

В. С. ПОГОСЯН, Э. А. АГАДЖАНЯН, Н. К. ХАЧАТРЯН

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МУТАГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ДИМЕТИЛСУЛЬФАТА (ДМС) НА *COREOPSIS TINCTORIA*

Изложены результаты действия ДМС на семена *Coreopsis tinctoria*. Полученные данные позволяют считать, что изменения структуры хромосом в корешках M_2 выявляются в большем количестве, чем непосредственно после воздействия в M_1 .

При однократной обработке клеток алкилирующими веществами аберрации хромосом и генные мутации проявляются не только в первом, но и в последующих клеточных поколениях [12—14]. Под действием ионизирующей радиации и алкилирующего агента тиотэф возникновение аберраций в ходе раннего эмбриогенеза рыб [4, 6, 8] отмечено в течение десятка клеточных поколений. В ряде работ показано, что для реализации мутаций (после мутагенной обработки) требуется определенное время, после чего кривая выхода аберраций хромосом в зависимости от времени нанесения повреждения клеток семян ячменя [1], скерды [3] и гепатоцитов крысы [5] носит волнообразный характер.

Несмотря на указанные данные, до последнего времени не было точных сведений о репликации нестабильности хромосом в соматических клетках [10, 11]. Однако Дубинин с сотруд. [2] с помощью метода автордиографии на клетках китайского хомячка *in vitro* показали возможность появления аберраций во втором митозе на матрицах, синтезированных после воздействия азотистого иприта. Кроме того, в работах Эргашева, Юрченко, Акифьева [10] после двух циклов репликации хромосомальной ДНК показано появление аберраций хромосом в клетках растений.

Такие факты наводят на мысль, что при обработке мутагеном в определенных участках хромосом могут образоваться изменения, непосредственно не связанные с первичными молекулярными повреждениями, которые с прохождением нескольких актов репликации реализуются в мутации.

В связи с этим нами поставлен эксперимент с целью установления частоты хромосомных аберраций при однократной и повторной обработках ДМС в M_1 и M_2 .

Материал и методика. Свежесобранные воздушно-сухие семена ленка (*Coreopsis tinctoria*) были обработаны 0,01, 0,02, 0,03, 0,04 и 0,05% растворами ДМС в течение 18 час. Семена контрольного варианта соответственно выдерживались в дистиллированной воде. После обработки и промывки часть семян ставилась на проращивание в термостат при 24°C, другая—была высеяна в полевых условиях для получения растений M_1 . На

