

В. А. АВАКЯН, В. А. АМИРБЕКЯН

МИТОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И УРОВЕНЬ МУТАБИЛЬНОСТИ У *Vicia faba* ПРИ ДЕЙСТВИИ ФОРМАЛИНА

Бурное развитие химических средств борьбы с вредителями и болезнями растений опередило научную разработку проблем, связанных с биологическим действием пестицидов на растительные организмы. Поэтому вопрос о влиянии различных химических веществ на протекание митоза и на цитогенетические изменения у растений имеет особое значение для научного обоснования приемов эффективной химической защиты, которые позволили бы устранить возможные вредные последствия применения пестицидов. Вместе с тем большое значение имеют работы по выявлению и применению новых химических соединений, обладающих высокой мутагенной активностью.

В литературе мало работ по изучению цитогенетического и генетического действия химических веществ, используемых в сельском хозяйстве. О мутагенной активности гранозана (этилового хлорида ртути— C_2H_5HgCl) впервые сообщил Костов [12]. Он установил, что после обработки проростков пшеницы, ржи и эгилопса гранозаном происходят морфологические изменения растения и образования многоядерности и увеличение количества хромосом. Г. Б. Медведева [6] изучила цитологическое действие гексахлорана на проростки кукурузы, пшеницы и на семена фасоли. Ею установлено, что гексахлоран индуцирует ненормальный митоз. О цитогенетическом действии гексахлорана на луке сообщают также Нюб и Кнутссон [13].

Некоторые гербициды (например, гидрозит малеиновой кислоты — ГМК) вызывают изменения митоза (высокие концентрации подавляют, а низкие повышают митотическую активность) и перестроек хромосом [5]. На кукурузе установлена высокая мутагенная активность меркурана. После обработки проросших семян яблони и груши меркураном получены полиплоидные формы [2]. Предпосевная обработка семян меркураном способствует некоторому повышению урожая пшеницы [2, 4]. Полиплоидогенное действие инсектицида ДДТ на луке наблюдал Ваарама [14].

О мутагенном действии формальдегида указывают И. А. Рапопорт [8] и Ш. Ауэрбах [11]. Количество летальных мутаций у *Drosophila melanogaster* под действием формальдегида в опытах И. А. Рапопорта доходило до 12,2%. Установлено (цитировано по Э. Фриз [9]), что формальдегид реагирует с белками (Путман), с РНК (Френкель-Конрат) и с односторонней ДНК (Стахлин).

Данная работа посвящена действию формалина, широко применяемого в практике защиты сельскохозяйственных культур, на протекание

митоза и на мутабельность в меристеме первичных корешков у *Vicia faba*.

Формалин применяется для дезинфекции семян зерновых, овоще-бахчевых культур, хлопчатника и др. растений. Высокая степень истинной токсичности, наряду с невысокими показателями относительной токсичности, обеспечила ему самое широкое применение в качестве эффективного фунгицида. Формалин принадлежит к группе фунгицидов органических соединений. Его действующим началом является альдегид муравьиной кислоты, иначе формальдегид (CHON). В водный раствор его в виде примесей входят метиловый спирт и муравьиная кислота.

Н. А. Наумов [7] считает, что большинство семян полевых, технических, овощных и прочих растений прекрасно выдерживает действие формалина, а в некоторых случаях (рожь, томаты) под его влиянием наблюдается стимуляция прорастания. Лишь на семена некоторых растений, особенно бобовых, формалин действует неблагоприятно. Протравливание формалином семенного материала производится мокрым и полусухим способом. В первом случае применяется концентрация: 1 часть 40% формалина к 300 частям воды, что примерно соответствует концентрации формальдегида 0,15% при экспозиции 2—4 часа. При полусухом способе концентрация формалина: 1 : 80,1 : 100.

Материалом данной работы послужили конские бобы (*Vicia faba*). Преимуществом данного объекта можно считать простоту методики приготовления временных препаратов, крупные размеры клеток и хромосом, а также четкость получаемых на препаратах картин.

В опыт были взяты следующие концентрации формалина: К, 1 : 10, 1 : 100, 1 : 300, экспозиция 2 часа. Семена с корешками длиной в 12—13 мм погружались в раствор формалина. В контрольные чашки Петри была налита дистиллированная вода. Окраска препаратов производилась уксуснокислым кармином.

Цитологический учет результатов опыта производился по показателям: число делящихся клеток, фазы митоза и анафазный анализ аберраций хромосом. В первичных процессах химического поражения организма, наряду с цитогенетическими изменениями, существенная роль принадлежит поражению механизма митоза. Лучшим методом анализа действия химических агентов на митоз служит отдельный учет всех фаз митоза. Результаты количественного учета делящихся клеток приведены в табл. 1.

