

Л. А. ГУКАСЯН, Д. И. АКОПЯН

## МУТАГЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ НИТРОЗОМЕТИЛМОЧЕВИНЫ НА CAPSICUM ANNUUM L.

Изучалось действие нитрозометилмочевины (НММ) на изменчивость перца (*Capsicum annuum* L.) у сорта Юбилейный 307 при однократной и повторной обработке семян. Выявлено действие мутагена на всхожесть, рост, развитие, выживаемость, а также на частоту изменений в  $M_1$  и  $M_2$ . Наибольшая частота изменений у растений перца выявлена под воздействием 0,01% концентрации НММ, которую можно считать оптимальной для исследуемого нами объекта. НММ оказала высокое модифицирующее и мутагенное действие на растения перца.

В настоящее время изучение воздействия различных химических мутагенов на наследственность растений принимает широкий размах.

Среди многочисленных химических мутагенов особое место по силе воздействия на наследственный материал занимают нитрозосоединения [4]. Большой интерес представляет нитрозометилмочевина, которая дает высокий выход мутантных форм с полезными изменениями [6]. Согласно данным некоторых исследователей, у ряда сельскохозяйственных растений НММ вызывает появление множества различных доминантных мутаций с широким морфологическим спектром [3, 8, 12, 13]. Нитрозомутагены, под влиянием которых выход полезных мутаций значительно выше, чем при действии других мутагенов, способны вызывать мутации посредством окисления некоторых азотистых оснований нуклеотидов и соответствующих изменений в аминокислотах [9].

Фенотипическое выражение измененного признака у индуцированных мутантов может проявляться у различных сельскохозяйственных культур по-разному [5].

Настоящее сообщение посвящено изучению действия различных концентраций НММ на растения перца сорта Юбилейный 307.

*Материал и методика.* Воздушно-сухие семена обрабатывались 0,006, 0,01, 0,05% растворами НММ при 24 час. экспозиции мутагена. Контрольные семена соответственно обрабатывались водопроводной водой.

После обработки и промывки часть семян подвергалась цитогенетическому анализу (в лабораторных условиях). Другая часть обработанных семян высевалась в ранние парники, с последующей высадкой рассады в поле для изучения действия НММ на рост, развитие, выживаемость, а также на частоту изменений в  $M_1$  и  $M_2$ . Кроме однократной обработки, изучению подвергались также растения, полученные от повторно обработанных семян. Всхожесть определялась в парниках. Посев в  $M_2$  проводился семенами. В период роста и развития растений проводились фенологические наблюдения, изучалась динамика роста растений перца. После уборки определялся средний вес плодов одного растения. Подсчет растений с измененными признаками, в том числе и

хлорофильными нарушениями, проводился на протяжении всего вегетационного периода. Частота изменений определялась в расчете на число проанализированных растений. Данные статистически достоверны.

**Результаты и обсуждение.** Критерием чувствительности растений в  $M_1$  к действию мутагенов наряду с другими показателями может служить и всхожесть [7]. Результаты наших экспериментов подтверждают эту точку зрения. При изучении максимальной всхожести семян перца сорта Юбилейный 307 было установлено, что она понижалась с повышением дозы мутагена, особенно при однократной обработке семян (рис. 1). Резкое понижение процента всхожести отмечено при высокой дозе НММ— $63 \pm 4,83$  при однократной и  $46 \pm 4,98\%$  при повторной обработке семян. Низкие концентрации мутагена, наоборот, повышали всхожесть. Аналогичные данные получены на горохе [13].