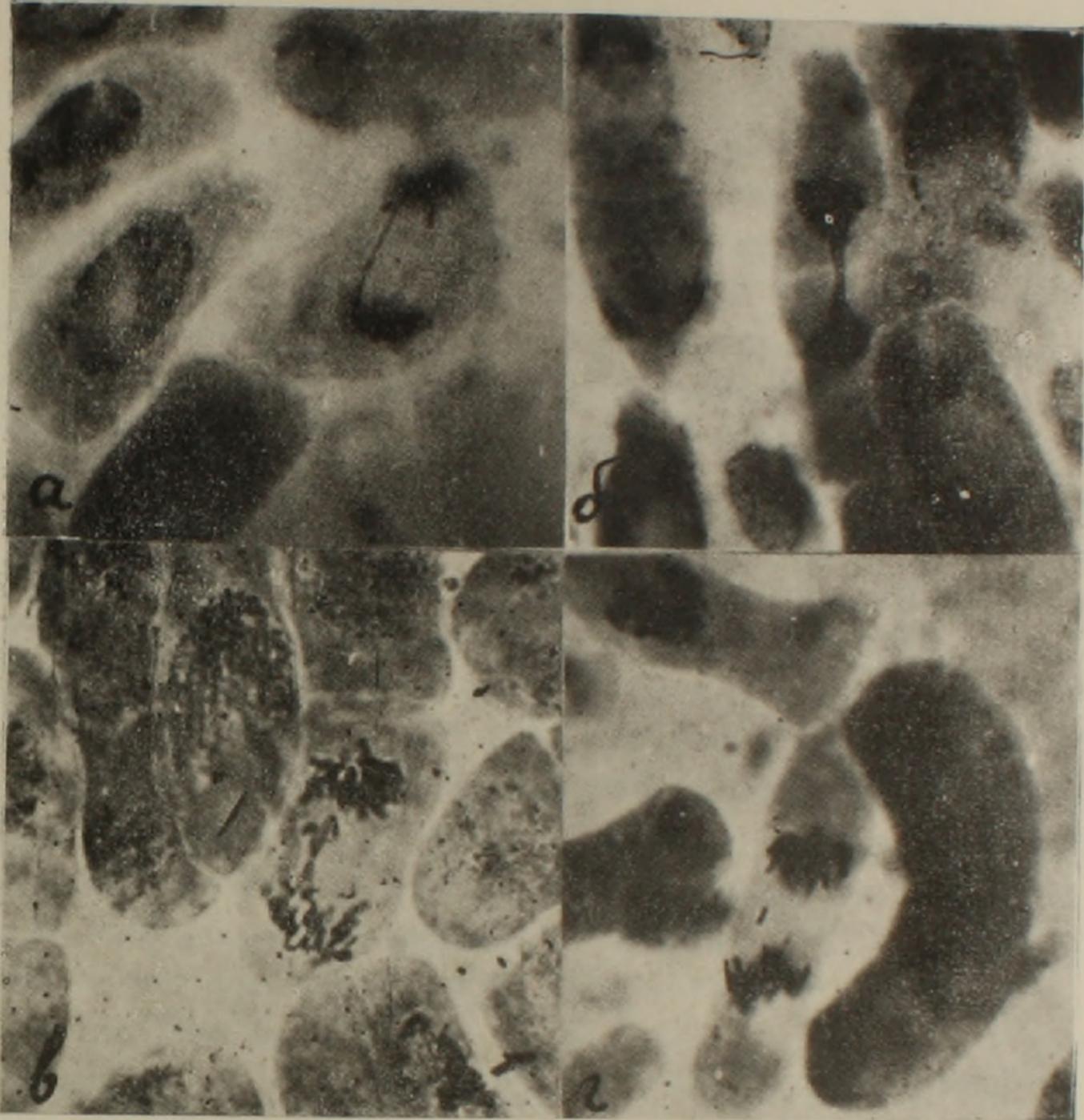


Рис. 1. Хромосомные aberrации у ленка, индуцированные действием ДМС.
а—одиночный мост, б, в—парный мост, г—ацентрический фрагмент.

следующий год семена растений M_1 были повторно обработаны теми же концентрациями ДМС и вместе с семенами M_2 ставились для проращивания в термостат. Корешки длиной 1—2 мм фиксировались уксусно-кислым спиртом (3:1). Готовились временные давленные препараты, окрашенные ацетокармином. Подсчет хромосомных aberrаций проводился в ана-телофазах первого митоза.

Результаты и обсуждение. Цитологический анализ меристематических клеток контрольных корешков показал, что частота появления спонтанных aberrаций хромосом в первом митозе у ленка весьма незначительна (0,07%). У данного объекта в спектре спонтанных хромосомных мутаций преобладают aberrации типа транслокаций. Однако данные анализа корешков M_1 показывают, что при однократной обработке низкими концентрациями ДМС (0,01%) наблюдается повышение частоты хромосомных aberrаций, процент которых доходит до максимума при концентрации 0,05%. Повышение процента aberrаций происходит не прямолинейно, а имеет как бы волнообразный характер. Такая волна отмечается при 0,03 и 0,04% концентрациях, где в первом случае уровень мутабельности выше контроля на 0,48, а во втором—на 0,27%. При концентрации 0,05% уровень мутабельности повышается на 0,59%.

В вариантах однократной обработки даже при наивысшей концентрации в M_1 уровень мутабельности не превышает 0,66%. Столь низкий уровень хромосомных aberrаций обусловлен слабым мутагенным действием ДМС [7, 9]. Известно, что ДМС в водной среде и эфирах образует минимальное количество хромосомных aberrаций. Это соединение действует в 3,5 раза слабее, чем этиленмин [9] и, как и все алкилсульфаты, является естественным мутагеном, ответственным за некоторую часть спонтанных изменений. Поэтому при действии ДМС, как и в случае естественных мутагенов, имеет место незначительное повышение уровня мутабельности. При воздействии же на семена ленка, у которого уровень спонтанных хромосомных aberrаций весьма низок (0,07%), повышение частоты aberrаций на 0,59% считается достоверным ($td=3$).

