

Л. А. Араратян, А. А. Варданян

ИЗМЕНЕНИЕ ЧАСТОТЫ АБЕРРАЦИЙ ХРОМОСОМОМ *Vicia faba* ПРИ ХРАНЕНИИ ОБЛУЧЕННЫХ СЕМЯН

Применение различных химических веществ, в том числе и мутагенов, до или после облучения семян модифицирует эффект ионизирующего облучения, сенсibiliзируя его или, наоборот, оказывая защитное действие на живую систему. При постановке данного эксперимента мы исходили из положения, что аутомутагены, т. е. вещества, содержащиеся в естественном состоянии в кожуре семян некоторых видов растений и имеющие мутагенную активность, могут создать спонтанный фон мутирования и влиять на эффект облучения в качестве активного комплекса химических веществ.

Известно, что со старением семян возрастает спонтанная частота аберраций хромосом в клетках зародышевой меристемы /1/. Если для ряда видов (*Crepis capillaris*, *Allium fistulosum*) сущность этого явления можно считать еще спорной, то для семян *Vicia faba* этот вопрос в основном выяснен /2-4/. Здесь вещества, содержащиеся в кожуре семян, вызывают с их старением значительное нарастание частоты аберраций хромосом. Естественно, что очищение от кожуры сводит к минимуму число пораженных клеток /4 - 8/.

Каково влияние аутомутагенов на облученные клетки сразу после облучения и как изменяется оно при разных сроках хранения облученных семян - вот вопросы, которые интересовали нас при постановке данного опыта.

Объектом для настоящего исследования служили семена *V. faba* var. *major* сорта Русские черные. Для снижения спонтанного фона мутирования хромосом перед облучением часть семян очищали от кожуры. Затем обе группы семян (с кожурой и без кожуры) облучали рентгеновскими лучами на установке РУМ-11 при силе тока 15 А, фокусном расстоянии 18 см, без фильтра, дозой 300 р. Часть этих семян из обеих групп была на следующий день после облучения замочена в воде, а другую часть хранили в комнатных условиях. Из хранившихся семян половина была исследована через 5 месяцев после облучения, а другая - через год. Во всех случаях постановка опыта была одинаковой.

Семена замачивали в воде на 18 час., затем промывали в проточ-

ной воде в течение 10-15 мин. и ставили во влажные опилки (предварительно прокипяченные несколько раз) на проращивание в термостат при 20°C. Семена с корешками, достигшими длины 15 мм, отделяли в другую посуду и часть фиксировали сразу, а другую - через три часа. Данные по этим двум фиксациям достоверно не отличались друг от друга и поэтому были суммированы.

Фиксировали материал в смеси спирт+уксусная кислота (3:1), окрашивали ацетокармином. На временных давленных препаратах проводили анафазный анализ в первом митозе с учетом одиночных (хроматидных) и парных (хромосомных) дицентриков, а также парных и одиночных ацентрических фрагментов.

Корешки, в клетках которых были обнаружены микроядра, что свидетельствует о переходе популяции клеток во второй митоз, не учитывали.

Полученные результаты можно обсуждать, исходя из следующего положения. Избранный объект представляет собой однородный материал, отличающийся лишь уровнем спонтанного мутирования, который вызывается внешними для генетического аппарата факторами, т. е. комплексом аутомутагенов, действие которых можно исключить, очистив семена от кожуры. Полученные данные дают нам возможность исследовать действие рентгенооблучения на хромосомы в зависимости от фона спонтанного мутирования, а также на изменение активности аутомутагенов при разных сроках хранения облученных семян.

Данные, приведенные в таблице, показывают, что хранение облученных семян приводит к увеличению частоты мутирования хромосом. Мутагенное действие естественных мутагенов суммируется с эффектом облучения, что сказывается также и на выходе aberrаций хромосом при хранении облученных семян.

Следует отметить, что облучение семян с кожурой по сравнению с семенами без кожуры не вызывает достоверного отличия. Критерий достоверности (t_d) соответственно равен по вариантам 1,5; 1,3; 1,2; 1,0. Однако длительное хранение облученных семян приводит к достоверному различию по тесту aberrаций хромосом между вариантами с хранением и без хранения. Если проращивание семян сразу после облучения вызывает появление $4,6 \pm 0,7\%$ клеток с перестройками хромосом в случае с семенами без кожуры, то хранение в течение 5 месяцев дает $5,8 \pm 0,6\%$, а через год наблюдали уже $10,1 \pm 0,9\%$. У семян с кожурой эти показатели соответственно представлены $5,8 \pm 0,7$; $7,0 \pm 0,8$ и $11,8 \pm 0,9\%$. Достоверность разницы между вариантом с проращиванием семян с кожурой сразу и вариантами с хранением в течение 5 и 12 месяцев соответственно равна 5,4 и 4,0. Такая же картина и в вариантах с семенами без кожуры - 5,0 и 4,0.

