

С. Г. ЁРВАНДЯН, Г. Г. БАТИКЯН

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГИДРОКСИЛАМИНА И АЗОТИСТОГО ИПРИТА НА CHRYSANTHEMUM CORONARIUM

На *Ch. coronarium* впервые установлена мутагенная активность двух новых соединений—производного ГА, препарата 2055, и производного АИ, препарата 189, и выявлен спектр нарушений. Производные своей генетической активностью в какой-то степени уступают исходным веществам, хотя в отдельных вариантах наблюдается обратная картина.

В настоящее время химический мутагенез подвергается всестороннему изучению благодаря наличию многочисленных и разнообразных по своему действию веществ. Особое место среди них занимают алкилирующие соединения, которые, влияя на хромосомы во всех фазах клеточного цикла, вызывают как хроматидные, так и хромосомные перестройки [1, 2]. В этом аспекте представляло интерес изучение действия новых алкилирующих соединений на динамику мутирования, а также на спектр хромосомных нарушений. Исходя из этого, мы задались целью выявить генетический эффект некоторых новых соединений, синтезированных в Институте тонкой органической химии им. А. Л. Мнджояна АН АрмССР. Впервые мутагенные особенности этих соединений были изучены на микроорганизмах [3], а также на растениях [4]. В настоящей работе приводятся результаты сравнительного изучения мутагенной активности двух новых соединений.

Материал и методика. Цитогенетическое изучение указанных соединений (гидроксиламина (ГА), производного ГА-препарата 2055, азотистого иприта (АИ), производного АИ-препарата 189 в молярных растворах 0,01, 0,001, 0,0005 М концентрации) проводились на клетках меристемы корешков *Chrysanthemum coronarium*, характеризующегося высоким уровнем естественного мутирования. После промывки семена ставились в термостат на проращивание при температуре 24°C. Проводились наблюдения за ходом их прорастания и определялся процент всхожести. Учет хромосомных нарушений производился на временных ацетокарминовых препаратах. Данные, полученные при определении частоты хромосомных нарушений в клетках корешков *Ch. coronarium*, позволяют выявить достоверную разницу при сравнении опытных вариантов с контрольными (td).

Результаты и обсуждение. Основными показателями, используемыми для оценки повреждающего действия мутагенов, являются количество и типы перестроек хромосом в первом митозе зародышевых корешков, торможение роста проростков и различные показатели начального роста (всхожесть и энергия прорастания) [5]. Данные относительно

всхожести и энергии прорастания *Ch. coronarium* показали, что ГА и препарат 2055 в некоторой степени стимулируют этот процесс, хотя последний в этом отношении несколько уступает исходному веществу. Этого нельзя сказать в отношении азотистого иприта. Его стимулирующее действие незначительно или вовсе отсутствует, а 0,01 М концентрация проявляет угнетающий эффект. Следует отметить, что низкая всхожесть, так наглядно проявленная в лаборатории, не отмечалась при проращивании семян в парнике, где во всех вариантах были получены хорошие показатели. Аналогичные данные имеются и в литературе [6]. Предварительные исследования Густавсона и Мак Кея (по Лавлесу), изучавших действие азотистого и сернистого ипритов на семена ячменя, показали, что скорость прорастания была значительно выше в полевых, менее благоприятных условиях, чем в лабораторных.

Цитогенетический анализ действия гидроксилamina, производного 2055, азотистого иприта и производного 189 на семена *Ch. coronarium* свидетельствует о том, что эти соединения индуцируют разнообразные нарушения, которые в отдельных вариантах во много раз превышают естественный фон мутирования. Из довольно широкого спектра нарушений основными являются нарушение полярности, фрагментация, разброс хромосом (группами или отдельно) и пр. Особенно часто встречаются клетки, в которых число хромосом превышает кратное число. При этом имеются клетки, в которых можно четко подсчитать удвоенный набор хромосом. Нередко отмечались клетки, где количество хромосом достигало 23, 26, 32 и т. д. Известно, что основное число хромосом (x) рода *Chrysanthemum*—9, но известны также различные виды и гибриды со всеми числами хромосом, кратными девяти—18, 27, 36, 45 и т. д. [7]. Полученные в нашем опыте данные о дополнительных хромосомах позволяют судить о явлении анеуплоидии, т. е. о наличии ядер, в которых число хромосом меньше полиплоидного и находится где-то между числами хромосом разных членов. В таких ядрах в дополнение к «основным» наборам хромосом есть еще одна или несколько дополнительных хромосом (или в «основных» наборах недостает одной или нескольких хромосом).

