

Р. А. АЗАТЯН

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МУТАГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ТРИФУНКЦИОНАЛЬНОГО АЗОТИСТОГО ИПРИТА (HN3) НА СУХИЕ СЕМЕНА *CREPIS CAPILLARIS* L.

Обнаружено, что при воздействии трифункциональным азотистым ипритом (HN3) на сухие семена *C. capillaris* возникает значительное количество хроматидных перестроек. Это объясняется тем, что мутаген непосредственно реагирует с хромосомами в фазе G_1 -митотического цикла, в результате чего возникают потенциальные изменения, реализующиеся в истинные разрывы хромосом в момент их ауторепродукции.

Центральным звеном мутационного процесса является развитие предмутационного потенциального изменения в хромосоме. Сущность его заключается во взаимодействии мутагена с молекулой ДНК и последующей цепи процессов, протекающих в хромосоме при функционировании различных внутриклеточных метаболических систем.

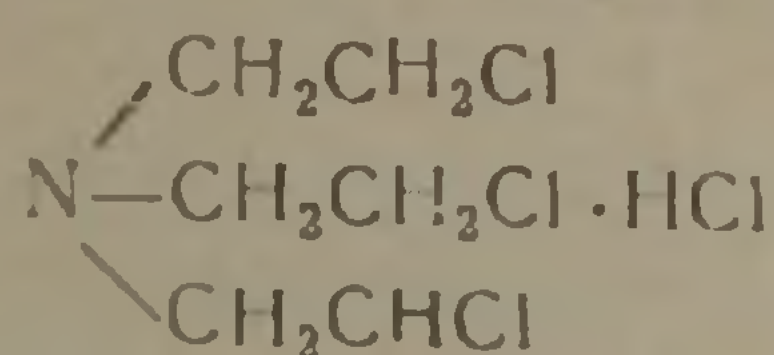
Идея о потенциальных изменениях или метастабильном состоянии хромосом, возникающем после действия мутагенного фактора, появилась в литературе еще в 40-ых годах в результате прогресса исследований в области химического мутагенеза, а также получения фактов по модификации мутагенного эффекта [1].

Известно, что при действии алкилирующих соединений возникают структурные мутации хромосом хроматидного типа, и количество их растет с приходом в митоз клеток, обработанных во время и до синтеза ДНК [8, 9], т. е. эти агенты вызывают разрывы хромосом в фазе S-митотического цикла. Эти факты о закономерностях возникновения аберраций хромосом при действии химических соединений не исключали возможности взаимодействия алкилирующих веществ с хромосомой в фазе G_1 . Предполагалось, что возможны потенциальные изменения хромосом, реализующиеся в истинные разрывы в фазе S-митотического цикла.

Однако в исследованиях последних лет указывается, что под действием химических соединений возникают реальные разрывы хромосом еще до их репродукции и развития предмутационных поражений хромосом в ряду клеточных поколений [2, 3].

С целью выяснения чувствительности хромосом в фазе G_1 -митотического цикла сухие семена *C. capillaris* подвергали действию алкирующего агента, так как известно, что у этого объекта все клетки находятся в фазе G_1 -клеточного цикла [4, 10].

В качестве алкирующего агента был использован трифункциональный азотистый иприт (HN3).



Мутагенное действие иприта впервые было показано Ауэрбах и Робсоном [5, 6] на *Drosophilla melanogaster*. В их опытах видимые мутации появились даже через десятки клеточных поколений, включая два оплодотворения.

Форд [7] при действии на корешки *Vicia faba* обнаружил хроматидные aberrации, которые появляются в течение 8—10 час. после обработки ипритом (HN2).

Материал и методика. Сухие семена *C. capillaris* обрабатывались в течение 2 час. $3 \cdot 10^{-4}$ М раствором HN3, после чего в течение 30 мин промывались водопроводной водой и ставились для проращивания в чашки Петри на фильтровальную бумагу, смоченную 0,01% колхицином. Проращивались семена при 25°. Фиксация проводилась в первом митозе в метафазе на временных ацетокарминовых препаратах.

Результаты и обсуждение. Данные по естественному мутированию хромосом свежих семян *C. capillaris* свидетельствуют о том, что уровень мутирования клеток урожая 1971 г. был $0,5 \pm 0,1\%$. Все перестройки хромосом, найденные в контрольном материале, были хроматидного типа.