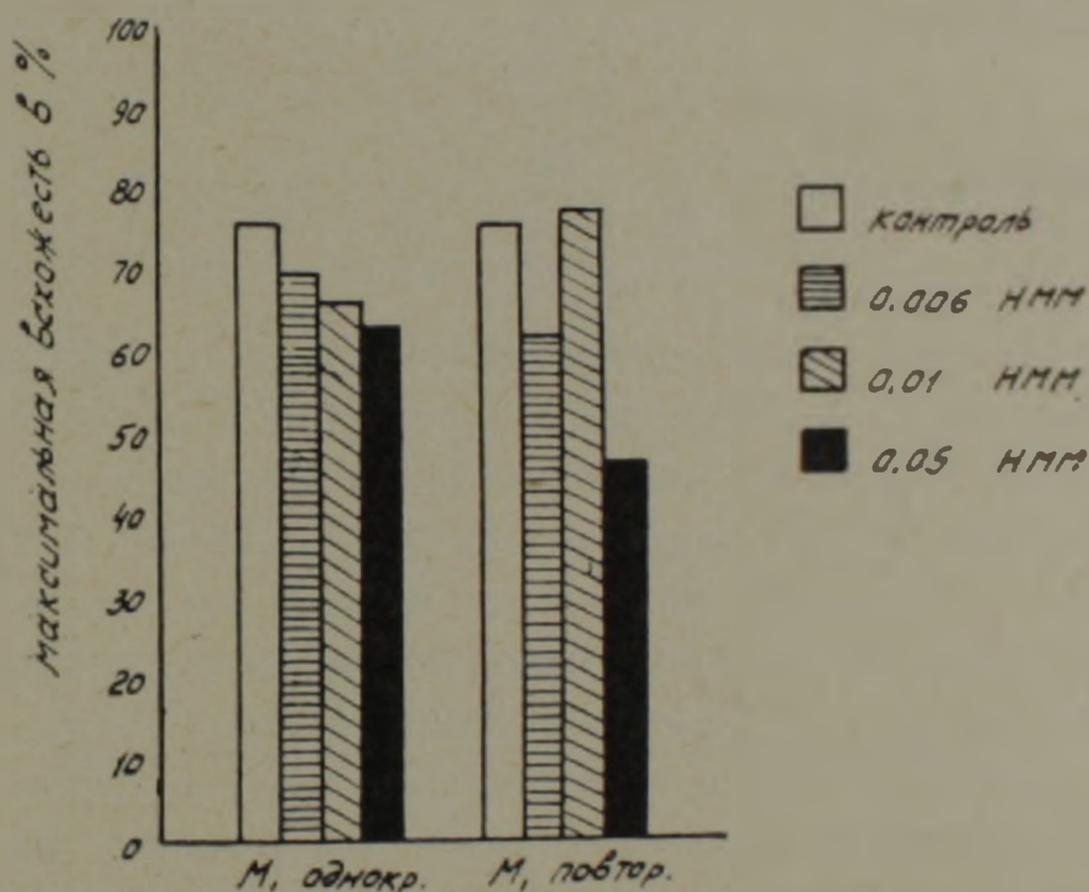


Рис. 1. Максимальная всхожесть семян перца под действием НММ при однократной и повторной обработке.

При повторной обработке мутагеном в концентрации 0,01% семена прорастали дружнее контрольных ( $77,5 \pm 4,17$ ), превышая последние на 1,5%. Результаты учета полевой всхожести подтвердились лабораторными исследованиями [2].

В течение вегетационного периода проводились также фенологические наблюдения. Были отмечены сроки появления всходов, бутонизации, цветения, созревания, на основании чего определялась продолжительность вегетационного периода в днях с учетом биологической спелости плодов (табл. 1). В сроках наступления фенофаз резких отклонений не обнаружено. При повторной обработке семян мутагеном не было установлено резких различий в продолжительности вегетационного периода и сроках цветения по сравнению с однократной обработкой. По литературным данным, повторное облучение семян арабидопсиса также не растянуло сроки цветения [17].

Для исследования динамики роста во всех вариантах в течение всего вегетационного периода проводились промеры высоты растений в четыре срока. При однократной обработке в период цветения наблюдалось увеличение роста под воздействием 0,05% раствора НММ.

Таблица 1

Влияние различных концентраций НММ на рост, развитие и выживаемость растений перца

Вариант	Обработка	Количество исследованных растений	Дни от всходов до цветения	Дни от всходов до плодоношения	Вегетационный период	Высота при уборке, см	Разница с контролем, см	Выживаемость, %
Контроль		81	72	79	134	41,9±1,35		90,4±4,07
0,006	однократная	74	72	79	134	40,9±0,52	-1	89,3±4,77
0,01		95	73	80	135	42,1±0,78	+0,2	86,8±3,99
0,05		80	74	82	138	42,4±0,95	+0,5	82,2±4,44
0,006	повторная	57	72	79	134	38,5±0,71	-3,4	93,4±3,28
0,01		62	75	82	136	36,7±0,47	-5,2	83,8±4,67
0,05		50	74	82	137	37,1±0,10	-4,8	86,8±5,49

