

Л. А. ГУКАСЯН, Д. И. АКОПЯН

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ НИТРОЗОМЕТИЛМОЧЕВИНЫ НА СЕМЕНА ПЕРЦА (*CAPUSICUM ANNUUM* L.)

Изучались влияние нитрозометилмочевины (НММ) на всхожесть, динамику, энергию прорастания семян перца сорта Юбилейный 307 в лабораторных условиях, а также поражения ядра меристематических клеток корешков при однократной и повторной обработках.

Выявлена определенная корреляция между максимальной всхожестью, энергией прорастания и хромосомными перестройками.

Эффект мутирсвания выражен сильнее при повторной обработке семян мутагеном.

Среди многочисленных факторов, влияющих на изменения хромосом в организме, важная роль принадлежит химическим мутагенам.

В последнее время возрос интерес к мутагенному эффекту нитрозосоединений. Установлена чрезвычайно высокая мутагенная активность нитрозометилмочевины, проявляющаяся в широком спектре индуцированных мутаций [4, 6—8].

Исследования, проведенные на клетках животных и человека, а также на растениях, показали высокую активность НММ в индуцировании хромосомных aberrаций [13, 15].

Влияние химических мутагенов на представителей семейства Solanaceae, в частности на перец, изучено сравнительно мало [1, 2].

Цель настоящей работы состояла в изучении влияния НММ на всхожесть, динамику, энергию прорастания, а также в выявлении хромосомных нарушений в меристематических клетках корешков семян перца сорта Юбилейный 307.

Материал и методика. Семена перца обрабатывались 0,006, 0,01 и 0,05% концентрациями НММ в течение 24 часов. Кроме однократной обработки, они подвергались и повторному воздействию мутагена теми же концентрациями. После обработки указанными дозами семена тщательно промывались в проточной воде и проращивались в чашках Петри в термостате при 24°C. Проростки длиной 0,5—0,6 см фиксировались модифицированным раствором Карнуа. Анализ корешков проводился на давленных ацетокарминовых препаратах.

Анафазный анализ был проведен в I митозе. Определялось количество изученных анафаз, анафаз с общими нарушениями (перестройки и отстающие хромосомы), а также вычислялся процент отдельных типов перестроек. Полученные данные обработаны статистически. Определена достоверность разницы опыт-контроль (td).

Для изучения динамики (всхожесть семян от 1-го до 21-го дня), энергии прорастания (всхожесть семян от 1-го до 7-и дней) и максимальной всхожести в лабораторных условиях опыт был поставлен в трех повторностях.

Результаты и обсуждение. При однократной обработке семян перца сорта Юбилейный 307 (рис. 1) отмечалось массовое появление всходов на 3—4-ый день. В первые два дня при наивысшей дозе мутагена

