

Г. А. ПАНОСЯН, Е. Е. ТАМРАЗЯН

## МОДИФИЦИРУЮЩАЯ И МУТАГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ЗЕЛЕННОГО ПРОЧНОГО, ИЗУЧЕННАЯ НА РАЗЛИЧНЫХ СОРТАХ КУКУРУЗЫ

Обработка воздушно-сухих семян разных сортов кукурузы (ВИР-44, Белоярое пшено, Стерлинг и Бразильская синяя) раствором зеленого прочного (0,0001—1,0) приводит к целому ряду изменений в  $M_1$  и  $M_2$ .

Анализ полученных изменений (скорости роста, сроков бутонизации и цветения, высоты и диаметра стебля, морфологических особенностей початков и семян, пигментации листьев, строения мужских и женских цветков и т. д.) позволяет заключить, что зеленый прочный обладает как модифицирующей, так и мутагенной активностью.

Краситель зеленый прочный используется для специфического окрашивания гистонов в гистохимических исследованиях [2].

В условиях нейтрального и слабощелочного pH он образует комплекс с гистонами в водных растворах [1]. Поскольку гистоны входят в состав хроматина клеток и, как предполагается, принимают участие в регуляции генетической активности, целесообразно исследовать влияние зеленого прочного на различные функции клетки, непосредственно связанные с активностью генетического аппарата.

Можно полагать, что связывание зеленого прочного с гистонами нативного хроматина должно нарушить нормальное для данной клетки взаимоотношение между ДНК и гистонами, что в конечном счете может проявиться в изменении морфо-физиологических и генетических особенностей организма.

В настоящей работе приводятся данные по исследованию влияния зеленого прочного на рост и развитие различных сортов кукурузы и по определению мутагенной активности этого красителя.

*Материал и методика.* В опытах использовался препарат зеленого прочного английской фирмы «Михром», который давал комплексы с гистонами тимуса теленка в опытах *in vitro* [1]. Препараты, не образующие *in vitro* подобных комплексов, отбраковывались, так как они не обладали биологической активностью.

Исходным материалом служили четыре сорта кукурузы: Белоярое пшено, Стерлинг, Бразильская синяя и ВИР-44.

Воздушно-сухие семена обрабатывались в течение 24 час. при 20°C водными растворами зеленого прочного (pH около 6,0) в концентрациях—0,001, 0,01 и 1,0%, а для сорта ВИР-44 также 0,0001 и 0,1%. Контрольные семена замачивались в воде при тех же условиях. После обработки семена промывались проточной водопроводной водой и высевались в открытом грунте. Учитывалась высота растения в начале и в конце вегетации. Форма и величина листьев и растения, окраска листьев, размеры и количество

початков, форма и окраска семян, фенологические фазы развития—сроки появления всходов, бутонизации, цветения и созревания. Учитывались также все морфологические отклонения от исходных форм. Все промеры и учет измененных форм сортов Бразильская синяя, Стерлинг и Белоярое пшено производились в  $M_1$  поколении, а сорт ВИР-44—в  $M_1$  и  $M_2$ .

*Результаты и обсуждение.* Данные по влиянию обработки семян зеленым прочным на рост и развитие различных сортов кукурузы в  $M_1$  и  $M_2$  приведены в табл. 1 и 2. Скорость роста растений, семена которых были обработаны зеленым прочным, различна у разных сортов кукурузы в начале и в конце вегетации: у сорта Белоярое пшено наблюдается замедление роста в начале вегетации, причем этот эффект тем более выражен, чем выше концентрация красителя; у сорта Стерлинг, а в еще большей степени у сорта ВИР-44, напротив,—ускорение роста в этот период; у сорта Бразильская синяя между опытными и контрольными растениями в этом отношении почти нет никакой разницы.

Некоторые различия отмечены в высоте растений в конце вегетации. У сорта Белоярое пшено высота растений опытной группы ниже контрольной во всех вариантах опыта. У сортов Стерлинг и ВИР-44 все опытные растения оказались намного выше, чем контрольные, причем обработка высокими концентрациями приводит к большей стимуляции роста (у сорта Стерлинг—на 15%, у сорта ВИР-44—на 12% при концентрации зеленого прочного 1,0%). Высота растений сорта Бразильская синяя в конце вегетации при малых концентрациях красителя оказалась выше, а при более высоких—ниже контрольных.

