромосомного типа.

щим типом aberrаций были изохроматидные делеции с воссоединением концов фрагментов и без него, несколько меньше было хроматидных концевых делеций. Хроматидные обмены встречались в незначительном количестве. Наблюдали также триадалии и дупликации—делеции.

Перестройки хромосомного типа в диплоидных клетках были представлены в основном асимметричными и симметричными хромосомными транслокациями (64,6%) и парными микрофрагментами (23,4%). Наблюдали кольца и инверсии. В октоплоидных клетках мы встречали одиночные перестройки хромосомного типа и парные (разножонные). Первые представляли собой разножонные хроматидные перестройки, пришедшие из второго митоза; парные хромосомные представляли разножонные хроматидные перестройки, пришедшие из первого митоза или же это были перестройки хромосомного типа, которые выглядели в тетраплоидных клетках как одна перестройка, а в октоплоидных клетках стали парными (разножонными). Перестройки хромосомного типа, наблюдаемые в диплоидных клетках, в октоплоидных выглядели как четыре одинаковые хромосомные перестройки.

Итак, наши исследования показали, что в первом митотическом цикле в клетках проростков, выросших из старых семян, наблюдалось два типа aberrаций: хроматидные и хромосомные. В тетраплоидных и октоплоидных клетках вновь возникали только хроматидные перестройки.

Известно, что клетки зародыша *S. capillaris* находятся в стадии g_1 . Если считать, что при старении aberrации возникают до прорастивания семян, то они должны были бы быть все хромосомного типа. Очевидно, что это не так, и aberrации, по крайней мере их часть, образуются во время прорастивания. Возможно следующее объяснение. Aberrации в старых семенах могут индуцироваться мутагеном незадержанного типа, который, как известно, вызывает как хроматидные, так и хромосомные перестройки [10]. Однако мы наблюдали, что такой типичный мутаген с незадержанным эффектом, как 8-этоксикофеин, при действии на проростки *S. capillaris* дает в первом митозе больше хроматидных aberrаций, чем хромосомных [11], а в старых семенах преобладали перестройки хромосомного типа. Известно, что стадия g_1 в клетках семян у креписа при их прорастивании длится гораздо дольше, чем в проростках [12]. Поэтому, если при намачивании начинает работать мутаген с незадержанным эффектом, то основное его действие будет в g_1 и возникает больше aberrаций хромосомного типа. Как мы показали, этот мутаген, как и 8-этоксикофеин, уже не действует в тетраплоидных клетках и там нет перестроек хромосомного типа [11]. Можно предположить, что он весь расходуется в первом митотическом цикле. Но в тетраплоидных и октоплоидных клетках наблюдали хроматидные перестройки. Для объяснения этого факта мы допустили, что в старом семени могут возникать и мутагены, похожие по типу действия на химические агенты с задержанным эффектом. Как известно, последние индуцируют только хроматидные перестройки и могут длительно сохраняться и действовать в нескольких клеточных поколениях в отличие от мутагенов с незадержанным эффектом [13, 14].

Очевидно, в наших опытах хроматидные перестройки в основном возникали при действии мутагена с задержанным эффектом, так как в трех митотических циклах процент хроматидных перестроек был одинаковым, а перестройки хромосомного типа во втором и третьем митозах отсутствовали. Мы полагаем, что семена, прорастающие рано, находятся под влиянием мутагена с незадержанным действием меньше времени, и поэтому в них несколько меньше перестроек хромосом-

ного типа. Процент хроматидных перестроек в трех фиксациях одинаков, так как мутаген с задержанным эффектом обладает способностью длительное время сохраняться и время отбора фракций может не играть роли.

При изучении перестроек хромосом, возникающих в проростках старых семян *C. capillaris*, в трех митотических циклах было показано, что в первом митотическом цикле возникают перестройки хроматидного и хромосомного типа. Частота перестроек хромосомного типа во всех фиксациях была гораздо выше, чем хроматидных, и максимум их наблюдался в первых фиксациях. В то время как количество хроматидных перестроек не зависело от срока прорастания семян, количество перестроек хромосомного типа было выше в позднопрорастающих семенах.

В тетраплоидных и октоплоидных клетках возникали только хроматидные перестройки. Частота хроматидных перестроек в пересчете на диплоидный набор была одинаковой в трех митотических циклах. Это, вероятно, указывает, на то, что естественные мутагены, подобно химическим мутагенам с задержанным эффектом, способны длительное время сохраняться в клетке и вызывать aberrации в ряде клеточных поколений. На основании полученных данных делается предположение, что при старении семян в них возникают мутагены двух типов действия: задержанного и незадержанного. Aberrации хромосомного типа возникают под влиянием мутагена незадержанного типа действия, а aberrации хроматидного типа—под влиянием мутагена с задержанным действием.

