

В. А. АВАКЯН, В. А. АМИРБЕКЯН

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ РЕНТГЕНОВСКИХ ЛУЧЕЙ И ЭТИЛЕНИМИНА НА МЯГКУЮ ПШЕНИЦУ

Установлено, что сорта мягкой пшеницы проявляют специфическую реакцию на воздействие различными мутагенами, проявляющуюся в частоте и спектре aberrаций хромосом и в интенсивности процессов пострadiaционного восстановления.

В литературе накапливается все больше данных о специфичности различных мутагенов в отношении индуцирования того или иного типа мутаций (генные и хромосомные).

Оценка специфичности различных мутагенных агентов проводится и на хромосомном уровне. При воздействии физическими и химическими агентами наблюдается значительное различие в спектре мутаций и каждому мутагену свойствен свой характерный эффект. В ряде работ, например, отмечается, что группа химических мутагенов, в частности этиленимина, обладает задержанным эффектом и при воздействии им возникают генные мутации, в то время как радиация вызывает в большинстве хромосомные перестройки [6, 12, 17, 18].

Цель настоящей работы — сравнительное изучение цитогенетического действия рентгенооблучения и этиленимина, а также их комбинированного действия на сорта мягкой пшеницы.

Материал и методика. Объектом исследований служили четыре сорта мягкой пшеницы (tr. aestivum): Арташати 42 (var. turcicum), Эритролеукон 12 (var. erythroleucon) Спитакаат (var. graecum) и Галгалос (var. delfi). Семена облучались рентгеновскими лучами на установке РУМ-11 при напряжении на трубке 185 кВ, силе тока 15 мА, мощности дозы 415 р/мин. Доза облучения 10 кр. Облученные и контрольные семена сорта Арташати 42 обрабатывались также водным раствором этиленимина в концентрациях 0,02 и 0,05% с продолжительностью обработки 18 часов. Семена проращивались в чашках Петри в термостате при 25°C. Фиксация корешков была начата через 48 час. после намачивания семян в вариантах с рентгенооблучением низкой концентрацией этиленимина (0,02%) и при комбинированном воздействии 10 кр + ЭИ 0,02%. Последующие фиксации в этих вариантах проводились через 52, 56, 60 и 64 часа в смеси абсолютного спирта и ледяной уксусной кислоты (3:1). Обработка семян этиленимином в концентрации 0,05% и комбинированное воздействие 10 кр + ЭИ 0,05% задержали наступление первых митозов на 24 часа. Первая фиксация здесь проводилась через 72 час. и далее через 78, 84 и 90 час. Корешки окрашивались ацетокармином. Цитогенетический анализ структурных изменений хромосом проводился анафазным методом. В каждом отдельном случае просмотрено по 500 анафаз.

В процессе цитогенетического анализа по каждому сорту и сроку фиксации учитывался общий процент клеток с aberrациями хромосом, а также основные типы нарушений: хроматидные и хромосомные дицентрики и фрагменты.

Результаты и обсуждение. По количеству клеток с абберрациями хромосом в первый срок фиксации изучаемые сорта достоверно отличались друг от друга. У сортов Эритролеукон 12 и Галгалос (рис. 1) наблюдается постепенное увеличение (повышение) числа пораженных клеток от первого до пятого срока фиксации. У сорта Арташати 42 повышение числа абберраций хромосом наблюдается только после первого срока фиксации, а у сорта Спитакаат незначительное повышение их отмечено до четвертого срока, после чего кривая время-эффект падает. Снижение числа клеток с абберрациями хромосом к последнему сроку фиксации наблюдается только у сорта Спитакаат. Интересно отметить, что сорт, имеющий в первый срок фиксации наибольшее число клеток с абберрациями хромосом, к последнему сроку имеет наименьшее их число и наоборот.

Выход абберраций хромосом при рентгенооблучении у сорта Арташати 42 в первый срок фиксации довольно высокий. Затем ко второму и третьему срокам снижается и достоверно повышается к четвертому и пятому. Такая же картина наблюдается у сорта Спитакаат, с той лишь разницей, что к пятому сроку выход абберраций снижается. У сорта Галгалос выход абберраций повышается к третьему сроку, к четвертому сроку снижается и к последнему достигает максимума.