Обработка семян зеленым прочным в различных концентрациях резко ускоряет фенологические фазы развития всех испытанных сортов кукурузы, а также приводит к увеличению диаметра стебля у сортов Стерлинг, Бразильская синяя и ВИР-44. У сорта Белоярое пшено имело место сокращение диаметра стебля. Количество листьев на растениях во всех случаях увеличивается.

Зеленый прочный лишь в одном случае не действует на количество початков на одном растении, а именно у сорта Бразильская синяя. Во всех остальных случаях наблюдалось увеличение количества початков, особенно у сорта ВИР-44—до 8 початков на одном растении при 1—3 в контроле. Подсчет зрелых и незрелых початков при этом показал, что увеличение числа их происходит в основном за счет незрелых, хотя общее количество зрелых также увеличивается. Эти данные указывают на то, что обработка семян зеленым прочным приводит к удлинению сроков морфогенетических процессов, в результате чего к концу вегетации вместе с уже созревшими початками имелось большое число незрелых початков, находящихся на разных стадиях морфогенеза, в то время как у контрольных растений уже заканчиваются все морфогенетические процессы и растения кончают свою вегетацию, оставляя зрелые початки со сформировавшимися семенами. Это говорит о нарушении регуляторных функций растительного организма при обработке семян зеленым прочным.

Таблица 1

Влияние зеленого прочного на рост и развитие в  $M_1$  трех сортов кукурузы

Сорт	Вещество	Концентрация, %	Растения к 71 дню, %	Средняя высота растений, см		Диаметр стебля, см	Количество листьев	Количество початков		Початки				Вес 1000 зерен, г
				I измерение	II измерение			на 1 растение зрелых, шт.	не зрелых из всего количества, %	длина	диаметр	количество	вес, г	
Белоярое пшено	зеленый прочный	0,001	79	6,3±0,21	106,8±0,23	14,8	9,0	1—4	39	12,1	3,4	12—14	87	227
		0,01	80	5,1±0,19	122,8±0,21	13,3	9,9	1—3	43	14,0	3,1	8—12	70	243
		1,0	67	4,9±0,23	120,0±0,19	13,3	9,0	1—4	32	14,5	3,1	9—14	65	230
	контроль	H <sub>2</sub> O	9	7,0±0,18	141,0±0,18	15,0	9,0	1—3	16	14,2	2,9	10—14	62	164
Стерлинг	зеленый прочный	0,001	100	4,8±0,20	180,6±0,21	20,0	12	1—3	36	19,0	4,6	12—20	172	278,0
		0,01	100	4,9±0,17	186,5±0,23	22,0	13	1—4	41	19,9	4,4	12—18	177	278,5
		1,0	75	4,6±0,19	197,0±0,19	23,0	12	1—4	38	22,3	4,6	12—18	183	300,0
	контроль	H <sub>2</sub> O	71	4,6±0,20	171,0±0,16	21,0	11	1—3	11	19	4,1	12—16	152	244,0
Бразильская синяя	зеленый прочный	0,001	33	6,4±0,17	223,0±0,28	23,0	14,0	1—2	40,6	21,0	4,4	8—16	184,5	299,7
		0,01	39	6,3±0,15	186,0±0,19	24,5	13,0	1—2	30,0	19,0	4,2	8—14	141,2	307,5
		1,0	61	6,5±0,21	158,0±0,21	17,7	12,2	1—2	29,3	18,0	4,2	12—14	84	307,0
	контроль	H <sub>2</sub> O	48	6,4±0,21	198,0±0,22	19,5	12,9	1—2	22,0	16,0	4,2	12—14	100	270,5

Таблица 2

Влияние зеленого прочного на рост и развитие в М<sub>1</sub> и М<sub>2</sub> ВПР-44