Из приведенных данных видно, что все концентрации формалина, применяемые в опыте, вызывают достоверное увеличение процента делящихся клеток. Причем наибольшее повышение митотической активности вызывают концентрации формалина 1 : 10 и 1 : 300. Данные учета отдельных фаз митоза приведены в табл. 2.

Приведенные данные показывают, что увеличение митотического индекса при концентрациях формалина 1 : 10 и 1 : 100 происходит за счет большого числа метафаз и телофаз, что свидетельствует о повышении митотической активности. При более низкой дозе (1 : 300) процентное

Таблица 1

Процент делящихся клеток в корешках *Vicia faba* при действии формалина

Концентрация формалина	Число исследованных клеток	Число делящихся клеток	% делящихся клеток	t. diff	% делящихся клеток опыта к контролю	Митотический индекс
К	2000	74	$3,70 \pm 0,42$	—	100	37,0
1:10	2500	295	$11,80 \pm 0,64$	9,21	318,91	118,0
1:100	3400	203	$5,96 \pm 0,40$	3,97	161,35	59,6
1:300	2000	247	$12,35 \pm 0,73$	10,41	333,78	123,5

Таблица 2

Процент фаз митоза в корешках *Vicia faba* при действии формалина

Концентрация формалина	Число делящихся клеток	Профазы в %	Метафазы в %	Анафазы в %	Телофазы в %
К	74	$58,10 \pm 1,98$	$20,27 \pm 4,67$	$12,16 \pm 3,79$	$9,46 \pm 3,40$
1:10	295	$42,03 \pm 2,86$	$29,15 \pm 2,64$	$11,52 \pm 1,76$	$16,94 \pm 2,18$
1:100	203	$46,30 \pm 3,48$	$30,04 \pm 3,21$	$8,86 \pm 1,99$	$14,77 \pm 2,45$
1:300	247	$61,94 \pm 3,08$	$21,45 \pm 2,61$	$9,31 \pm 1,84$	$7,28 \pm 1,65$

соотношение фаз митоза находится почти на уровне контроля, некоторое увеличение наблюдается только в числе профаз. Увеличение числа профаз может свидетельствовать о поражении или замедлении построения митотического аппарата, при котором клетки не вступают в митоз и в результате происходит накопление профаз. Поэтому увеличение митотического индекса, только за счет большего числа профаз, не может являться показателем повышения митотической активности [10].

Нарушения в митозе имели место при всех концентрациях формалина. В профазе и метафазе иногда наблюдалось характерное слипание хромосом. Они имели вид сильно покрашенного комочка. В метафазе почти всегда наблюдались сильная скученность хромосом и их частичная дезориентация. Результаты учета хромосомных aberrаций при действии формалина приведены в табл. 3.

Таблица 3

Уровень мутабельности в корешках *Vicia faba* при действии формалина

Концентрация формалина	Количество анафаз (всего)	Количество анафаз с перестройками	% перестроек	t. diff	% перестроек опыта к контролю
К	1089	51	$4,68 \pm 0,63$	—	100
1:100	1101	36	$3,36 \pm 0,53$	1,58	71,79
1:100	1097	127	$11,57 \pm 0,97$	5,28	247,22
1:300	1024	53	$5,18 \pm 0,7$	0,55	110,68

В работе применен анафазный анализ цитогенетических изменений. Достоверно увеличение процента перестроек хромосом наблюдается при концентрации формалина 1 : 100 ($11,57 \pm 0,97$ t. diff 5,28). Это увеличение по сравнению с контролем составляет 247,22%. При концентрации формалина 1 : 10 происходит уменьшение процента перестроек хромосом. Наименьшая из испытанных концентраций 1 : 300 не вызывает заметного увеличения процента перестроек.

Для оценки цитогенетического эффекта действия формалина необходимо анализировать весь спектр перестроек хромосом.

Экспериментальным изучением показано существование двух типов естественного мутационного процесса: с задержанным проявлением цитогенетического эффекта, когда возникают только хроматидные перестройки (*Vicia faba*), и с незадержанным проявлением цитогенетического эффекта, когда возникают как хромосомные, так и хроматидные перестройки (*Allium fistulosum*) [3]. Суммарные данные по типам перестроек даны в табл. 4.

Таблица 4

Спектр типов структурных мутаций хромосом в корешках *Vicia faba*
при действии формалина

Концентрация формалина	Типы перестроек в %						
	Σ	—	=	I	I—	X	X—
К	51	82,35	5,88	5,88	3,92	—	1,96
1:10	36	89,0	5,56	5,56	—	—	—
1:100	127	89,76	3,93	3,93	0,79	0,79	0,79
1:300	53	94,34	5,56	—	—	—	—

Из приведенных в табл. 4 данных видно, что как в контроле, так и под действием формалина число хромосомных дицентриков (парных мостов), которые возникают в фазе g митотического цикла, невелико. В основном наблюдаются перестройки хроматидного происхождения (одиночные мосты), возникающие на стадии двух эффективных нитей.