Такое же явление частично отмечалось также и под воздействием 0,01% раствора НММ в период плодоношения. Подобная активация роста показана на различных культурах [4, 9]. Причиной такой стимуляции И. А. Раполорт считает главным образом явление гетерозиса, протекающего по следующему механизму: происходит торможение ряда важных ферментативных реакций, промежуточные продукты, накапливаясь, обуславливают толчок ростовых процессов, значительно превосходящих норму, и приводят к гетерозису. Наряду с этим повышается эффективность деятельности метаболитических ферментов или коферментов, вступивших в лабильный комплекс с мутагенами [4, 9, 10].

Известно, что при действии супермутагенов стимуляция роста наблюдается не только в умеренных, но даже в высоких концентрациях [11]. Подобное явление наблюдалось в наших экспериментах (табл. 1). Это объясняется внутренней стройностью хемомутагенов, обладающих сродством не только с генными, но и ферментативными катализаторами [10].

Повторная обработка заметно подавляла прирост растений во всех вариантах. Максимальная высота растений от повторно обработанных семян варьирует в пределах 36,7±0,47—38,5±0,71 см, тогда как в контроле она равна 41,9±1,35 см.

Полевая выживаемость растений была определена в конце вегетации. Результаты исследований показали, что почти во всех вариантах однократной и повторной обработки по выживаемости подопытные растения уступают контрольным (табл. 1). Лучшая выживаемость, по сравнению с контрольными растениями (93,4±3,28), замечалась в варианте при повторной обработке 0,006% концентрацией НММ. При однократ-

ной обработке наблюдалась зависимость выживаемости от дозы мутагена, при повторной—она несколько нарушалась.

Анализ измененных растений в  $M_1$  и  $M_2$  показал, что НММ обладает значительным модифицирующим действием. У хемоморфозов в  $M_1$  отмечены: деформация листовой пластинки, сросшиеся черешки листьев, утолщенные и скрученные плодоножки, фасциация стебля и другие изменения. При исследовании хемоморфозов выяснилось, что некоторые изменения проявляются при определенных концентрациях мутагена. Например, скрученные и утолщенные плодоножки выявились при однократной обработке семян 0,006% концентрацией НММ (рис. 2, 3). Фасциация стебля наблюдалась только в вариантах повторной обработки.