Поколение	Вариант опыта	Количество зацвет. раст., %		Средняя высота растений, см			Диаметр стебля, см	Количество листьев на одном растении	Количество початков		Початок				Вес 1000 зерен, г
		к 69 дню	к 78 дню	при I-ом измерении	при II-ом измерении	при III-ем измерении			на 1 раст., шт.	не зрелых из всего количества, %	длина, см	диаметр, см	количество рядов	вес, г	
М <sub>1</sub>	0,0001	68	100	6,0±0,21	145±0,28	150±0,19	3,2	10,9	1-4	35	16,5	4,3	10-20	176	260
	0,001	62	100	6,4±0,19	153±0,17	157±0,23	3,2	11,1	1-4	32	16,6	4,3	12-20	167	274
	0,01	64	100	6,7±0,2	152±0,19	157±0,21	3,2	11,7	1-7	41	17,2	4,2	12-22	174	294
	0,1	40	97	6,3±0,24	152±0,24	158±0,17	3,2	12,4	1-5	41	17,0	4,3	12-22	169	296
	1,0	72	95	5,7±0,25	156±0,21	162±0,18	3,2	13,2	1-8	31	17,0	4,0	8-18	156	256
	Контроль	56	95	5,6±0,18	142±0,17	147±0,18	2,9	11,5	1-3	14	17,2	4,1	12-20	151	240
М <sub>2</sub>	0,0001	—	—	6,7±0,16	—	253±0,19	2,2	14,7	1-3	13	15,5	4,0	12-16	118	286,4
	0,001	—	34	6,7±0,18	—	210±0,15	2,2	14,8	1-4	30	17,0	4,5	12-20	144	288,5
	0,01	—	42	6,3±0,21	—	202±0,17	2,0	13,5	1-6	28	14,7	4,9	16-22	140	283,0
	0,1	—	—	7,1±0,19	—	208±0,23	1,9	13,4	1-5	16	12,4	4,5	16-18	108	288,0
	1,0	—	—	6,3±0,21	—	214±0,21	1,1	13,1	1-6	25	13,8	4,4	14-18	123	295,5
	Контроль	—	—	6,8±0,16	—	197±0,16	1,8	13,3	1-2	11	14,0	4,0	16	72	254,0

Действие зеленого прочного отражается также на морфологических особенностях самих початков. Длина их сильно увеличивается у сорта Бразильская синяя, причем чем ниже концентрация красителя, тем больше длина (увеличение на 31,19 и 12,5% при концентрации 0,001, 0,01 и 1,0% соответственно). У сорта Стерлинг этот эффект выражен слабее, а у сортов Белоярое пшено и ВИР-44, наоборот, наблюдается укорочение початков. Однако при этом диаметр его увеличивается, вследствие чего вес также резко увеличивается. Увеличивается также вес зерен (1000 штук). Максимальное увеличение веса было у сорта Бразильская синяя на 13% и сорта Белоярое пшено на 48% при концентрации 0,01%, у сорта ВИР-44 — на 24% при концентрации 0,1%, у сорта Стерлинг — на 23% при концентрации 1,0%.

При сравнении наблюдаемых изменений у сорта ВИР-44 в  $M_1$  и  $M_2$  (табл. 2) замечается удивительное совпадение направленности этих изменений: та же степень ускорения цветения, увеличение средней высоты растения в конце вегетации и диаметра стебля, количества листьев на одном растении, количества початков, в том числе незрелых и т. д. Из этого следует предположить, что зеленый прочный может вызвать не только различные модификационные изменения, но и мутационные.

Для проверки этого предположения был проведен тщательный анализ всех измененных форм как в  $M_1$ , так и в  $M_2$ . При этом основное внимание обращалось на такие изменения, которые в литературе известны как мутационные.

Результаты этого анализа приведены в табл. 3, 4.

В контрольной группе сорта Белоярое пшено из 42 растений только три оказались измененными, т. е. 7%. Одно растение было с сильным кущением, два — с антоциановой окраской листьев. При обработке семян 0,001% зеленым прочным из 42 растений измененными оказались уже 10, т. е. 24%. Из них — семь с обоеполыми соцветиями, шесть с антоциановой окраской листьев и два с белыми полосами на листьях. Два растения были изменены в двух признаках. В случае обработки 0,01% раствором красителя из 40 растений измененными были 14, т. е. 35%, из них одно растение было с обоеполыми соцветиями, пять — с антоциановой окраской листьев, два — с желтой окраской листьев, а у семи растений имелись фасцированные початки. Одно растение имело два измененных признака.