Интересно отметить, что при однократной обработке семян ДМС у ленка в спектре хромосомных aberrаций наибольший процент составляют одиночные и парные мосты. Это особенно четко выражается при воздействии 0,01, 0,02 и 0,03% концентрациями (таблица). ДМС, как и все алкилирующие агенты, приводит также к образованию делеций, которые выражаются в виде одиночных и парных фрагментов, максимум выхода которых наблюдается при 0,04 и 0,05% концентрациях (рис. 1).

При однократной обработке aberrации хромосом типа делеций в большем количестве проявляются в M_2 , где меняется даже общий спектр хромосомных aberrаций. В указанном варианте в отличие от контроля и M_1 в спектре хромосомных aberrаций главным типом являются одиночные фрагменты, которые составляют от 23,6 до 33,3% всей суммы нарушений и выявляются уже при концентрации 0,02%. Примерно в 1—1,5 раза реже встречаются парные фрагменты, а остальные aberrации представлены в виде транслокаций. Числовые данные таблицы в основном характеризуют удивительную повторяемость глав-

Спектр хромосомных aberrаций у ленка в M_1 и M_2 при однократной и повторной обработке ДМС

Таблица

Концентрация, ‰	Однократная обработка								Повторная обработка										
	M_1				соотношение мостов к фрагментам				M_2				соотношение мостов к фрагментам						
	число просмотренных ана-телофаз	типы aberrаций, ‰		—	число просмотренных ана-телофаз	типы aberrаций, ‰		—	число просмотренных ана-телофаз	типы aberrаций, ‰		—	соотношение мостов к фрагментам						
Контроль	2604	—	—	5,2	—	—	—	1:0	1097	—	—	—	—	1097	—	—	10,1	—	1:0
0,01	2748	4,7	—	14,2	4,7	—	—	4:1	1084	23,6	—	—	—	1675	22,0	—	22,2	—	1:1
0,02	1857	4,1	8,3	20,8	8,2	—	—	2,3:1	1039	29,4	17,6	30,3	6,0	964	29,1	16,6	4,1	—	1:11
0,03	1840	—	5,0	45,0	5,0	—	—	10:1	1127	33,3	16,6	16,6	—	1309	33,3	11,1	22,2	—	1:2
0,04	1623	11,1	5,5	18,1	—	—	—	1,1:1	1230	30,7	11,5	3,8	3,8	1011	33,3	11,1	14,8	3,7	1:3
0,05	1352	11,1	3,7	18,5	—	—	—	1,2:1	1162	22,5	16,1	19,3	—	505	33,3	16,6	16,6	—	1:3

ных типов aberrаций для всех концентраций. Соотношение между четырьмя типами aberrаций при взятых концентрациях остается неизменным в M_2 . Приведенные данные показывают, что развитие цепных процессов в хромосомах осуществляется постепенно. Образование одиночных фрагментов представляет собой первый, основной акт реализации изменений в хромосомные мутации. Парные фрагменты, являющиеся в случаях алкилирующих мутагенов следствием изолюкусных разрывов, проявляются уже при обработке семян 0,02% раствором ДМС.

Наряду с изменением спектра хромосомных aberrаций, при однократной обработке в корешках M_2 по сравнению с M_1 наблюдается резкое повышение частоты нарушений, где кривая выражена тремя пиками. Первый пик—наивысший, отмечается при концентрации 0,01, второй—при 0,03, а третий—при 0,05% (рис. 2).