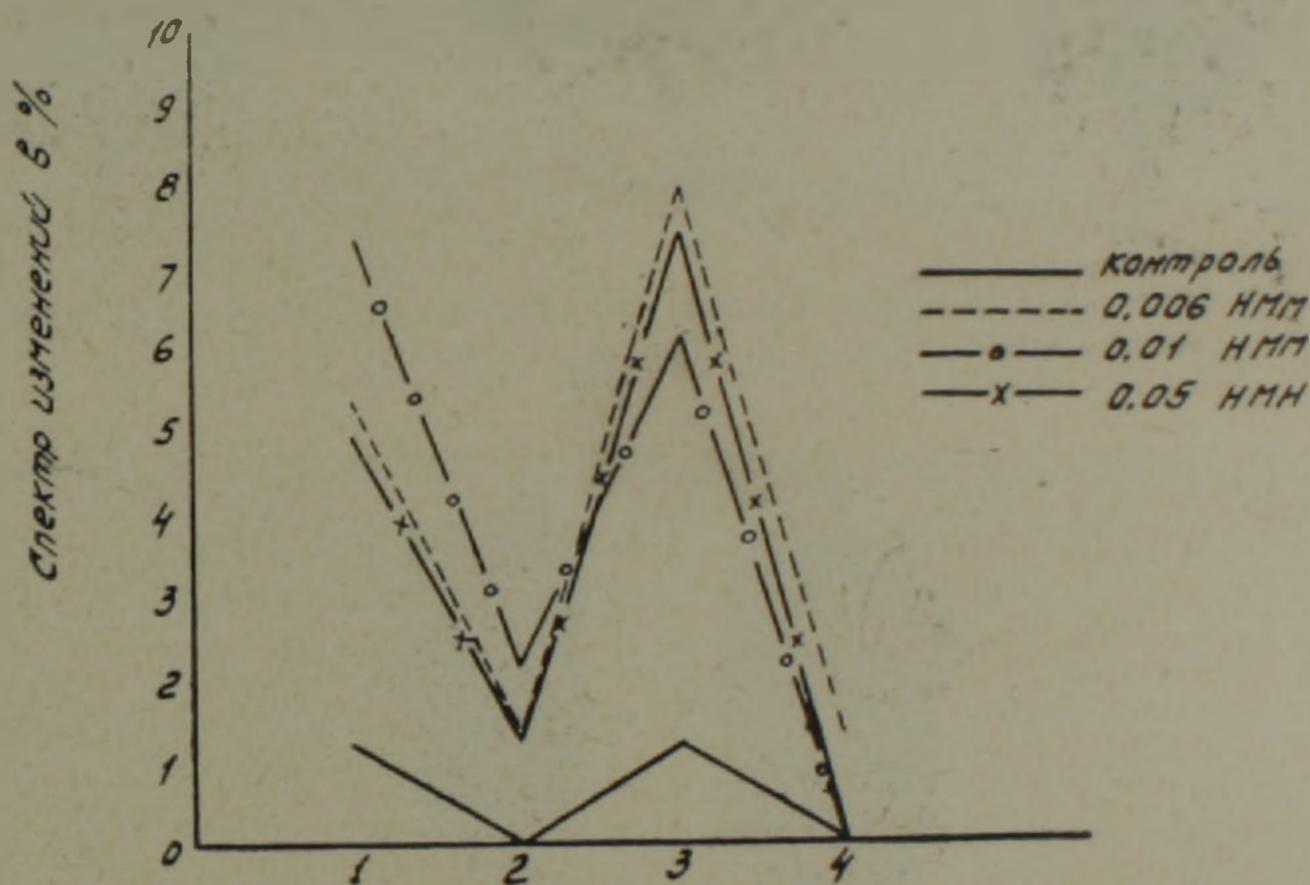


Рис. 2. Спектр полученных изменений под действием НММ в  $M_1$  при однократной обработке. 1. Изменения, связанные с окраской и размером плодов и листьев. 2. Хлорофильные изменения. 3. Изменения листовой пластинки. 4. Скрученные и утолщенные плодоножки.

Показателем нарушения нормального роста растений считаются отклонения типа фасциации или «скрученность» побега, что, по-видимому, связано с отдаленным торможением роста [16].

Полученные нами в год обработки хемомутанты были доминантными, они в  $M_2$  дали расщепление. В нашем эксперименте мутационные изменения в основном затронули окраску, форму, размер листьев и плодов (рис. 4). Четкой зависимости между частотой изменений  $M_1$  и концентрацией мутагена не выявлено. Наибольший процент мутационных изменений с разнообразным спектром наблюдался в варианте с 0,01% концентрацией НММ.

Из литературы известно, что 0,01% концентрация НММ оптимальна и для других культур, различающихся по чувствительности к мутагенам, что указывает на малую связь между чувствительностью и мутабельностью [7]. Отмечалась корреляция между частотой изменений  $M_2$