Особенно интересны данные, полученные на линии ВИР-44, так как мы имели возможность сравнить полученные изменения в  $M_1$  и  $M_2$ . В контрольной группе из 41 растения ни одно не было изменено. При обработке семян 0,0001% зеленым прочным в  $M_1$  из 44 растений семь оказались измененными, т. е. 16%, из них одно имело обоеполое соцветие, четыре — желтые полосы на листьях, два — фасцированные початки. В группе, обработанной 0,001% раствором, из 45 растений измененными были шесть, т. е. 13%. Высокие концентрации зеленого прочного приводили к появлению еще большего числа измененных растений: при

Таблица 3

Характеристика измененных форм (M<sub>1</sub>) при обработке семян зеленым прочным

	Бразильская синяя				Стерлинг				Белоярое пшено			
	контроль	зеленый прочный, %			контроль	зеленый прочный, %			контроль	зеленый прочный, %		
		0,001	0,01	1,0		0,001	0,01	1,0		0,001	0,01	1,0
Количество растений	31	45	44	36	17	27	20	28	42	42	40	23
Стерильное растение	1	5	3	12	—	—	1	—	—	—	—	—
Сильное кушение растений	1	1	—	4	—	—	—	—	1	—	—	6
Соцветия с разнополыми цветками	—	4	7	6	1	2	2	—	—	7	1	2
из коих:								3				
а) зерно в метелке												
б) мужск. цветки в початке												
Зерно без эндосперма	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Антоциановая окраска листьев	1	4	2	—	2	1	3	3	2	3	5	1
Белые полосы на листьях	—	2	—	—	—	—	—	1	—	2	2	—
Фасциированные початки	—	—	—	—	2	—	—	3	—	—	7	3
Сочетание двух изменений	—	1	1	—	—	—	—	1	—	2	1	—
Процент измененных растений	10	38	28	61	29	18	30	32	7	24	35	44

Бразильская синяя: из 125 растений, обработанных разными концентрациями ЗП, измененными оказались 50, т. е. 48%.

Стерлинг: из 75 растений, обработанных разными концентрациями ЗП, измененными оказались 18, т. е. 24%.

Белоярое пшено: из 105 растений, обработанных разными концентрациями ЗП, измененными оказались 34, т. е. 32%.

Характеристика измененных форм в  $M_1$  и  $M_2$  кукурузы сорта ВПР-44 при обработке семян зеленым раствором

	$M_1$						$M_2$					
	контроль	зеленый прочный, %					контроль	зеленый прочный, %				
		0,0001	0,001	0,01	0,1	1,0		0,0001	0,001	0,01	0,1	1,0
Количество растений	41	44	45	71	46	40	64	80	142	147	54	144
Стерильные растения	—	—	—	—	—	—	—	2	18	9	3	14
Сильное кущение растений	—	—	—	—	—	—	—	2	7	2	—	9
Обоеполые растения	—	1	1	1	1	—	—	—	—	—	1	2
из коих:												
а) зерно в метелке	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	1
б) цветки в початке	—	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	1
Зерно без эндосперма	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6
Антоциановая окраска листьев	—	—	—	—	—	—	1	15	12	4	7	17
Желтые полосы на листьях	—	4	3	9	11	5	—	2	1	1	—	1
Белые полосы на листьях	—	—	—	1	—	2	—	2	9	3	5	16
Фасцированные початки	—	2	2	3	2	2	—	—	—	—	—	2
Сочетание двух изменений	—	—	—	—	—	—	—	1	2	2	3	9
Процент измененных растений	8	16	13	20	30	25	1,5	28	31	12	24	40

Из 105 растений в контроле было всего одно измененное (антоциановая окраска), тогда как из 567 растений  $M_2$ , обработанных различными концентрациями ЗП, измененными оказались 156 растений, т. е. 27,5%. В  $M_1$  из 246 растений измененных было 50, т. е. 20%.