Ռ. Ռ. ԴԱՀՐԱՄԱՆՅԱՆ

ՔՐՈՄՈՍՈՄԱՅԻՆ ԽՈՏՈՐՈՒՄՆԵՐԻ ՀԱՃԱՆԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆԸ *CREPIS* *CAPILLARIS*-Ի ՅՐԹԵԱՄՅԱ ՀՆՈՒԹՅԱՆ ՍԵՐՄԵՐԻ ԾԻԼԵՐՈՒՄ

Ա. մ. փ. ռ. փ. ռ. մ.

Ուսումնասիրել ենք կրեպիսի հին սերմերի ծիլերում առաջացող բրոմոսոմաչին խաթարումները: Յույց է տրված, որ առաջին միտոտիկ ցիկլում գոյանում են բրոմատիդային և բրոմոսոմաչին տիպի խաթարումներ: Բրոմոսոմաչին տիպի խաթարումների հաճախականությունը բոլոր ժամկետներում եղել է ավելի բարձր, քան բրոմոսոմատիդային խաթարումներինը, նրանց առավելագույնը նկատվել է առաջին ժամկետում:

Բրոմոսոմաչին տիպի խաթարումների բանալն ավելի բարձր է եղել ուշ ծրոյ սերմերում: Երկրորդ և երրորդ միտոտիկ ցիկլերում գոյացել են միայն բրոմատիդային խաթարումներ:

R. T. GHARAMANYAN

THE FREQUENCY OF CHROMOSOME ABERRATIONS IN THE SPROUTS OF SEVEN YEARS OLD SEEDS OF *CREPIS* *CAPILLARIS*

Summary

Studies were carried out on the chromosome aberrations arising in the sprouts of old seeds of *Crepis Capillaris*. It is shown that in the first

mitotic cycle there take place chromatide and chromosome type aberrations. The frequency of the chromosome type aberrations in all dates has been higher than that of the chromatide ones. The highest of them has been noticed in the first date. The amount of the chromosome type aberrations has been higher in seeds sprouting somewhat later. In the second and third mitotic cycles there took place only chromatide aberrations.

ЛИТЕРАТУРА

1. De Vries H. Die Mutation stheorie Leipzig, Veit, 1901.
2. Навашин М. С. Новые данные по вопросу о самопроизвольных мутациях. «Биол. журнал», 2, № 2, 111, 1933.
3. Stubbe H. Samenalter und Genmutabilität bei *Antirrhinum majus* L. nebst einigen Betrachtungen über den Zeitpunkt des Mutterens während der Entwicklung. Biol. Bul. 55, 209, 1935.
4. Peto F. H. The effect of ageing and heat in the chromosomal mutation rates in maize and barley. Canad. J. Res., 9, 261, 1933.
5. Avery, A. C., Blakeslee A. F. Visible mitotoms from aged seeds. Amer. Naturalist, 70, 36, 1936.
6. Amato F. D. Di alcuni aspetti fisiologici e genetici dell'invecchiamento dei semi. Contributo al problema della senescenza e della mutabilità spontanea nei vegetali. Caryologia, 6, 217, 1954.
7. Дубинин Н. П. Об основных факторах естественного мутационного процесса. «Ботан. журнал», 43, 1093, 1958.
8. Дубинин Н. П., Щербаков В. К. Природа естественного мутационного процесса у *Vicia faba* и *Allium fistulosum*. ДАН СССР, т. 159, № 3, 652—655, 1964.
9. Протопопова Е. М., Шевченко В. В., Григорьева Г. А. Влияние возраста семян на характер цитогенетического действия мутагенов с задержанным эффектом. «Генетика», 6, 1, 29—35, 1970.
10. Шевченко В. В. Действие 8-этоксифенна на хромосомы *Crepis capillaris*. «Генетика», № 4, 136, 1965.
11. Каграманян Р. С. Исследование длительности действия 8-этоксифенна на хромосомы *Crepis capillaris* в трех последовательных митотических циклах. «Генетика», V, № 12, 30—34, 1969.
12. Протопопова Е. М., Шевченко В. В., Генералова В. М. Начало синтеза ДНК при прорастании семян *Crepis capillaris*. «Генетика», № 6, 19, 1967.
13. Сидоров Б. Н., Соколов Н. Н., Андреев В. В. Мутагенный эффект этиленмина в ряде клеточных поколений. «Генетика», № 1, 112, 1965.
14. Каграманян Р. С. Мутагенный эффект ТиоТЭФ в трех последовательных митотических циклах у *Crepis capillaris*. «Генетика», 6, № 1, 29, 1970.