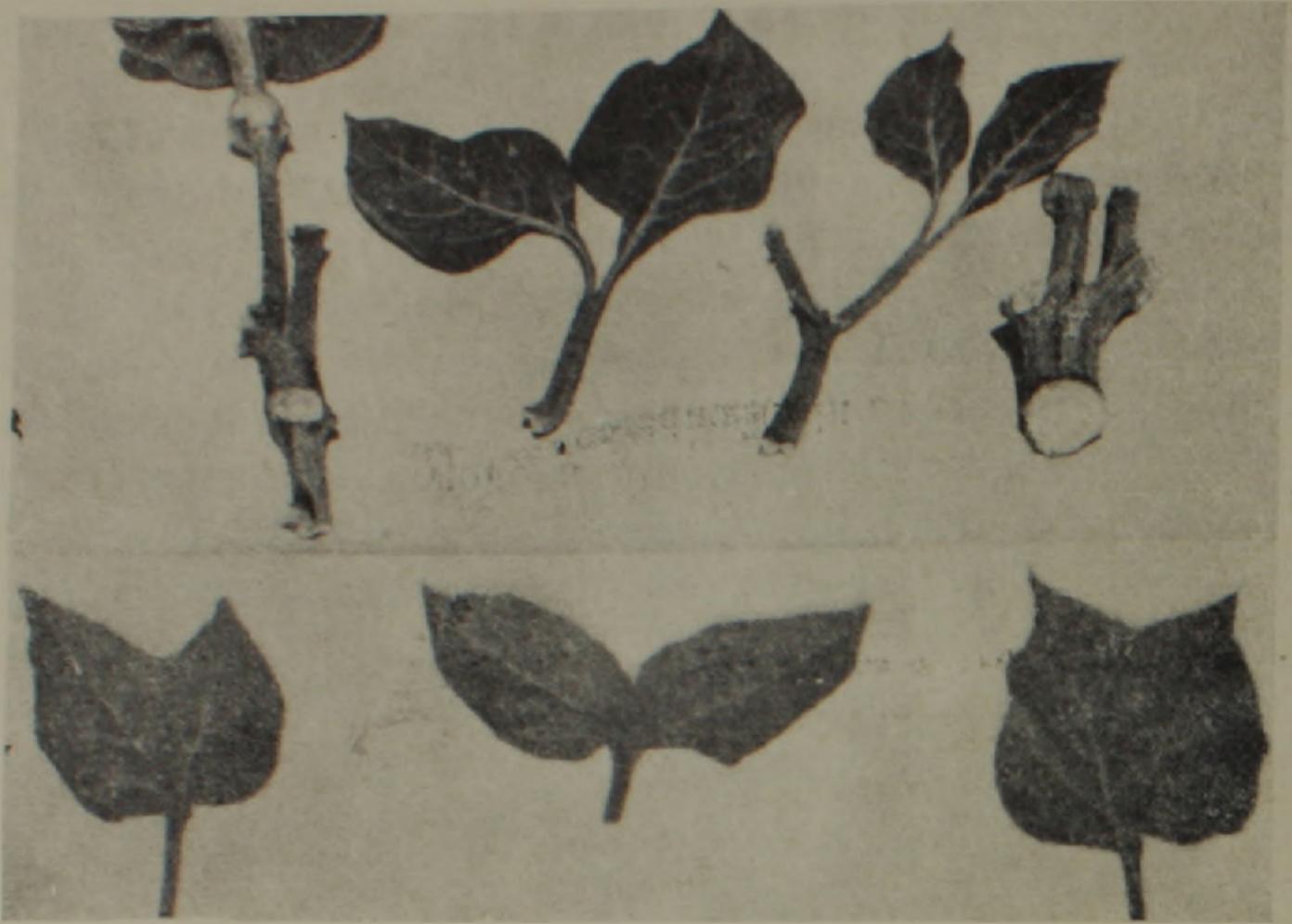


Рис. 3. Изменения листовой пластинки и фасциация стебля у растений перца под действием НММ.