Под действием формалина происходит изменение спектра перестроек хромосом, при этом при наибольшей (1 : 10) и наименьшей (1 : 300) из испытанных концентраций наблюдается уменьшение числа типов перестроек, а при концентрации 1 : 100 происходит увеличение числа типов перестроек. Однако соотношение хромосомных и хроматидных перестроек при действии формалина не изменяется. Можно предполагать, что действие формалина на проростки *Vicia faba* приводит к задержанному проявлению цитогенетического эффекта.

Следует отметить, что из испытанных концентраций только 1 : 100 вызывает появление всех типов перестроек. При концентрации формалина 1 : 300 наблюдаются только фрагменты (одиночные и парные), а при концентрации 1 : 10 фрагменты и одиночные мосты.

Таким образом, концентрация формалина, обычно применяемая в практике защиты растений, при действии на молодые проростки *Vicia faba* вызывает в их корешках серьезные нарушения митоза и перестройки хромосом.

Для научного обоснования применения формалина в практике защиты сельскохозяйственных растений необходимы тщательные исследования действия формалина и на сухие семена.

Лаборатория радиационной генетики
АН АрмССР

Поступило 12.VII 1967 г.

Վ. Ա. ԱՎԱԳՅԱՆ, Վ. Ա. ԱՄԻՐԲԵԿՅԱՆ

ՖՈՐՄԱԼԻՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ VICIA FABAE-Ի ՄԻՏՈՏԻԿ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ՄՈՒՏԱՑԻՈՆ ՄԱԿԱՐԴԱԿԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ուսումնասիրված է ֆորմալինի ազդեցությունը *Vicia faba*-ի առաջնային արմատիկների մերիստեմայի բրոմոսոմների ստրուկտուրային մոտացիաների և միտոտիկ ակտիվության վրա: Փորձի համար օգտագործվել են 40% ֆորմալինի հետեկալ խտությունները. 1:10, 1:100, 1:300: Սերմերը 12—13 սմ երկարություն ունեցող արմատիկներով պահվել են ֆորմալինի լուծույթում 2 ժամ տևողությամբ:

Փորձի արդյունքների ցիտոլոգիական հաշվառումը կատարվել է հետեկալ ցուցանիշներով՝ բաժանվող բջիջների թիվը, միտոզի ֆազերը և բրոմոսոմային խաթարումների վերլուծումը:

Ուսումնասիրության ընթացքում կիրառվել է ցիտոգենետիկական փոփոխությունների անաֆազային անալիզ:

Ստացված արդյունքների հիման վրա կարելի է անել հետեկալ եզրակացությունները.

1. Ֆորմալինի վերոհիշյալ խտությունները առաջացնում են միտոտիկ ակտիվության բարձրացում:

2. Ֆորմալինի 1:10 խտությունը առաջացնում է բրոմոսոմային վերակառուցումների տոկոսի որոշ իջեցում:

3. Ֆորմալինի 1:100 խտությունը առաջացնում է բրոմոսոմային վերակառուցումների տոկոսի ստույգ բարձրացում:

4. Բրոմոսոմային մոտացիաների տոկոսը ֆորմալինի 1:300 խտության դեպքում գտնվում է ստուգիչի մակարդակի վրա:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Дешевая А. С., Скалозубова А. В. Органические фунгициды. Госхимиздат, вып. 154, 1955.
2. Денисов В. Ф., Жиронкин И. М., Горшков Л. И. Экспериментальный мутагенез у сельскохозяйственных растений и его использование в селекции. Изд. Наука, 1966.

3. Дубинин Н. П., Щербаков В. К., Шавельзон Р. А. Генетика 3, 1965.
4. Ефимов А. Л. Краткий справочник по применению ядов для борьбы с вредителями и болезнями растений. М., Сельхозгиз, 1959.
5. Иофе Э. Л., Шавельзон Р. А., Щербаков В. К. Экспериментальный мутагенез животных, растений и микроорганизмов. М., Тезисы, 1965.
6. Медведева Г. Б. Агробиология. 4, 1947.
7. Наумов Н. А. Болезни сельскохозяйственных растений, Сельхозгиз, 1952.
8. Рапопорт И. А. ДАН СССР, 54, 65, 1964.
9. Фриз Э. Молекулярный механизм мутации, Молекулярная генетика, пер. с английского, 1964.
10. Щербаков В. К. Радиобиология, информационный бюллетень, 7, 1965.
11. Auerbach C. Cold spring Harbor symposia Quant. Biol., 16, 199, 1951.
12. Kostoff, Nature, 144, 1939.
13. Nybom N. Knutsson. Hereditas, 33, 1—2, 1947.
14. Vaarama A. Hereditas, 33, 191—219, 1947.