0,01%—20%, при 0,1%—30%, при 1,0%—25%. Необходимо отметить, что в  $M_1$  основные изменения заключались в появлении ксантофильных мутаций и фасцированных початков. Всего в  $M_1$  у сорта ВИР-44 из 246 растений измененными оказались 50, т. е. 20%, в то время как в контрольной группе из 105 растений (за две вегетации) измененным было только одно растение.

Таким образом, обработка семян зеленым прочным в разных концентрациях приводит к увеличению измененных форм в  $M_1$  всех четырех сортов кукурузы, различающихся целым рядом сортовых особенностей. Изученные сорта кукурузы в  $M_1$  имеют разный характер измененных форм. Стерильные формы были только у сорта Бразильская синяя (3% в контроле, 16,5% при обработке зеленым прочным). У сорта Стерлинг только одно растение из 75 (1,3%) оказалось стерильным. Растения с сильным кущением имеются у сорта Бразильская синяя (4,0% при 3,0) в контроле и у сорта Белоярое пшено (5,7% при 2,4% в контроле). У сорта ВИР-44 и Стерлинг не наблюдается ни одного растения с сильным кущением ни в контроле (из 105 и 17 соответственно), ни при обработке зеленым прочным во всех использованных концентрациях (из 246 и 75 растений соответственно).

У всех четырех сортов кукурузы при обработке семян зеленым прочным в  $M_1$  наблюдаются соцветия с разнополыми цветками. В контрольных вариантах лишь у одного из 17 растений сорта Стерлинг было замечено подобное явление. Однако эти сорта отличались по характеру из-

Таблица 5

Характер изменений соцветий у разных сортов кукурузы при обработке семян зеленым прочным во всех использованных концентрациях, %

Соцветия с разнополыми цветками	ВИР-44	Бразильская синяя	Стерлинг	Белоярое пшено
Зерно в метелке	50	11,8	100	12,5
Мужской цветок в початке	50	88,2	0	87,5

менений в соцветиях (табл. 5). Данные табл. 5 показывают, что у сорта ВИР-44 аномалии в соцветиях как мужских, так и женских появляются с одинаковой частотой, тогда как у сортов Бразильская синяя и Белоярое пшено в основном появляются изменения, выражающиеся в наличии мужских цветков в початке, а у сорта Стерлинг, наоборот, появляются только изменения типа «зерно в метелке».

Растения с зернами без эндосперма наблюдались только у сорта Бразильская синяя.

Антоциановая окраска листьев была отмечена у всех исследованных сортов, за исключением сорта ВИР-44, у которого в  $M_1$  не было ни одного растения с подобной окраской (из 246 растений), но в  $M_2$  они были обнаружены в большом количестве (9,7%). У сорта Бразильская синяя подобных растений оказалось 4,8%, Стерлинг—9,3% и Белоярое пше-

но—8,6%. Интересно, что желтая окраска листьев в  $M_1$  наблюдалась только у ВИР-44 (9,3%) при полном отсутствии у других сортов кукурузы. Белые полосы на листьях имели все сорта.

В  $M_1$  фасцированных початков не обнаружилось только у сорта Бразильская синяя, у остальных они были, но в разных количествах: у сорта Стерлинг—4,0%, у сорта Белоярое пшено—9,5% и у сорта ВИР-44—4,5%.

Таким образом, приведенный сравнительный анализ действия обработки воздушно-сухих семян зеленым прочным различных сортов кукурузы позволяет заключить, что выявленное при этом различие в изменчивости зависит не от анатомо-физиологических особенностей этих сортов (толщина кожицы семян, проницаемость к зеленому прочному, метаболизм красителя и т. д.), а от генетических особенностей этих сортов, по-разному реагирующих на действие зеленого прочного. Это видно из того, что один сорт дает по сравнению с другими максимальный выход одних измененных форм (стерильные растения у сорта Бразильская синяя, сильное кущение и фасцирование початков у сорта Белоярое пшено, желтые полосы на листьях у ВИР-44 и т. д.) и минимальный выход других (стерильные растения у сортов ВИР-44 и Белоярое пшено, сильное кущение у сортов ВИР-44 и Стерлинг, фасцирование початков у сорта Бразильская синяя и др.).