Таким образом, данные варианта с рентгенооблучением показывают, что максимальная мутабельность клеток падает на вторую половину митоза. Это явление можно объяснить вторичными процессами, происходящими в клетках после облучения. Согласно Свэнсону [12], при действии низкой ЛПЭ в хромосомах возникает большое количество потенциальных повреждений, которые могут реализоваться в истинные разрывы или же восстановиться. Очевидно, в нашем опыте в поздние сроки фиксации эти потенциальные повреждения реализовались в истинные разрывы. В варианте с этиленимином у сорта Арташати 42 наблюдается резкий спад абберраций ко второму сроку (рис. 2), а затем попеременное увеличение и уменьшение. Максимум число абберраций достигает в четвертый срок фиксации.

При комбинированном воздействии мутагенами достоверное увеличение абберраций хромосом наблюдается в первый, второй и четвертый сроки. Полученные нами результаты в варианте с этиленимином совпадают с данными ряда авторов, которые считают, что при воздействии алкилирующими агентами максимум выхода абберраций хромосом приходится на средние сроки фиксации [5, 8, 16, 19]. Однако эти работы велись не с сухими семенами, а с проростками. Имеются и другие данные, подтверждающие, что максимум выхода абберраций приходится на первые часы фиксации [3, 13, 20].

Известно, что комбинированное воздействие двумя мутагенами различной природы приводит к модификации характера мутационной изменчивости, присущей каждому мутагену в отдельности. Дополнительная обработка мутагенами может завершиться аддитивным или сверхадди-

тивным эффектами, т. е. суммарным действием двух мутагенов, а также когда их цитогенетический эффект меньше суммы отдельных эффектов.