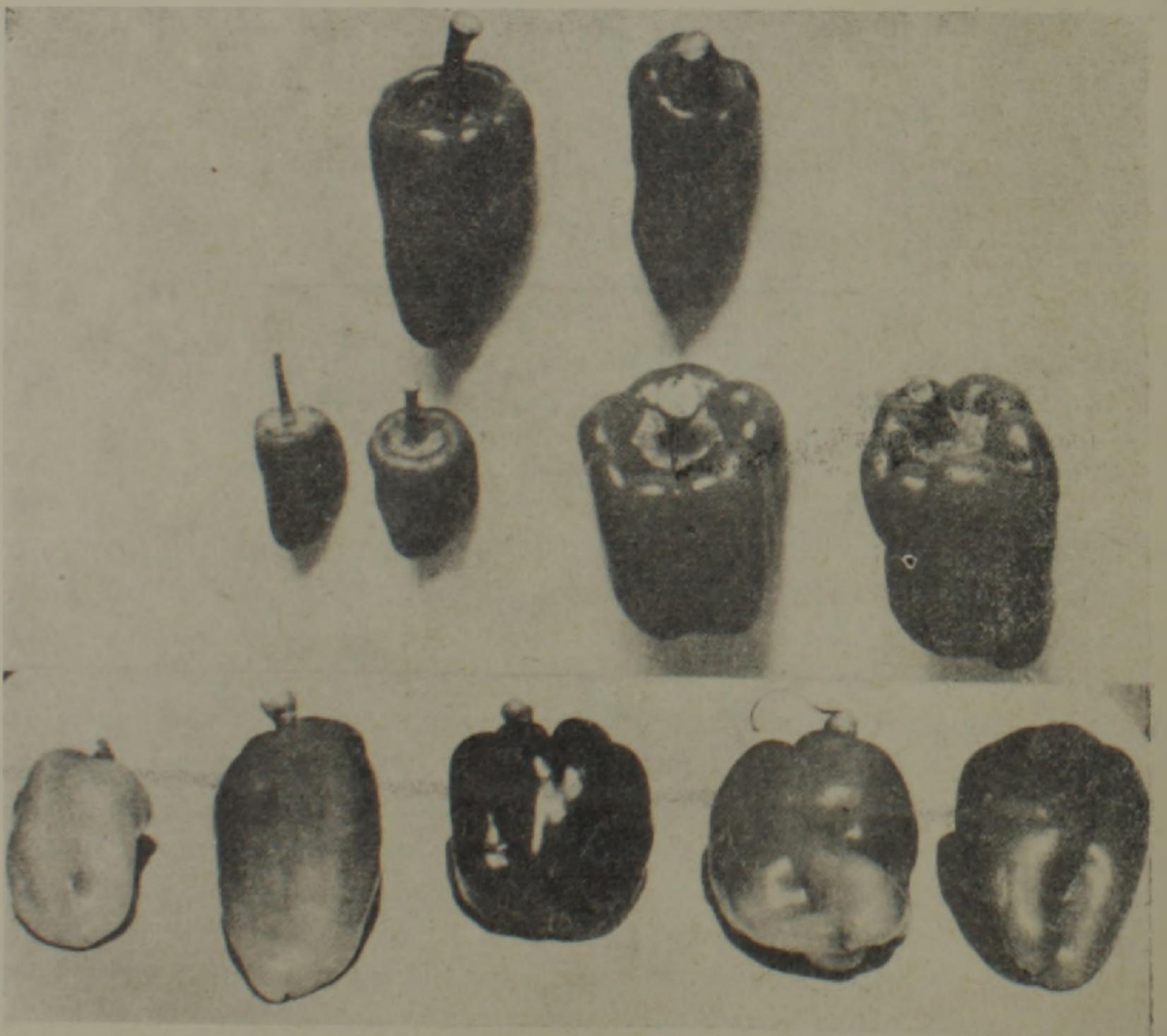


Рис. 4. Изменения размера и формы плодов растений перца под действием НММ.

при однократной и  $M_1$  при повторной обработке семян. Последнее одновременно является вторым поколением однократной обработки (табл. 2).

Таблица 2  
Влияние различных доз НММ на изменчивость растений перца в  $M_2$  при однократной и в  $M_1$  при повторной обработке

Вариант	Количество исследованных семей	Количество исследованных растений	Количество измененных растений (морфологических и хлорофильных)		Достоверность разницы опытно-контроль, $t_d$
			число	% $\pm m$	
$M_2$ однократкой обработки					
Контроль	13	137	3	$2,19 \pm 1,24$	—
0,006	16	161	45	$25,46 \pm 3,43$	6,39
0,01	16	180	54	$30,00 \pm 3,40$	7,62
0,05	8	70	15	$21,42 \pm 4,82$	3,20
$M_1$ повторной обработки					
Контроль	—	82	1	$1,2 \pm 1,2$	—
0,006	—	57	14	$24,6 \pm 5,71$	4,01
0,01	—	62	15	$26,1 \pm 5,58$	4,36
0,05	—	50	11	$22,0 \pm 5,86$	3,47

Встречающиеся химерные растения в наших экспериментах давали расщепление, не всегда близкое к 3:1, встречалось и 1:1. По всей вероятности, это связано с малым количеством растений в пределах одной семьи.

В  $M_1$  при повторной обработке 0,05 и 0,01% концентрациями НММ обнаружены растения с крупными плодами. В указанных вариантах у значительного числа растений зарегистрирован большой вес (средний) плодов с одного растения (соответственно  $433 \pm 10,79$  и  $446 \pm 6,98$  г.). Так как в первом варианте плоды были крупнее, чем во втором, то можно предположить, что в первом случае большой вес плодов обусловлен крупноплодием, а во втором—имело место также увеличение количества плодов на одном растении. Явление крупноплодности наблюдалось и во втором поколении вышеуказанного варианта (0,05%) при однократной обработке, однако при повторной она была выражена сильнее. Признак крупноплодности либо результат явления гетерозиса, либо обусловлен аддитивным действием нескольких мутировавших аллелей, как предполагает Штуббе [15]. Является ли в данном случае этот признак рецессивной мутацией, покажут исследования последующих поколений. В ряде случаев изменение окраски плодов сочеталось с изменением цвета листьев. Плоды имели желтоватую окраску при технической спелости и оранжевую—при биологической. Листья данных растений были светло-зеленые. Одновременное мутирование двух или нескольких признаков можно объяснить плейотропным действием мутировавшего гена или одновременным мутированием нескольких генов.