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что данная нами доза облучения не вызывает изменений в мутагенных свойствах естественных метаболитов кожуры семян *V.faba*. Хранение в течение 5 месяцев и года также не изменяет этого положения.

Средняя пораженность клеток, как это видно из таблицы, не подчиняется какой-либо закономерности.

Анализ структурных перестроек хромосом по типам, данные кото-

Таблица 1

Влияние хранения облученных семян на частоту aberrаций хромосом при разных уровнях спонтанного мутирования *V.faba*

Вариант	Число		Процент клеток с абберра- циями	Число абберра- ций	Средняя поврежден- ность кле- ток
	клеток	клеток с абберраци- ями			
Спонтанное мутиро- вание					
Семена без кожуры	1029	23	$2,2 \pm 0,4$	36	1,56
Семена с кожурой	1084	34	$3,1 \pm 0,5$	51	1,50
Облучение, проращи- вание сразу					
Семена без кожуры	929	42	$4,6 \pm 0,7$	60	1,43
Семена с кожурой	912	53	$5,8 \pm 0,7$	84	1,58
Облучение, хране- ние 5 мес.					
Семена без кожуры	1125	65	$5,8 \pm 0,6$	97	1,49
Семена с кожурой	826	58	$7,0 \pm 0,8$	131	2,26
Облучение, хранение 1 год					
Семена без кожуры	1065	108	$10,1 \pm 0,9$	171	1,58
Семена с кожурой	1279	150	$11,8 \pm 0,9$	213	1,42



Изменение соотношения типов aberrаций хромосом (в % от суммы) при хранении облученных семян. Варианты: 1) при естественном мутировании; 2) при проращивании семян сразу после облучения; 3) при проращивании семян через 5 месяцев после облучения; 4) при проращивании семян через 12 месяцев после облучения; а - семена без кожуры; б - семена с кожурой.

рого представлены на рисунке, показал, что преобладающим типом являются ацентрические фрагменты. При спонтанном мутировании отмечены помимо них еще и хромосомные дицентрики. Облучение семян как с кожурой, так и без кожуры вызывает появление некоторого

числа хроматидных дицентриков, процент которых с продолжительностью хранения нарастает. Однако во всех случаях сохраняется почти одинаковое соотношение ацентрических фрагментов и дицентриков.

Вышеизложенное дает нам возможность сделать следующие выводы.

1. Не обнаружено достоверного различия в радиочувствительности кариотипа *V. faba* в зависимости от изменения уровня спонтанного мутирования хромосом у семян с кожурой и без кожуры.

2. С удлинением сроков хранения облученных семян частота мутирования хромосом *V. faba* достоверно возрастает. Отмечается аддитивный эффект мутагенного действия рентгенооблучения и комплекса естественных метаболитов из кожуры семян. Однако с удлинением сроков хранения облученных семян доля последнего фактора в общей сумме не изменяется.

3. Облучение вызывает некоторую модификацию в соотношении типов структурных перестроек хромосом, что характеризуется образованием дицентриков хроматидного типа, число которых возрастает с продолжительностью хранения облученных семян.

L. A. Araratian, A. A. Vardanian

THE CHANGES OF THE FREQUENCY OF CHROMOSOME ABERRATIONS OF VICIA FABA UNDER LEVELS OF THE IRRADIATED SEEDS

S u m m a r y

The additive effect of x-rays and spontaneous mutagenic substances in inducing chromosomal aberrations in cells of seeds of *Vicia faba* L was observed.

The keeping of irradiated seeds of *V. faba* with and without a seed-coat increased the frequency of chromosomal aberrations, but it did not change the effect of spontaneous mutagenic system of seed-coat.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Навашин М. С. Новые данные по вопросу о самопроизвольных мутациях. Биол. журнал, 2, 111, 1933.
2. Дубинин Н. П., Щербаков В. К. Природа естественного мутационного процесса у *Vicia faba* и *Allium fistulosum*. ДАН СССР, 159, № 3, 652, 1964.
3. Орлова Н. Н., Никитина В. И. О моменте возникновения аберраций хромосом при старении семян. Генетика, 4, № 9, 24, 1968.
4. Щербаков В. К. Естественный мутационный процесс. Сб.: Итоги науки. Общая генетика, М., 1969.
5. Араратян Л. А. Об активации гетероауксином генетического действия аутомутагенов. Генетика, 11, № 11, 175, 1973.
6. Араратян Л. А. Цитогенетические эффекты гетероауксина при спонтанном и индуцированном мутагенезе растений. Сб.: Экспериментальный мутагенез растений, вып. 3, 5-75, 1974.

7. D'Amato F., Hoffman-Ostenhof O. Metabolism and spontaneous mutations in plants. Adv. in Genetics, 8, I, 1956.
8. Michaelis A., Rieger R. Cytologische und stoffwechselphysiologische untersuchungen am aktiven meristem der wurzelspitze von *Vicia faba*. Chromosoma, 2, N6, 514, 1958.