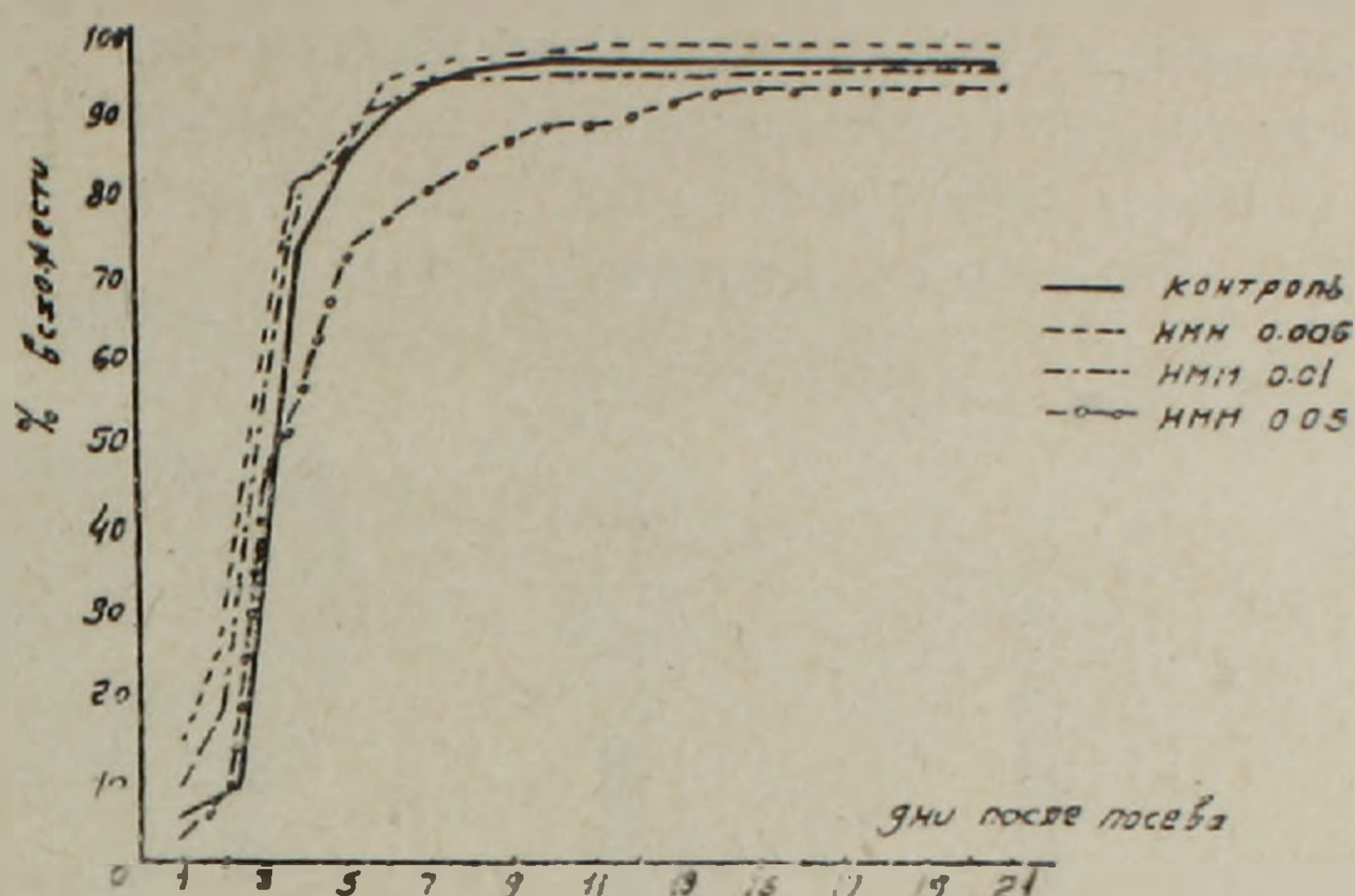


Рис. 1. Динамика прорастания семян перца под действием НММ при однократной обработке.

(0,05%) была заметна задержка в прорастании по сравнению с другими вариантами, затем на 3-й день наблюдалась интенсивная всхожесть, постепенно замедляющаяся к 19-му дню. Однако в контроле и при дозах 0,006, 0,01 всхожесть семян почти прекращалась на 8—9-ый день.

Аналогичная картина наблюдалась при повторной обработке семян мутагеном (рис. 2). В этом случае изменчивость в динамике прораста-