Под действием НММ полностью стерильных растений не встречалось, однако при повторной обработке в большой дозе отмечены случаи

частичной стерильности, выразившейся в малом количестве семян в плоде.

В подопытных вариантах в  $M_1$  при однократной и повторной обработке нами обнаружены также хлорофильные изменения типа *striata* и *maculata*. Хлорофильные дефекты замечались также во втором поколении. О мутационном характере полученных хлорофильных изменений мы сообщим отдельно.

Ереванский государственный университет,  
проблемная лаборатория цитологии

Поступило 16.IV 1974 г.

Լ. Ա. ԳՈՒԿԱՍՅԱՆ, Զ. Ի. ԱԿՈՅԱՆ

ՆԻՏՐՈԶՈՄԵԹԻԼՄԻՉԱՆՅՈՒԹԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ  
CAPSICUM ANNUUM L.-ի վրա

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Հաղորդվում է նիտրոզոմեթիլմիզանյութի (ՆՄՄ) ազդեցությունը տաքդեղի Յուբիլեյնի 307 սորտի վրա, սերմերի միանվագ և կրկնակի մշակման դեպքում: Մուտագենի ազդեցությունը ուսումնասիրվել է տաքդեղի բույսերի ծլունակության, աճի, զարգացման, ապրելունակության, ինչպես նաև առաջին և երկրորդ սերունդների փոփոխականության հաճախականության վրա: Պարզվել է, որ մուտագենի բարձր խտությունը (0,05%) ունեցել է ճնշող ազդեցություն տաքդեղի բույսերի ծլունակության վրա, ինչպես միանվագ, այնպես էլ կրկնակի ազդման դեպքում: Սերմերի միանվագ մշակման ժամանակ միջին և բարձր խտություններում նկատվել է աճի նկատելի ախտիվացում: Տաքդեղի բույսերի մոտ փոփոխականության ամենամեծ հաճախականությունը դիտվել է ՆՄՄ-ի 0,01% խտության դեպքում:

ՆՄՄ-ը տաքդեղի բույսերի վրա ունեցել է բարձր մոդիֆիկացիոն և մուտացիոն ազդեցություն:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Валева С. А. Принципы и методы применения радиации в селекции растений. М., 1967.
2. Гукасян Л. А., Акопян Д. И. Биологический журнал Армении, 27, 2, 1974.
3. Гуманов Л. Л., Бедняк А. Е., Норенко Н. П. В сб. Супермутagens, М., 1966.
4. Домрачева А. Т. Сб. Химический мутагенез и селекция, М., 1971.
5. Енкен В. Б. Сб. Теория химического мутагенеза, М., 1971.
6. Зоз Н. Н., Макарова С. И. и др. ДАН СССР, 163, 1, 1965.
7. Зоз Н. Н., Рапопорт И. А. Сб. Химический мутагенез и селекция, М., 1971.
8. Макарова С. И. Сб. Супермутagens, М., 1966.
9. Рапопорт И. А. Сб. Супермутagens, М., 1966.
10. Рапопорт И. А. Сб. Химический мутагенез и селекция, М., 1971.
11. Рапопорт И. А. Бюллетень МОИП отд. биол., 66, вып. 2, 1961.
12. Шарма Б. Генетика, 1, 1966.
13. Шарма Б. Экспериментальный мутагенез животных, растений и микроорганизмов, II ч. М., 1965.
14. Шарма Б. Доклады ТСХА, вып. 102, 1965.
15. Штуббе Г. Генетика, II, 1966.
16. Эглите М. А. Сб. Химический мутагенез и селекция, М., 1971.
17. Lawrence C. V. Rept. IAO JAEA Techn. Meeting Rome, 491, 1965.