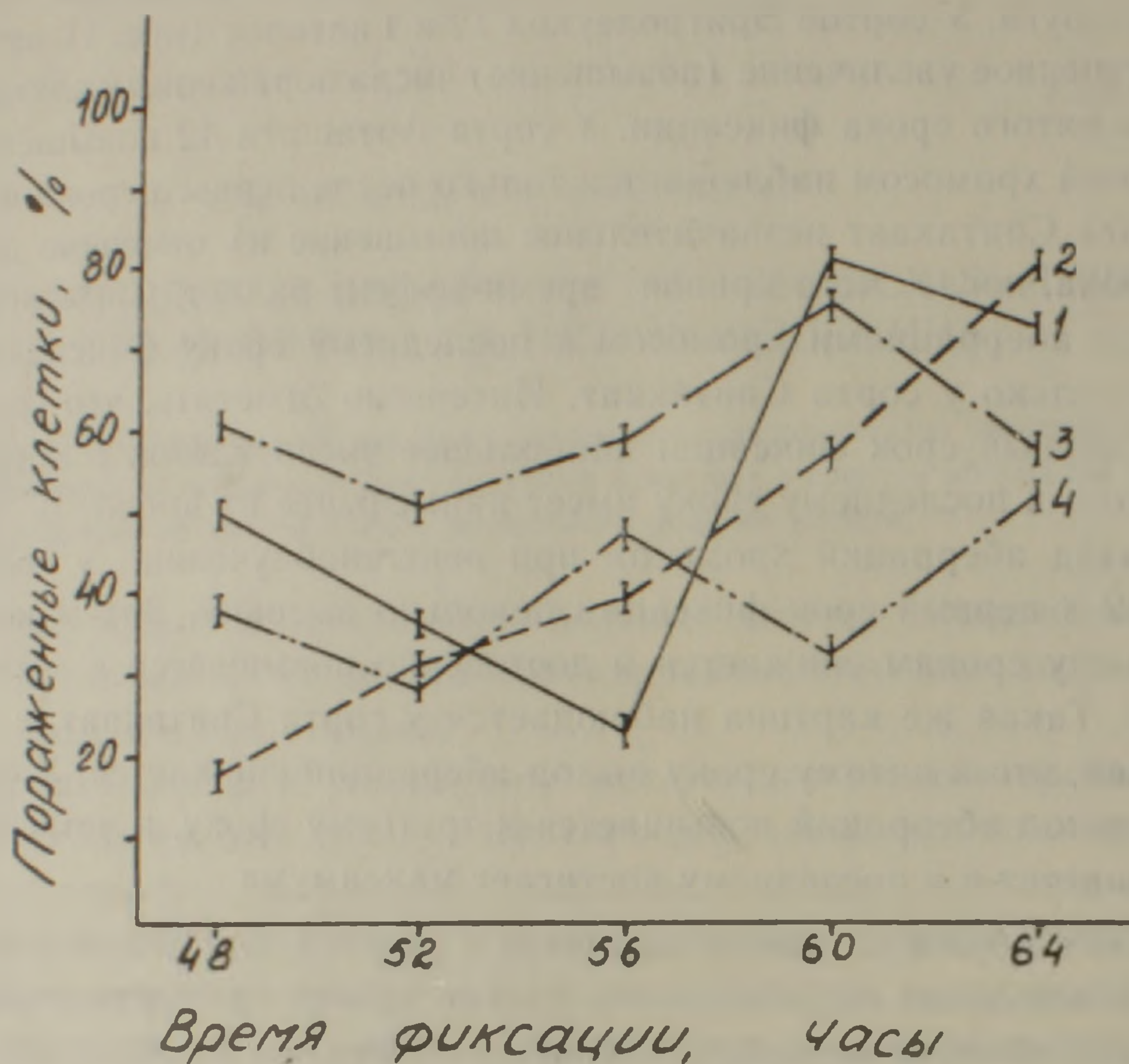


Рис. 1. Кривые время-эффект при облучении рентгеновскими лучами сортов мягкой пшеницы в дозе 10 кр. По оси абсцисс—время фиксации от начала замачивания (в часах); по оси ординат—процент пораженных клеток: 1. Арташати 42, 2. Эритролеукон 12, 3. Спитакаат, 4. Галгалос.

Литературные данные по цитологическому изучению комбинированного воздействия противоречивы. В одних случаях совместное воздействие приводит к усилению частоты aberrаций по сравнению с раздельными воздействиями [1, 10, 22, 23], в других оно оказывается слабее одного из примененных мутагенов [2, 4, 15, 24].

Сравнение частот aberrаций, наблюдаемых в нашем опыте при комбинированном воздействии, с частотами, полученными при суммировании эффектов обоих мутагенов, показывает, что эффект совместного действия сверхаддитивен в первые часы фиксации, затем к 56-му часу наблюдается резкий спад, однако сверхаддитивный характер кривой сохраняется. Далее, в последние два часа фиксации эффект комбинированного воздействия слабее рентгенооблучения, но намного сильнее этиленимина в эти же часы фиксации.

Специфичность действия мутагенов выражается еще в довольно существенной разнице в числе клеток, имеющих хромосомные и хроматидные дицентрики и фрагменты (табл.).

При рентгенооблучении у всех изучаемых сортов пшеницы наблюдались в основном хроматидные дицентрики и фрагменты. Такой спектр