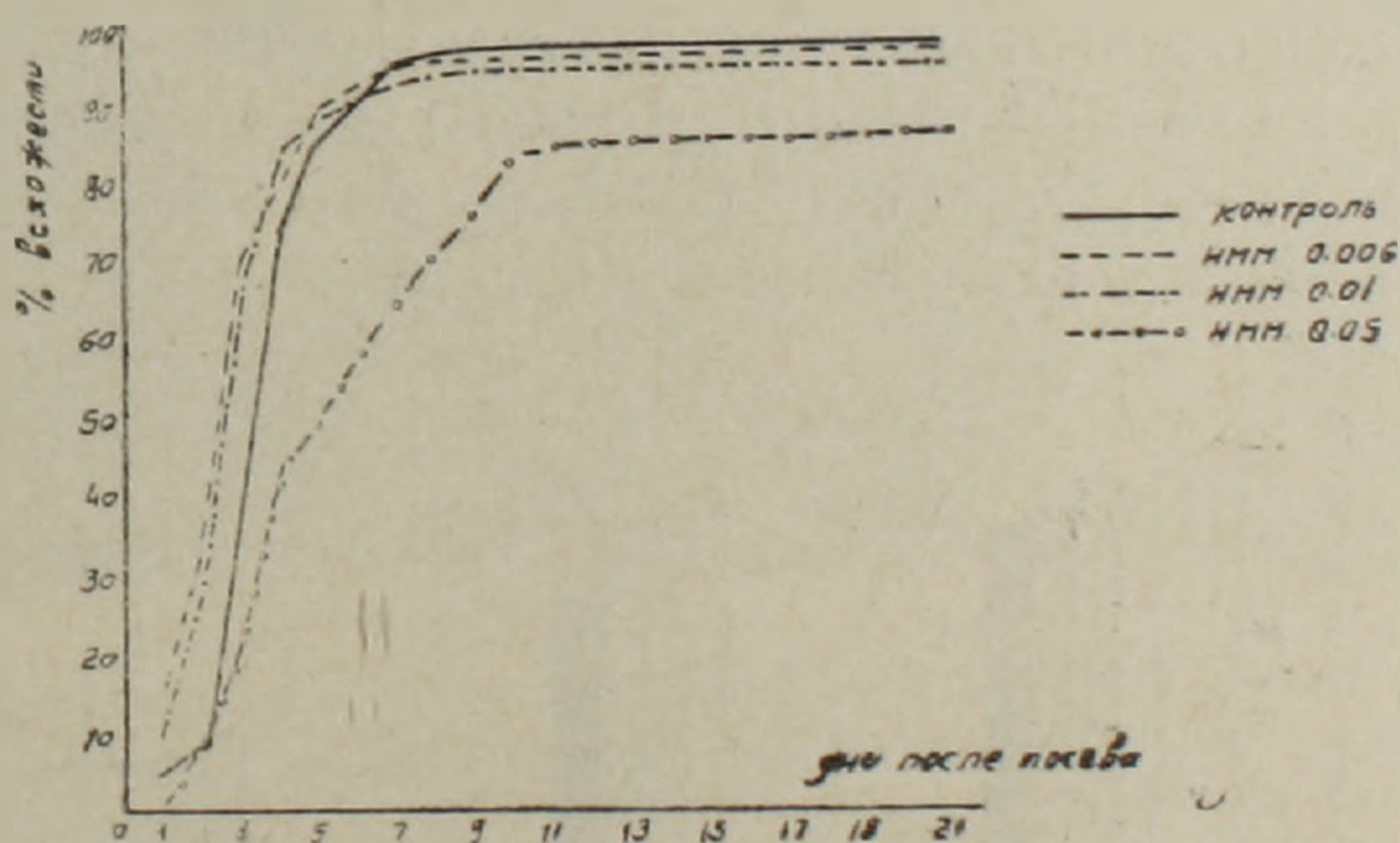


Рис. 2. Динамика прорастания семян перца под действием НММ при повторной обработке.

ния была аналогична таковой при однократной обработке. При 0,05% дозе прорастание шло вначале медленно, а затем интенсивнее, и это продолжалось до 21-го дня. В остальных вариантах прорастание семян прекратилось сравнительно раньше, но позже, чем в контроле.

Таким образом, угнетающее действие мутагена заключалось в растягивании процесса прорастания семян.

О степени чувствительности растений к действию мутагенов, по мнению некоторых авторов, можно судить по всхожести семян, перестройкам хромосом, выживаемости и другим показателям в M_1 [9]. Наиболее стимулирующей дозой, способствующей максимальной всхожести семян перца, при однократной и повторной обработках оказалась концентрация 0,006. При этой дозе всхожесть семян при однократной обработке была выше, чем в контроле ($99 \pm 0,99\%$) (рис. 3). В остальных вариантах она снижалась с возрастанием концентрации НММ.