Чтобы судить о характере полученных при этом изменений, был проведен сравнительный анализ их в  $M_1$  и  $M_2$  сорта ВИР-44, хорошо известного своей стабильностью и широкой используемостью в генетических исследованиях (табл. 4).

В  $M_2$  в контрольной группе из 64 растений только одно растение было изменено. Однако обработка семян зеленым прочным привела к резкому увеличению количества измененных форм. Из 567 растений в  $M_2$  измененными оказались 156, т. е. 27,5%. Наибольшее количество измененных растений было в группе с 1,0% зеленым прочным. Как видно из таблицы, из 144 растений этой группы 40% оказались измененными. Наиболее часто наблюдались стерильные растения—растения с сильным кущением, с антоциановой окраской листьев и растения с белыми полосами на листьях. У девяти растений имелось по два измененных признака.

При сравнении изменений в  $M_1$  и  $M_2$  у сорта ВИР-44 выявилась интересная закономерность. В  $M_1$  из 246 растений ни одно растение не было стерильным, с сильным кущением, с зерном без эндосперма, с антоциановой окраской листьев. Не было также сочетания двух измененных признаков на одном растении. Тогда как в  $M_2$  поколении наблюдалась обратная картина. Если в  $M_1$  желтые полосы на листьях имели 32 растения, т. е. 13%, то в  $M_2$  только пять растений из 567 имели подобные листья, т. е. менее 1,0%. То же можно сказать о растениях с фасцированными початками: в  $M_1$ —около 5%, в  $M_2$ —около 0,3%. В  $M_2$  появились стерильные растения—8,1%, растения с сильным кущением—3,5%, растения с антоциановой окраской листьев—9,7% и т. д.

Эти данные указывают на то, что зеленый прочный влияет на генетический аппарат клетки, вызывая не только модификационную, но, очевидно, и мутационную изменчивость. Поскольку зеленый прочный связывается с основными белками ядер, то понятно, что в наблюдаемом процессе роль гистонов должна быть значительной, если не определяющей, особенно если учесть, что экзогенный гистон также обладает мутагенной активностью.

Ереванский государственный университет,  
кафедра биофизики

Поступило 11.IV 1972 г.

Գ. Հ. ՓԱՆՈՍՅԱՆ, Ե. Ե. ԹԱՄՐԱԶՅԱՆ

ԿԱՆԱԶ ԱՄՈՒՐԻ ՄՈՒԻՅԻԿԱՅԻՈՆ ԵՎ ՄՈՒՏԱԳԵՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ  
ԵԳԻՊՏԱՅՈՐԵՆԻ ՏԱՐԲԵՐ ՍՈՐՏԵՐԻ ՄՈՏ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Նգիպտացորենի տարբեր սորտերի (Բելոյարոյի պշենո, Ստեպինգ և Բրադիլական կապույտ) օղաչին շոր սերմերի մշակումը կանաչ ամուրով (0,0001—1%) առաջացնում է մի շարք փոփոխություններ սերունդներում:

Ստացված փոփոխությունների (աճման արագության, կոկոնակալման և ծաղկման ժամանակի, ցողունի բարձրության և նրա տրամագծի, կողրերի և սերմերի մորֆոլոգիական առանձնահատկությունների, տերևների պիգմենտացիան, արական և իգական ծաղիկների կառուցվածքի և այլն) անալիզները թույլ են տալիս եզրակացնել, որ կանաչ ամուրը օժտված է մոդիֆիկացիոն և մուտագեն ակտիվությամբ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Паносян Г. А., Назарян Э. М., Джавришян Д. М. Биологический журнал Армении, 24, 7, 1971.
2. Alfert M., Geschwind F. F., *Selective A.* Proc. Natl Acad, Sci US 39, 981—999, 1953.
3. Fahmy O. C., Fahmy M. Nature, 196, 873, 1962.