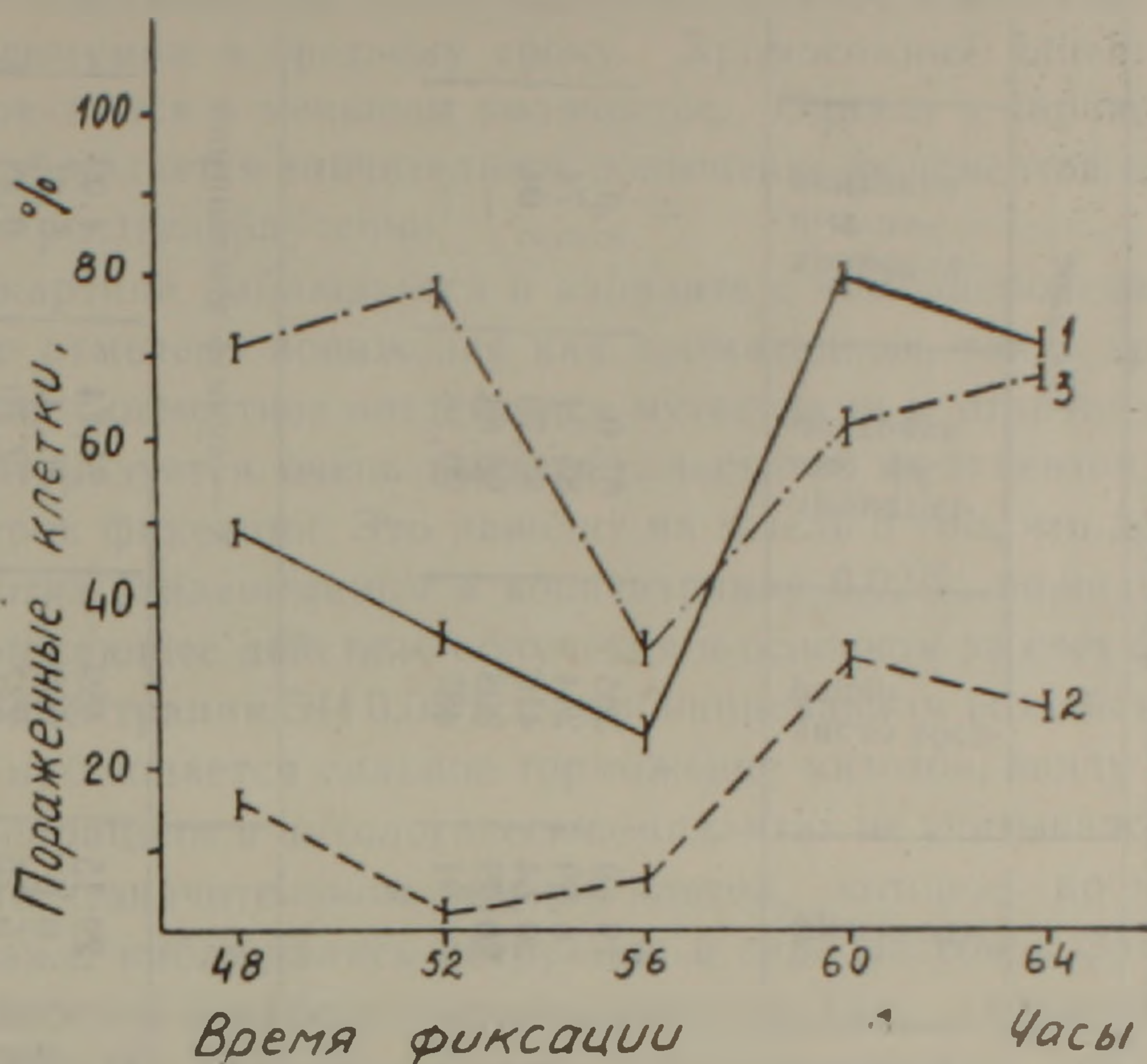


Рис. 2. Кривые время-эффект при рентгенооблучении, воздействии этиленимином и совместном воздействии двумя мутагенами у сорта Арташати 42: 1. Облучение в дозе 10 кр. 2. Обработка 0.02% этиленимином. 3. Совместное воздействие 10 кр.+0.02% ЭИ. По оси абсцисс—время фиксации; по оси ординат—процент пораженных клеток.

мутаций характерен для химических мутагенов [7, 21]. У сорта Арташати 42 число хроматидных дицентриков повышается в первые два срока фиксации и к третьему и пятому срокам достигает максимума. Частота хромосомных дицентриков несколько повышена в первый и пятый сроки фиксации, а в остальные часы-снижена. У четырех сортов наблюдались преимущественно одиночные фрагменты как свободные, так и с дицентриками. У сорта Эритролеукон 12 частота хроматидных дицентриков постепенно увеличивается. Максимум фрагментов здесь приходится на первый срок фиксации, далее идет их уменьшение. У сорта Спитакаат по срокам наблюдается волнообразное увеличение и уменьшение частот хроматидных дицентриков. Очень низкий процент выхода хромосомных дицентриков приходится на первый и третий сроки фиксации, в остальные сроки процент выхода их одинаков. Выход фрагментов повышен в первый, третий и четвертый сроки фиксации, в другие часы — их намного меньше. Волнообразность в частоте хроматидных дицентриков наблюдалась и у сорта Галгалос. Максимум у него приходится на последний срок фиксации. Частота фрагментов повышена в первые часы, в четвертом сроке она низкая.