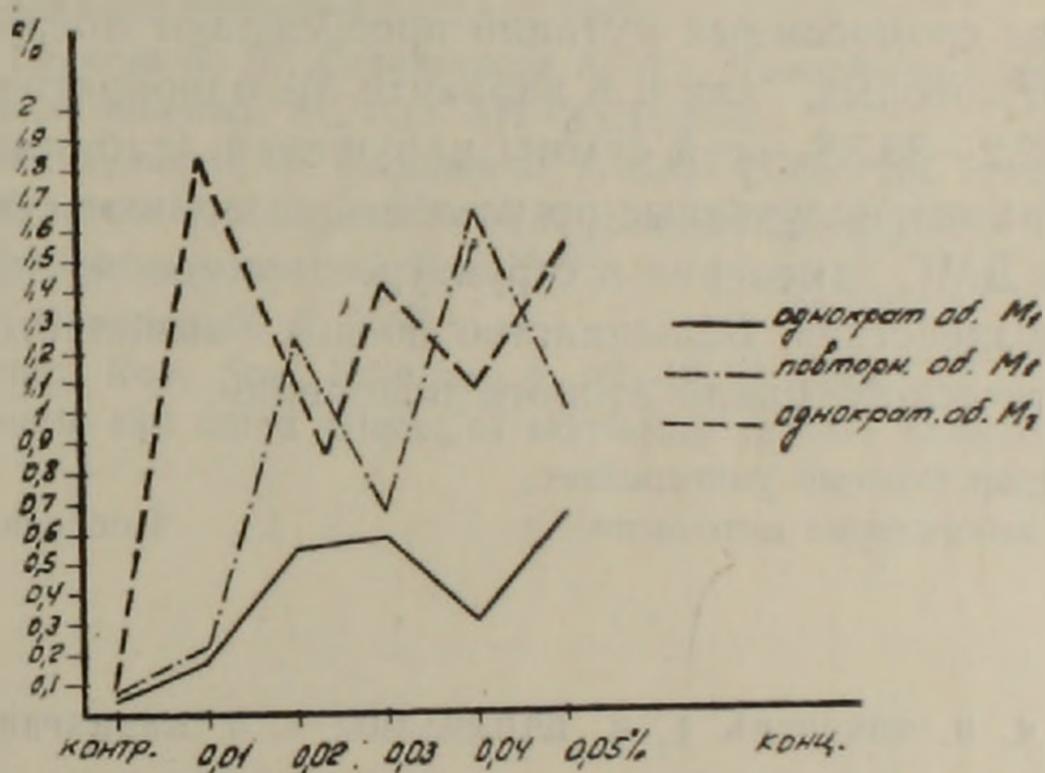


Рис. 2. Частота хромосомных aberrаций у ленка в M_1 и M_2 при однократной и повторной обработке ДМС.

Волнообразная кинетика выхода структурных изменений хромосом не дает ясного представления о том, что хромосомные aberrации возникают непосредственно из первичных повреждений ДНК, так как при однократной обработке процент хромосомных aberrаций повышается незначительно.

Известно, что ДМС, как и все алкилсульфаты, образуется в разных тканях при взаимодействии спирта с серной кислотой. Оба компонента алкилсульфатов играют значительную роль в обмене веществ в животном и в растительном организмах. Обязательное участие спиртов и сульфатов именно в обмене веществ делает возможным возникновение как генных мутаций, так и хромосомных aberrаций с образованием ДМС и близких к нему соединений в клетках [7]. Поэтому при однократной обработке в M_1 частота и спектр хромосомных aberrаций при низких концентрациях существенно не отличаются от спонтанного уровня. Однако в M_2 происходит значительное увеличение числа aberrантных клеток. Исходя из этого можно предположить, что при однократной обработке

в M_1 реализуемые структурные изменения хромосом составляют только часть общего количества возникших мутационных изменений. Повышение процента aberrаций хромосом в M_2 можно считать следствием реализации остальных изменений хромосом, образовавшихся после воздействия. Это подтверждается данными, полученными в M_1 при повторной обработке. Если реализация изменения хромосом происходит непосредственно после воздействия, то частота aberrаций при повторной обработке достигает максимума. Однако, как показывают кривые на рис. 2, повторная обработка семян M_1 по частоте aberrаций занимает промежуточное место между M_1 и M_2 однократной обработки. В указанном варианте кривая, характеризующая частоту хромосомных aberrаций, имеет два пика. Первый пик отмечается при концентрации 0,02, а второй — при 0,04%.