Таблица 1

Уровень мутирования и спектр структурных мутаций хромосом при воздействии на сухие семена *C. capillaris* трифункциональным азотистым ипритом (HN3)

Концентрация мутагена	Сроки фиксации от начала обработки	Число изученных корешков	Число просмотренных метафаз	Метафазы с aberrациями		Количество aberrаций		Типы перестроек, % от их суммы	
				количество	%	количество	%	изохроматидные деления с неслиянием	микрофрагменты
Контроль	38—38	38	4917	25	$0,5 \pm 0,1$	25	$0,5 \pm 0,1$	3	2
HN3 $3 \cdot 10^{-4}$ М	38—74	39	3029	969	$32,0 \pm 0,85$	1034	$34,2 \pm 0,86$	$1,1 \pm 0,34$	$1,2 \pm 0,34$

Прод. табл. 1

Типы перестроек, % от их суммы

Хроматидные							Хромосомные		
Изохроматидные деления слиянием	Хроматидные деления	Транслокации		Трирадикалы	Дубликации деления и интерстициальные деления	Итого	Асимметричные	Симметричные	Итого
		асимметричные	симметричные						
4	16	—	—	—	—	25	—	—	—
$50,5 \pm 1,55$	$10,1 \pm 0,94$	$23,8 \pm 1,32$	$1,6 \pm 0,39$	$0,5 \pm 0,22$	$11,2 \pm 0,98$	$97,6 \pm 0,74$	$0,1 \pm 0,09$	—	$0,1 \pm 0,09$

При воздействии трифункциональным азотистым ипритом (HN3) на сухие семена *C. capillaris* была установлена высокая эффективность этого мутагена в отношении индукции структурных мутаций хромосом. Данные табл. 1 показывают, что при действии HN3 хроматидные абберации составляют $97,6 \pm 0,47\%$. Примерно половина всех перестроек представлена изохроматидными делециями. Второе место по частоте встречаемости занимают хроматидные делеции, симметричные, асимметричные транслокации и межхроматидные обмены, отмечено появление перестроек хромосомного типа $0,1 \pm 0,09\%$.

Возникновение значительного количества хроматидных перестроек, образующихся в фазе S-митотического цикла, имеет два объяснения. Мутаген вступает в реакцию с предшественниками ДНК или другими метаболитами клетки и образует в этом случае вторичные мутагены, вызывающие разрывы в фазе S. Мутаген непосредственно реагирует с хромосомами в фазе G₁-митотического цикла, в результате чего возникают потенциальные изменения, реализующиеся в истинные разрывы хромосом в момент их ауторепродукции [1].

Последнее представляется нам наиболее вероятным, ибо позволяет объяснить появление эффективных разрывов хромосом в фазе G₁-митотического цикла.

Из изложенного следует, что алкилирующие агенты способны вызывать разрывы хромосом независимо от синтеза ДНК и что первичное повреждающее действие этих агентов вызывает появление потенциальных разрывов, реализация которых в истинные мутации связана с метаболизмом клеток.

Лаборатория индуцированного мутагенеза
растений АН АрмССР

Поступило 21.III 1973 г.

Բ. Ա. ԱԶԱՏՅԱՆ

ԵՐԵՔ ՖՈՒՆԿՑԻՈՆԱԼ ԱԶՈՏԱՅԻՆ ԻՊՐԻՏԻ (HN3) ՄՈՒՏԱԳԵՆԱՅԻՆ
ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԵՎ ՑԻՏՈԳԵՆԵՏԻԿԱԿԱՆ ԱՆԱԼԻԶԸ *CREPIS CAPILLARIS* L
ԲՈՒՅՍԻ ԶՈՐ ՍԵՐՄԵՐԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրություններից պարզվել է, որ երեք ֆունկցիոնալ ազոտային իպրիտը (HN3) ազդում է *C. capillaris* շոր սերմերի վրա, առաջացնելով բրոմոսոմի ստրուկտուրային մոտացիաների բարձր էֆեկտիվություն: HN3 Ազդեցության դեպքում բրոմատիդային խոտորումները կազմում են $97,6 \pm 0,47\%$, իսկ բրոմոսոմայինը՝ $0,1 \pm 0,09\%$: Ստացված տվյալներից հետևում է, որ HN3-ը կարող է բրոմոսոմային խոտորումներ առաջացնել սնկախ Դևիսի սինթեզից:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Дубинин Н. П., Акифьев А. П. Успехи современной генетики, 1970.
2. Дубинина Л. Г., Дубинин Н. П. ДАН СССР, 174, 1223, 1967.
3. Дубинина Л. Г., Дубинин Н. П. Генетика, 2, 3, 1968.
4. Немцева Л. С. Радиобиология, 5, 1, 126, 1965.
5. Auerbach C. and Robson S. M. Nature, 154, 81, 1944.
6. Auerbach C. and Robson S. M. Nature, 157, 302, 1946.
7. Ford C. E. Proc. VIII int. conf. genet. Hereditas suppl., P. 570 (Abstract), 1949.
8. Kihlman B. A. Actions of chemicals on dividing cells, P. 189, 1966.
9. Kihlman B. A. and Hartley B. Mutat. Res. 4, 6, 771, 1967.
10. Sire M. W., Nilan P. A. Genetics, 44, 124, 1959.