Сравнение спектров вариантов с рентгенооблучением и этиленимином у сорта Арташати 42 показывает, что особой разницы между ними нет, и в основном они похожи. В варианте с рентгенооблучением частота хроматидных дицентриков остается повышенной во все сроки фиксации, а в

Таблица

Соотношение типов структурных перестроек хромосом у мягкой пшеницы, % от суммы

Время фиксации, часы	Эритролеуком 12				Спитакат				Галагос			
	число аберраций	хроматидные дицентрики	хромосомные дицентрики	фрагменты	число аберраций	хроматидные дицентрики	хромосомные дицентрики	фрагменты	число аберраций	хроматидные дицентрики	хромосомные дицентрики	фрагменты
48	108	36,11	8,33	53,70	444	72,75	2,3	19,69	305	67,0	3,0	29,0
52	219	86,75	5,02	—	302	82,45	9,0	6,99	244	85,24	5,74	9,02
56	332	90,36	5,42	42,10	436	77,06	2,30	20,64	416	82,70	5,04	12,26
60	530	92,42	6,04	1,50	621	70,0	9,02	20,29	298	96,64	—	3,36
64	584	91,80	6,16	2,06	522	90,0	8,05	1,91	487	90,76	—	7,40
Х — лучи												
А р т а ш а т и 42												
Этиленмин												
Х — лучи + этиленмин												
48	368	80,93	10,33	7,07	316	36,4	—	29,15	489	24,74	4,92	65,63
52	248	86,69	5,24	8,00	17	70,0	23,33	6,0	602	35,20	5,81	54,31
56	154	91,56	—	5,84	38	92,1	2,63	5,26	227	72,70	0,88	25,99
60	593	72,51	3,71	23,60	217	81,11	3,68	15,22	416	76,44	4,33	18,26
64	629	89,18	7,31	3,49	208	88,0	1,92	9,61	426	71,83	9,86	17,86

варианте с этиленимином происходит постепенное повышение ее по срокам с максимумом к третьему сроку. Хромосомные дицентрики здесь также встречаются в меньшем количестве. Однако в варианте с этиленимином наблюдается значительное повышение фрагментов, что не отмечается при рентгенооблучении.

Иная картина наблюдается в варианте с комбинированным воздействием, где отмечено понижение как хроматидных, так и хромосомных дицентриков. Совместное воздействие мутагенами в отличие от раздельного характеризуется очень высокой частотой фрагментов, особенно в первый срок фиксации. Это наводит на мысль о том, что дополнительная обработка этиленимином в концентрации 0,02%, по-видимому, усиливает поражающее действие облучения в основном за счет фрагментов.

При концентрации ЭИ 0,05% и комбинированном воздействии 10 кр + 0,05% ЭИ наблюдается сильное торможение митозов, ввиду этого материал по аберрациям в цитологических анализах не учитывался. При имеющем место незначительном делении клеток, которое происходило на 24 часа позже, наблюдались аберрации в виде массовой фрагментации. Это отмечалось и в работах других авторов. Так, например, в опытах Орава и др. [11] с воздушно-сухими семенами ячменя при совместном действии гамма-лучей и этиленимина в разных концентрациях наблюдалось сильное поражение митозов, особенно при концентрации выше 0,04%.

Таким образом, обобщение наших цитологических данных показало, что выбранные нами сорта мягкой пшеницы на воздействие различными мутагенами проявляют свою специфическую реакцию, выражающуюся в частоте и спектре аберраций хромосом.

Степень устойчивости живых организмов определяется процессом, обусловленным уровнем первичной повреждаемости клеток и интенсивностью процессов пострадиационного восстановления. Специфичность восстановления отдельных типов аберраций хромосом выражается в различной степени снижения числа хроматидных, хромосомных дицентриков и фрагментов. Соответственно общему числу аберраций хромосом происходит увеличение хроматидных дицентриков и уменьшение числа фрагментов. Уменьшение числа хромосомных дицентриков наблюдается только в варианте с рентгенооблучением, за исключением сорта Спитакаат. Значительный интерес представляет также анализ кривых время-эффект для числа фрагментов, так как степень уменьшения их наиболее четко отражает реактивную способность объекта [9]. Снижение числа фрагментов отмечено у всех сортов как при действии рентгеновских лучей и этиленимина, так и при их совместном действии. Наибольшее снижение числа фрагментов наблюдается у сорта Эритролеукон 12, наименьшее — у сорта Спитакаат.

Таким образом, цитогенетические исследования выявили различие между сортами по интенсивности процессов пострадиационного восстановления отдельных типов нарушений хромосом.

Лаборатория индуцированного мутагенеза
АН АрмССР

Поступило 12.VIII 1974 г.