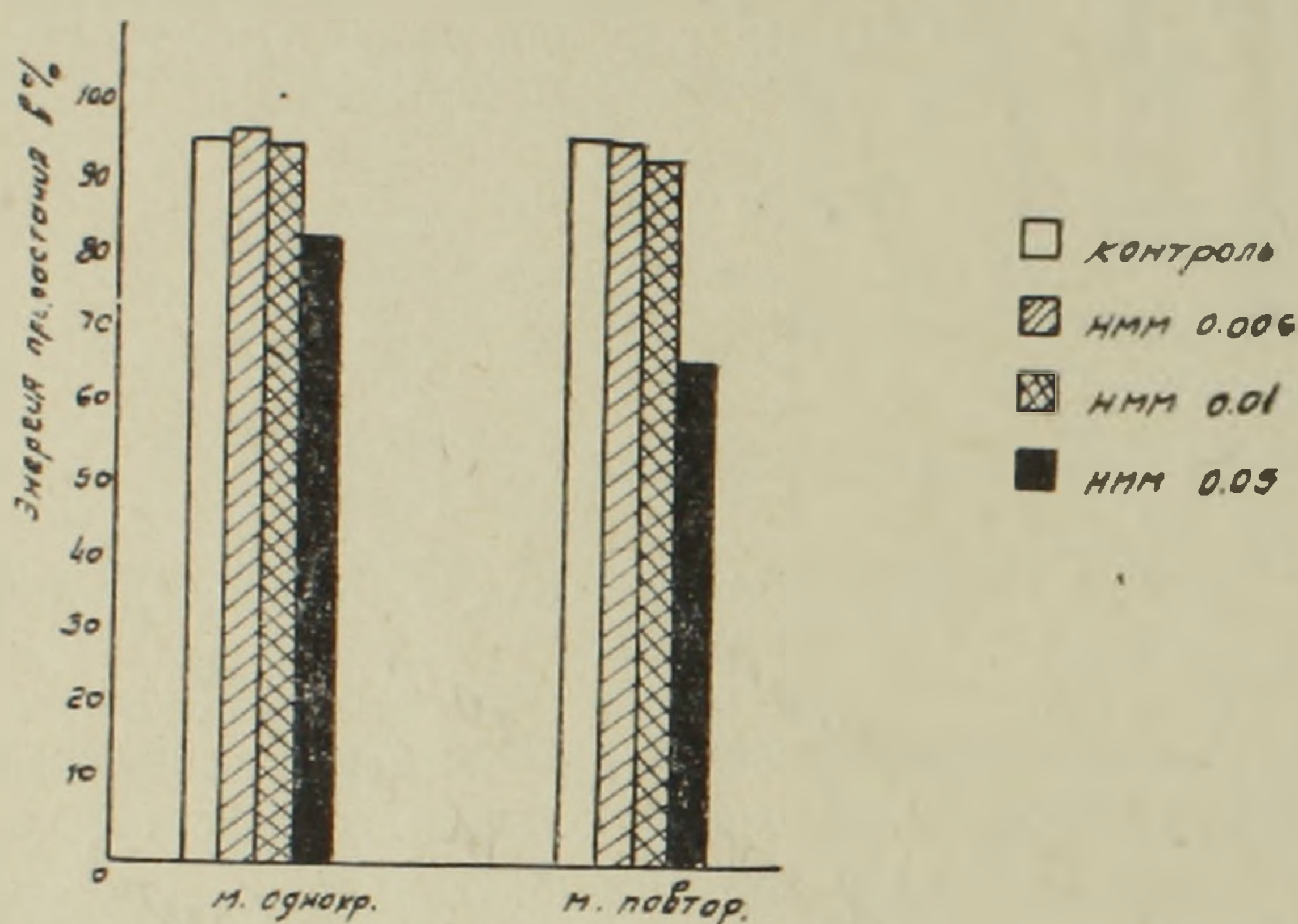


Рис. 3. Максимальная всхожесть семян перца под действием НММ при однократной и повторной обработках.

Результаты эксперимента показали, что самая низкая концентрация НММ (0,006%) оказывает стимулирующее действие также на энергию прорастания. Как у однократно ($96 \pm 1,96\%$), так и у повторно обработанных семян ($94,6 \pm 2,25$) (рис. 4) с повышением дозы мутагена энергия прорастания понижалась и достигала минимума при наивысшей дозе.