При повторной обработке семян M_1 различными концентрациями ДМС в спектре хромосомных мутаций преобладают aberrации типа делений, процент которых, как и в варианте M_2 однократной обработки, составляет—22,2—33,3% всей суммы нарушений (таблица).

Таким образом, полученные результаты позволяют считать, что индуцированные ДМС изменения в структуре хромосом проявляются не сразу после воздействия. Большинство из них выявляется в корешках первого митотического цикла второго поколения.

Ереванский государственный университет,
проблемная лаборатория цитологии

Поступило 12.IV 1974 г.

Վ. Ս. ՊՈՂՈՍՅԱՆ, Է. Ա. ԱԳԱԶՅԱՆՅԱՆ, Ն. Կ. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ

ԴԻՄԵԹԻԼՍՈՒԼՖԱՏԻ (ԴՄՍ) ՄՈՒՏԱԳԵՆ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅԱՆ ԲԶԶԱԲԱՆԱԿԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ COREOPSIS TINCTORIA-ի ՄՈՏ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրվել է *Coreopsis tinctoria*-ի առաջին և երկրորդ սերնդի սերմերի արմատածայրերում առաջացած բրոմոսոմային վերակառուցումների հաճախականությունը ԴՄՍ-ի միանվազ և կրկնակի ազդեցության դեպքում:

Այդ նպատակով փորձարկվող օբյեկտի օգաչոր սերմերը մշակվել են ԴՄՍ-ի 0,01, 0,02, 0,03, 0,04 և 0,05% խտություններով և ֆիքսվել 1—2 մմ երկարություն տնեցող արմատածիլերը: Հաշվի է առնվել անա-թեյոֆաղերում հանդիպող բրոմոսոմային վերակառուցումները:

Պարզվել է, որ ԴՄՍ-ի միանվազ մշակման դեպքում M_1 -ում բրոմոսոմային վերակառուցումների հաճախականությունը բավական ցածր է, մինչդեռ կրկնակի մշակման տարբերակում այն զգալիորեն ավելանում է: Վերակառուցումների հաճախականությունը հատկապես մեծանում է միանվազ մշակման տարբերակի M_2 -ում, որտեղ ի տարբերություն M_1 -ում դրսևորվող տրանսլոկացիոն բնույթի փոփոխությունների՝ գերակշռում են դելեցիաները,

որոնք հանդես են գալիս միայնակ և կրկնակի աջենտրիկ ֆրագմենտների ձևով: Պետք է ենթադրել, որ թույլ մուտագենների ազդման դեպքում բրոմոսոմի կառուցվածքային փոփոխությունների իրականացումը տեղի է ունենում աստիճանաբար: Դրանով է բացատրվում M_2 -ում բրոմոսոմային վերակառուցումների քանակի զգալի ավելացումը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Гарина К. П., Романова Н. И. Генетика, 6, 6, 1970.
2. Дубинин Н. П., Акифьев А. П., Виштынецкая Т. А. Генетика, 1, 7, 1971.
3. Дубинин Н. П., Дубинина Л. Г. Генетика, 4, 5, 1968.
4. Дубинин Н. П., Тарасов В. А. Успехи соврем. генетики, 2, 1969.
5. Мовсесян М. В., Акифьев А. П. ДАН СССР, 188, 3, 1969.
6. Прокофьева-Бельговская А. А. Цитология, 3, 4, 1961.
7. Рапопорт И. А. Доклады ВАСХНИЛ, 12, 10, 1947.
8. Романов Д. Д., Беляева В. Н., Головинская К. А., Прокофьева-Бельговская А. А. Сб. Радиационная генетика. М., Изд. АН СССР, 1962.
9. Шкварников П. К., Кулик М. И., Сафонов В. Т. ДАН СССР, 164, 5, 1965.
10. Эргашев А. К., Юрченко В. В., Акифьев А. П. Генетика, 8, 4, 1972.
11. Эргашев А. К. Цитология и генетика, 6, 5, 1972.
12. Alexander M. L. Genetics, 56, 2, 1967.
13. Auerbach Ch. Proc., Roy., Sos., Edinburg B, 62—II, 25, 1946.
14. Loveless A. Genetic and allied effects of alkylating agents. London, Butterworth, 1966.