Վ. Ա. ԱՎԱԴՅԱՆ, Վ. Ա. ԱՄՐԲԵԿՅԱՆ

ՌԵՆՏԻՆՅԱՆ ՃԱՌԱԳԱՅԹՆԵՐԻ ԵՎ ԷԹԻԼԵՆԻՄԻՆԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅԱՆ
ՑԻՏՈԳԵՆԵՏԻԿԱԿԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ ՓԱՓՈԻԿ ՑՈՐԵՆԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրվել է ռենտգենյան ճառագայթների ազդեցությունը փափուկ ցորենի Արտաշատի 42, էրիտրուլեուկոն 12, Սպիտակահատ և Գալգալոս սորտերի բրոմոսոմների խոտորումների առաջացման հաճախականության վրա, ինչպես նաև ռենտգենյան ճառագայթների և էթիլենիմինի համատեղ ազդեցությունը Արտաշատի 42 սորտի վրա:

Պարզվել է, որ ճառագայթահարումը խաթարումների ամենամեծ հաճախականություն առաջացրել է Սպիտակահատ սորտի մոտ: Արտաշատի 42-ի տարբերակներում խաթարումների հաճախականության մեծ տոկոս է առաջացրել երկու մուտագենների համատեղ ազդեցությունը, որը, սակայն, փոքր է էթիլենիմինի և ճառագայթահարման առանձին ազդեցությունների էֆեկտների գումարից: Խոտորումների սպեկտրով փորձարկվող սորտերը չեն տարբերվել միմյանցից: Հիմնականում նկատվել են բրոմատիդային դիցենտրիկներ և միայնակ ֆրագմենտներ, իսկ բրոմոսոմային դիցենտրիկները կազմել են ցածր տոկոս: Զգալի տարբերություն չի նկատվել նաև Արտաշատի 42 սորտի տարբերակներում՝ ճառագայթահարում, էթիլենիմին և համատեղ ազդեցություն, սպեկտրների միջև: Զգալի տարբերություն դոյություն ունի փորձի տարբերակներում բրոմոսոմների խաթարումների տարբեր տիպերի վերականգնման ինտենսիվության ուղղությամբ: Խոտորումների քանակի պատկասեցում մեր փորձերում դիտվել է միայն համատեղ ազդեցության ժամանակ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Аветисов В. А., Валева С. А. Генетика, 2, 7, 30, 1971.
2. Азатян Р. А. Канд. дисс. Ин-т Общей генетики АН СССР, 1969.
3. Ахунд-заде А. И. Автореф. канд. дисс., Баку, 1967.
4. Валева С. А. Радиобиология, 4, 3, 451, 1964.
5. Гостимский С. А., Хвостова В. В. ДАН СССР, 1, 162, 197, 1965.
6. Дубинина Л. Г., Дубинин Н. П. Генетика, 2, 3, 1968.
7. Дубинин Н. П. Генетика, 7, 3, 1966.
8. Дубинин Н. П., Щербаков В. К., Кеслер Г. Н. Генетика, 2, 73, 1965.
9. Лучник Н. В. Радиобиология, 8, 3, 308—417, 1968.
10. Лысиков В. И., Бляндур О. В. Супермутагены. М., 159, 1966.

11. Орав Т., Шангин-Березовский Г., Орав И. Радиационный мутагенез и модифицирующие его условия. Таллин, 1972.
12. Рапопорт И. А., Зоз Н. Н. Цитология, 4, 330, 1962.
13. Сальникова Т. В., Амеликина Н. Ф. Применение химических мутагенов в сельском хозяйстве и медицине. М., 1973.
14. Свэнсон К. В сб. Вопросы радиобиологии. М., 1956.
15. Суйкова Л. А. Автореф. канд. дисс., Таллин, 1966.
16. Сидоров Б. Н., Соколов Н. Н., Андреев В. С. Генетика, 1, 112, 1965.
17. Ehrenberg L., Gustafsson G., Lundquist V. Hereditas, 47, 243, 1961.
18. Ehrenberg L. Genet. Agraria, 12, 364, 1960.
19. Kihlman B. G., Colymbia N. Y. Univ. Press. P. 100.
20. Kihlman B. G. Advances Genet, 10, 1, 1961.
21. Kimball R. F. Cellular J. and Compar. Physiol, 58, Suppe, 1:163, 1961.
22. Mepz J., Swanson C. P., Cohn N. D. Science, 133, 703, 1963.
23. Riger R., Mtskaells A. Exptl. Cell. Res., 31, 202, 1963.
24. Scott D. Mutat. Res. 15, 1, 65.