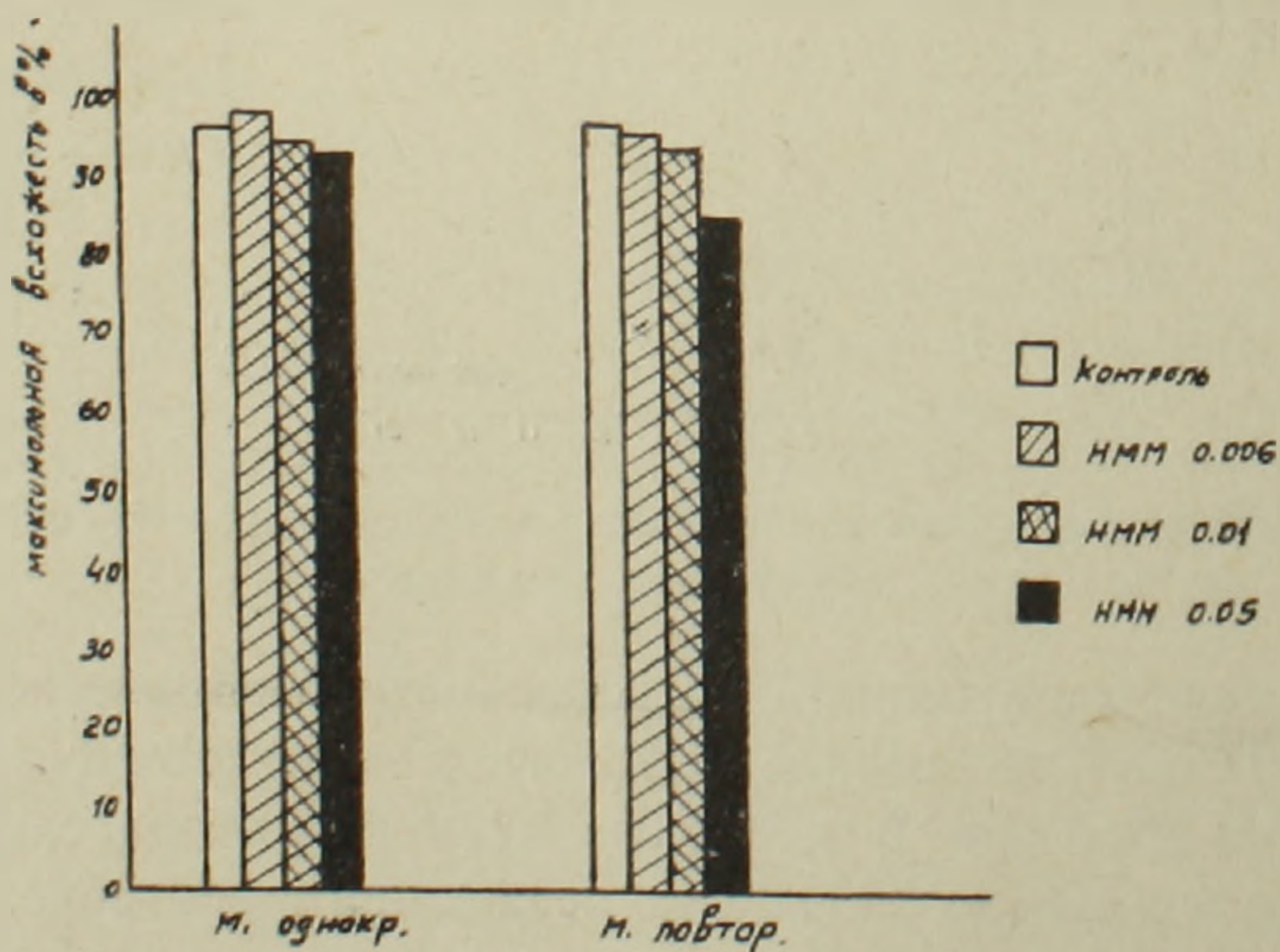


Рис. 4. Энергия прорастания семян перца под действием НММ при однократной и повторной обработках.