Следующий тип нарушений, который наиболее часто встречается,—случайное расхождение хромосом. Вследствие нарушений функции ахроматинового веретена хромосомы либо распределяются между двумя полюсами, либо образуют отдельные обособленные группы. В клетках, в которых обнаружено двухполюсное расхождение хромосом, можно было встретить разные сочетания их ($7+19$, $7+15$ и т. д.).

Таким образом, как следует из приведенных данных, в клетках меристемы корешков *Ch. coronarium* в основном нарушается полярность и плоидность. Причиной увеличения числа хромосом может быть или явление полиплоидии, или же перелом хромосом, фрагментация основного набора, в силу чего происходит механическое увеличение их числа. Во всяком случае, явление увеличения числа хромосом у данного вида, вызванное ГА и препаратом 2055, свидетельствует об их специфично-

сти. При оценке мутагенной активности препарата 2055 следует отметить, что производное своей эффективностью несколько уступает исходному соединению—гидроксиламину. В этом можно убедиться, сравнивая соответствующие данные (табл. 1): при одинаковых концентрациях

Таблица 1

Частота нарушений клеточного деления при действии ГА и препарата 2055 на семена *Ch. sogonagium*

Концентрация мутагена	Количество просмотренных клеток	Количество нарушенных клеток	% нарушенных клеток
ГА (мол. раств.)			
0,01	722	123	17,0±0,14
0,001	545	73	13,2±1,44
0,0005	889	110	12,4±1,14
Препарат 2055			
0,01	457	20	4,3±0,3
0,001	604	66	10,9±1,2
0,0005	393	29	7,2±1,3
Контроль	1238	68	5,5±0,2

процент нарушенных клеток больше в вариантах с ГА. Так, если при 0,01 М концентрации ГА выход нарушений составляет 17, а при 0,0005—12,4%, то при действии ГА-2055 он соответственно равен 4,3 и 7,2%. Несмотря на это, спектр нарушений в основном одинаков как при действии ГА, так и препарата 2055. Из опытуемых растворов данных веществ эффективной оказалась 0,01 М концентрация, хотя в случае с производным больше хромосомных нарушений было зарегистрировано при 0,001 М концентрации (при 0,01—4,3, а при 0,001—10,9%).

Нами проводилось также сравнительное изучение действия азотистого иприта и его производного, препарата 189. АИ известен как сильный мутаген, действие которого впервые показали Ауэрбах и Робсон на *Drosophylla melanogaster* [8]. Высокая эффективность его в отношении индукции структурных мутаций хромосом установлена также на ряде культур [9—12]. Изучение действия АИ и препарата 189 на меристематические клетки корешков *Ch. sogonagium* показало, что под воздействием этих соединений заметно повышается количество аномальных клеток. Из данных табл. 2 видно, что по генетической активности производное в нескольких вариантах уступает исходному мутагену: если при концентрации АИ 0,001 М процент хромосомных нарушений составляет 14,8, то в этом же варианте при действии препарата 189 он равен 9,9. Однако в другом варианте (0,0005 М концентрация) эти показатели равны 4,5 и 6,9%. Помимо этого, основные типы нарушений (нарушение полярности, мосты, фрагменты, разброс хромосом в цитоплазме), обнаруженные при обработке гидроксиламином, встречаются и при действии азотистоипритных соединений. Однако явление полиплоидии здесь встречается редко, а из других типов нарушений значительную часть состав-

Таблица 2

Частота нарушений клеточного деления при действии АИ и препарата 189 на семена *Ch. soroparium*

Концентрация мутагена	Количество просмотренных клеток	Количество нарушенных клеток	% нарушенных клеток
АИ		семена не проросли	
0,01		88	14,8±2,3
0,001	593		
0,0005	389	7	1,8±0,2
Препарат 189			
0,01	532	24	4,5±0,28
0,001	536	93	9,9±1,18
0,0005	805	56	6,9±0,28
Контроль	1238	68	5,5±0,2

ляют хромосомные перестройки типа делеций и транслокаций. Имеются различные сведения [12—15] о том, что алкилирующие агенты при действии на хромосомы способны вызывать потенциальные изменения. Согласно этой точке зрения, действие указанных мутагенов на хромосомы может проявиться в любой фазе цикла. Во всех случаях причиной мутаций является прямая реакция молекулы ДНК с этими соединениями, т. е. алкилирование молекулы ДНК может являться прямой причиной появления перестроек хромосом.