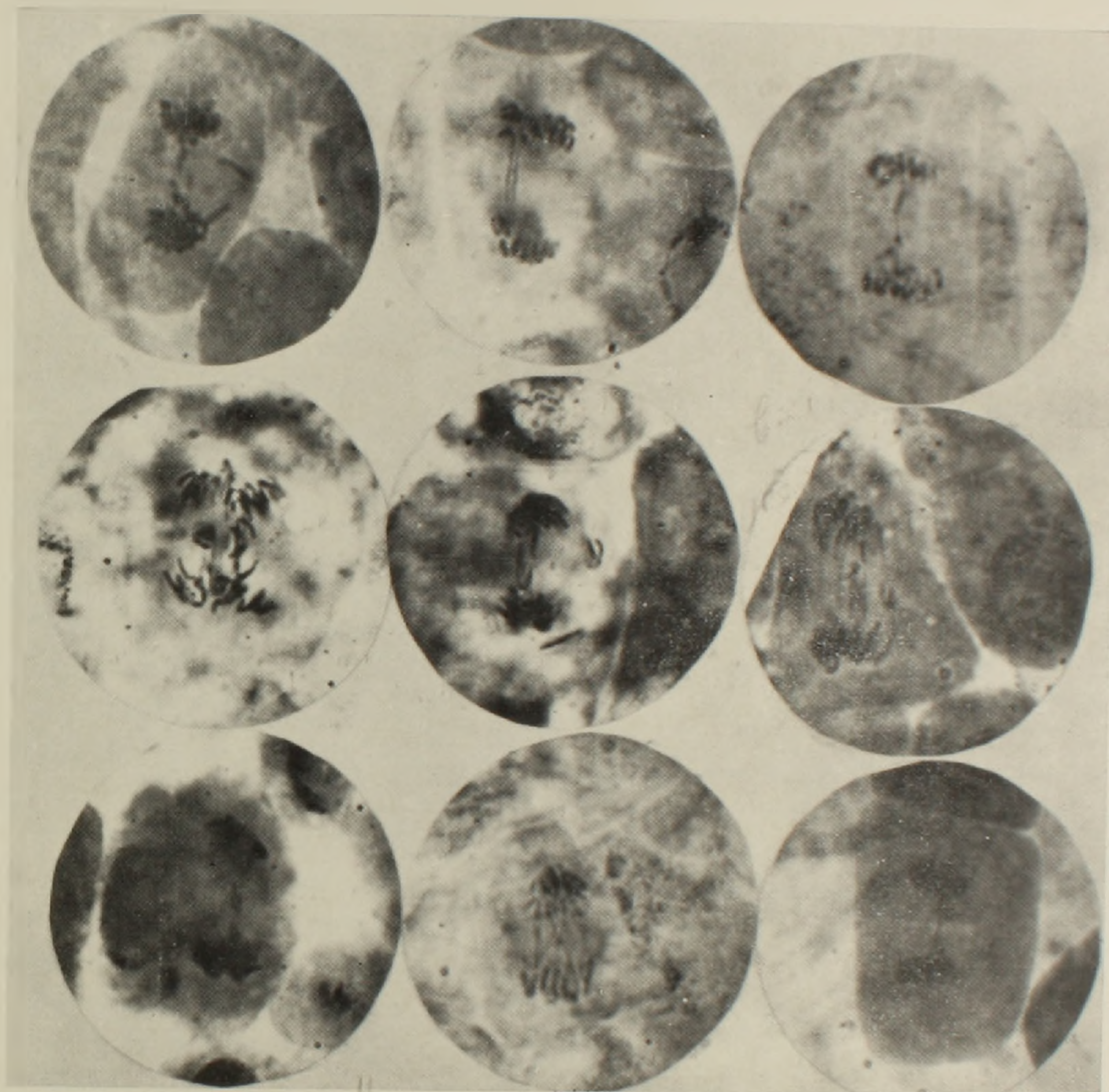


Рис. 5. Хромосомные нарушения в меристематических клетках корешков семян перца под действием НММ.

Таблица

Результаты воздействия НММ на хромосомные перестройки у семян перца сорта Юбилейный 307

Обработка семян	Мутаген, доза	Количество просмотренных анафаз	Количество анафаз с перестройками		Разница опыт — контроль (td)	Соотношение мостов к фрагментам
			число	% $\pm m$		
Однократная	НММ 0,006	2501	66	$2,63 \pm 0,31$	7,12	1:7,12
	0,01	2331	62	$2,65 \pm 0,33$	6,84	1:5,20
	0,05	2724	85	$3,11 \pm 0,32$	8,30	1:5,60
Повторная	НММ 0,006	2004	78	$3,89 \pm 0,43$	8,10	1:4,20
	0,01	2010	83	$4,14 \pm 0,50$	6,47	1:2,45
	0,05	1950	91	$4,66 \pm 0,47$	9,04	1:3,55
Контроль	—	2832	9	$0,31 \pm 0,10$	—	—

Изучение действия различных доз НММ при однократной и повторной обработках семян перца показало, что процент перестроек хромосом повышается в прямой зависимости от концентрации мутагена, однако в последнем случае эффект мутирования выражен сильнее (таблица). При вычислении хромосомных перестроек отмечается достоверная разница опыт—контроль (td).

Процент перестроек хромосом в зависимости от концентрации мутагена (НММ) колебался при однократной обработке в пределах $2,63 \pm 0,31$ — $3,11 \pm 0,32\%$, а при повторной — $3,89 \pm 0,43$ — $4,66 \pm 0,47\%$, тогда как в контроле он был равен $0,31 \pm 0,1$.

Сходные данные корреляционной зависимости количества перестроек от дозы мутагена приводятся и другими авторами [11].

В отношении частоты клеток с общими нарушениями (перестройки и отстающие хромосомы) наблюдаемая корреляция иногда нарушалась, особенно при повторной обработке. При наивысшей дозе (0,05%) процент общих нарушений был чуть ниже ($9,89 \pm 0,67$), чем при предыдущей концентрации ($10,10 \pm 0,67$). Количество нарушений хромосом в контрольном варианте намного отставало от остальных вариантов ($1,93 \pm 0,25$).

При цитогенетическом анализе обнаружены в основном одиночные и парные фрагменты, микрофрагменты, мосты без фрагментов и реже с фрагментами.

Отношение мостов к фрагментам при разных разведениях составляло от 1:5,2 до 1:7,12 при однократной обработке и от 1:2,45 до 1:4,2 при повторной.

Таким образом, большая частота фрагментов по сравнению с мостами наблюдалась при однократной обработке. Согласно данным других авторов, отношение фрагментов к мостам при действии НММ в разных дозах составляет от 1:4 до 1:6 [6, 14]. Количество одиночных фрагментов преобладало над парными, что, по-видимому, связано со слабой фрагментацией хромосом [3, 12].

Наблюдалось также одновременное появление двух или более мутаций в одном ядре: обнаружены клетки с хромосомными и хроматидными мостами. Среди парных хроматидных мостов часто встречались перекрестные. Редко обнаруживались хромосомные мосты, что свидетельствует о действии НММ на хромосомы до их репликации. Образование большого количества хроматидных мостов при действии алкилирующего агента объясняется реагированием мутагена с клетками в фазе G_1 , которое превращается в истинные мутации в фазе репликации ДНК [4, 5, 20].

В литературе существует мнение, согласно которому непрерывность хромосомной нити определяется кетоиминными связями [16]. Отсюда можно предположить, что хромосомные перестройки образуются в результате разрыва этих связей. Образование мостов обосновывается соединением двух несущих центромеры фрагментов хромосом [3, 12].

Наряду со структурными хромосомными перестройками, часто встречались также отстающие и опережающие хромосомы (рис. 5). Отмечались одиночные и групповые отстающие хромосомы, разбросанные или собравшиеся в одну кучу. По-видимому, причиной образования отстающих хромосом можно считать либо нарушение синхронности движения хромосом, вследствие чего хромосомы равномерно не расходятся по полюсам, либо нарушение функции центромеры.

Сравнительно небольшую частоту хромосомных перестроек можно объяснить тем, что невозможно обнаружить каждую аберрацию в момент ее возникновения. Кроме того, уровень мутабельности значительно колеблется у различных культур, ибо каждая проявляет разную чувствительность к токсическому действию мутагена. Она зависит от сложной генетической структуры, объема ядра, числа и длины хромосом [7, 19].

Известно также, что химический состав НММ наиболее сродствен с генным материалом и прямо действует на геном, вызывая как хромосомные перестройки, так и генные мутации со значительным преобладанием последних [4].

Большое влияние на выход и спектр мутации оказывает время экспозиции. По данным некоторых авторов, спектр и частота мутаций больше зависят от экспозиции обработки, чем от концентрации мутагена [8].

Таким образом, 24-часовая экспозиция НММ, применяемая нами, по-видимому, явилась задерживающим фактором высокого эффекта мутирования, так как при более длительных экспозициях повреждающее действие мутагена увеличивается.