Появление в нашем опыте разнообразных нарушений хромосом говорит о том, что действие указанных соединений произошло не только в постсинтетической, но и в других фазах клеточного цикла, а реализация потенциальных изменений зависит от метаболизма клетки. Полученные данные приводят к убеждению, что у *Ch. soroparium* ГА, препарат 2055, АИ и препарат 189 вызывают довольно широкий спектр нарушений. При этом производные своей генетической активностью в какой-то степени уступают исходным веществам, хотя в отдельных вариантах наблюдается обратная картина. Максимальная частота хромосомных нарушений отмечается при высоких концентрациях — 0,01, 0,001 М. Таким образом, на *Ch. soroparium* впервые установлена мутагенная активность двух новых соединений — производного ГА (препарат 2055) и производного АИ (препарат 189) — и выявлен спектр хромосомных нарушений.

Ս. Գ. ԵՐՎԱՆԴՅԱՆ, Հ. Գ. ԲԱՏԻԿՅԱՆ

ՀԻԴՐՕՔՍԻԼԱՄԻՆԻ ԵՎ ԱԶՈՏԱՅԻՆ ԻՊՐԻՏԻ ՆՈՐ ԱՇԱՆՑՅԱԼՆԵՐԻ
ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ CHRYSANthemum
CORONARIUM-Ի ՍԵՐՄԵՐԻ ՎՐԱ

Ա Մ Փ Ո Փ Ո Ւ Մ

Ուսումնասիրվել է նուրբ օրգանական քիմիայի ինստիտուտում սինթեզված նոր միացությունների՝ հիդրօքսիլամինի (ՀԱ) 2055 ածանցյալի և ազոտային իպրիտի (ԱԻ) 189 ածանցյալի 0,01, 0,001, 0,0005 մլ. լուծույթների պրեբյուկցիոնը Ch. coronarium-ի սերմերի վրա: Պարզվել է, որ ինչպես ելակետային միացությունները, այնպես էլ նրանց ածանցյալները Ch. coronarium-ի մոտ առաջ են բերում խախտումների բավականին բացահայտում: Ըստ որում ածանցյալներն իրենց գենետիկական ակտիվությամբ որոշ չափով զիջում են ելակետային նյութերին, չնայած փորձարկման որոշ տարբերակներում նկատվում է հակառակ պատկեր: Քրոմոսոմային խախտումների մաքսիմալ հաճախականություն է նկատվել 0,01, 0,001 խտության լուծույթների դեպքում:

Այսպիսով, Ch. coronarium-ի վրա առաջին անգամ որոշվել է երկու նոր միացությունների՝ ՀԱ—2055 և ԱԻ—189 պրեպարատների մոտազեն ակտիվությունը և բացահայտվել քրոմոսոմային խախտումների սպեկտրը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Дубинина Л. Г., Дубинин Н. П. Генетика, 4, 2, 1968.
2. Дубинин Н. П., Акифьев А. П. Успехи совр. биол., 69, 2, 1970.
3. Пароникян Г. М., Акопян Л. Г. Биологический журнал Армении, 29, 8, 1976.
4. Мовсисян С. Н., Галукян М. Г., Оганесян Р. А. Биологический журнал Армении, 26, 5, 1973.
5. Мамалыга В. С. Цитология и генетика, 8, 6, 1975.
6. Лавлес Антони. Генетические эффекты алкилирующих соединений, М., 1970.
7. Мюнтцинг А. Генетика, М., 1967.
8. Auerbach C. and Robson S. M. Nature, 154, 81, 1944.
9. Азатян Р. А. Биологический журнал Армении, 26, 7, 1973.
10. Азатян Р. А. Биологический журнал Армении, 27, 4, 1974.
11. Митрофанов Ю. А., Восканян А. З. Биологический журнал Армении, 25, 8, 1972.
12. Агабеги Р. А. Генетика, 11, 3, 1975.
13. Green D. M., Krieger D. R. Proc. Nat. Acad. Sci. USA., 47, 64, 1961.
14. P. Alexander S. F. Cousens, K. D. Stacey Fumdat. Symp trug Reristause Microorganisms. 294, 1958.
15. Лучник И. В. Радиобиология, 13, 2, 1973.
16. Попа Н. Е. Цитология и генетика, 3, 2, 1968.