Ереванский государственный университет,
проблемная лаборатория цитологии

Поступило 27.XI 1973 г.

Լ. Ա. ՂՈՐԿԱՍՅԱՆ, Զ. Ի. ՀԱԿՈԲՅԱՆ

ՆԻՏՐՈԶՈՄԵԹԻԼՄԵԾԱՆՅՈՒԹԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ԱՐԴՅՈՒՆԱՎԵՏՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՏԱՔԴԵՂԻ (*CAPSICUM ANNUUM*) ՍԵՐՄԵՐԻ ՄՈՏ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրվել է նիտրոզոմեթիլմիզանյութի ազդեցությունը տարզեղի Յուբիլեյնի 307 սորտի սերմերի ծլունակության, ծլման էներգիայի, դինամիկայի, ինչպես նաև արմատածայրերի մերիստեմատիկ բջիջների կորիզներում առաջացած փոփոխությունների վրա:

Փորձերի ընթացքում օգտագործվել են նիտրոզոմեթիլմիզանյութի 0,006, 0,01, 0,05% լուծույթները, որոնց մեջ տարզեղի սերմերը մշակվել են 24 ժամ տևողությամբ: Ուսումնասիրվել են նաև մուտագենի վերոհիշյալ լուծույթների կրկնակի ազդեցությանը ենթարկված սերմեր:

Անաֆազային անալիզի համար կիրառվել է քրոմոսոմային խանգարումների հաշվարկը առաջին միթոզում:

Ցիտոգենետիկական անալիզի արդյունքներից պարզվել է, որ մուտագենի կոնցենտրացիայի մեծացմանը զուգընթաց բարձրանում է քրոմոսոմային վերականգնումների տոկոսը: Նկատվել են միայնակ և կրկնակի ֆրագմենտներ և կամուրջներ՝ միայնակների զգալի գերակշռությամբ: Միևնույն կորիզում դիտվել են նաև մեկից ավելի խանգարումներ:

Մլման դինամիկայի ուսումնասիրությունը ցույց է տվել, որ մուտագենի հնչող ազդեցության տակ սերմերի ծլումը ձգձգվում է:

Հայտնաբերվել է որոշակի կորելյացիոն կապ քրոմոսոմային վերականգնումների, մաքսիմալ ծլունակության և ծլման էներգիայի միջև:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Галукян М. Г. Биологический журнал Армении, 21, 3, 59, 1968.
2. Галукян М. Г. Биологический журнал Армении, 21, 9, 53, 1968.
3. Гауль Х. Растенневодство, 8, 3, 1964.
4. Домрачева А. Г. Сб. Химический мутагенез и селекция. М., 99, 1971.
5. Дубинин Н. П., Македонов Г. П. и др. Генетика, 8, 4, 38, 1972.
6. Зоз Н. Н., Макарова С. И. Цитология, 7, 3, 1965.
7. Зоз Н. Н., Кожанова Н. Н., Сальникова Г. В. Генетика, 2, 1967.
8. Зоз Н. Н. Сб. Химический мутагенез и селекция. М., 161, 1971.
9. Зоз Н. Н., Рапопорт И. А. Сб. Химический мутагенез и селекция. М., 1971.
10. Зосимович В. П. и Андросчук А. Ф. Цитология и генетика, 1, 2, 1967.
11. Кулик М. И. ДАН СССР, 138, 1, 211, 1961.
12. Лищенко И. Д. Цитология, 9, 4, 1967.
13. Макарова С. И., Зоз Н. Н., Якубцинер М. М. Сб. Супермутагены. М., 1966.
14. Платонова Р. Н., Сахаров В. В. Генетика, 3, 1965.
15. Раджабли С. И., Целлариус С. Ф., Бакуменко Н. Г. Сб. Супермутагены. М., 1966.
16. Рапопорт И. А. ДАН СССР, 59, 6, 1948.
17. Сахаров В. В. Общая биология, 1, 3, 1940.
18. Терзян Р. Т., Саакян Т. А. Биологический журнал Армении, 25, 10, 1972.
19. Bottino P. Heradity, 56, 5, 225, 1965.
20. Kihlman B. A. Advances Genetics, 10, 1, 1961.