

УДК 581.15

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ПРОМЕТРИНА НА ХРОМОСОМНЫЙ АППАРАТ *CRYPIS CAPILLARIS*

А. З. ВОСКАНИАН, В. А. АВАКЯН

Установлено, что прометрин является мутагеном задержанного действия, активность которого проявляется во всех фазах митотического цикла клеток, но фаза G_2 наиболее чувствительна к нему.

Хромосомные aberrации в основном фрагментационного типа с преобладающим большинством хроматидных делеций, обменные типы почти не встречаются, и если даже они и есть, происхождение их носит спонтанный характер.

Ключевые слова: гербицид, прометрин, мутагенез, *Crypsis capillaris*.

Среди мутагенов среды значительное место занимают пестициды, которые в течение ряда лет способны сохранять свои отрицательные свойства, участвовать в сложных биологических процессах, в частности, в синтезе нуклеиновых кислот, нарушение нормального хода которого приводит к различным типам мутаций [2, 11, 14, 17]. В связи с этим, помимо изучения ряда свойств пестицидов, представляются актуальными поиски путей и разработка методов тестирования их цитогенетического эффекта, что позволит использовать полученные при этом результаты для оценки генетических последствий действия этих соединений.

Для анализа хромосомных aberrаций и других аномалий клеточного деления целесообразнее использование малохромосомных растений, имеющих крупные хромосомы. Среди представителей высших растений одним из наиболее перспективных тест-объектов для изучения мутагенности факторов окружающей среды является *Cr. capillaris*, клетки которого содержат исключительно удобные для цитогенетических исследований хромосомы, а семена в 100% естественно синхронизированы в фазе G_1 [9, 12].

Цель настоящего исследования состояла в изучении мутагенной активности гербицида прометрина на фоне митотического цикла клеток *Cr. capillaris*.

Материал и методика. Материалом для исследования мутагенного действия прометрина служили семена и корешки *Cr. capillaris*. В качестве тестов для определения мутагенности гербицида использовали структурные мутации хромосом. Хромосомные мутации тестировали в митозе на стадии метафазы, при этом особое внимание обращая на тот факт, что эффект прометрина во многом зависит от стадии интерфазы, дозы и экспозиции.

Прометрин использовался в концентрациях 0,1 и 0,05%. Фиксировали одну точку в G_1 , S и G_2 в корешки—в 6 точках (через 2, 4, 6, 8, 10, 12 ч) после обработки мутагеном. Фиксацию материала проводили в смеси ледяной уксусной кислоты и абсолютного спирта (1:3) через 36 ч от начала замачивания семян. Экспозиция подсушки сухих семян—2 ч, корешков—1 ч.

Результаты и обсуждение. Из приведенных в табл. 1 и 2 данных видно, что прометрин в обеих концентрациях является мутагеном задерживающего действия. Аберрации в основном хроматидные и изолюкусные разрывы, а также микрофрагменты. Среди изолюкусных разрывов преобладающее большинство составляют аберрации типа без соединения концов. Обменные аберрации почти не возникают, а если даже встречаются, то они только спонтанного происхождения. На фоне интерфазы высокий уровень мутационных нарушений выявлен в фазе G₂, при этом наиболее значительный процент составляют хроматидные делеции. Другие типы аберраций (изолюкусные разрывы и микрофрагменты) хотя и имеют некоторую тенденцию к увеличению в фазе G₂, однако недостоверны и иногда по отношению к фазам носят хаотичный характер.

Таблица 1
Типы аберраций хромосом в G₁, S и G₂ фазах, индуцированных прометрином

Фаза клеточного цикла	Концентрация, %	Количество индуцированных метафаз	Клетки с перестройками, %	Число перестроек на 100 клеток				
				хроматидные делеции	изолюкусные разрывы без соединения концов	изолюкусные разрывы с соединениями	микрофрагменты	и всего
G ₁	0,1	434	7,84±1,23	4,84±1,05	1,15±0,50	0,23±0,22	2,08±0,68	8,29±1,30
	0,05	501	4,19±0,88	3,39±0,80	0,78±0,39	—	0,79±0,39	4,79±0,89
S	0,1	517	7,15±1,08	4,21±0,88	1,35±0,50	0,19±0,19	1,55±0,58	7,34±1,70
	0,05	625	4,0±0,78	3,52±0,73	0,32±0,23	—	0,8±0,35	4,6±0,79
G ₂	0,1	395	8,86±1,43	6,32±1,24	1,77±0,66	—	1,52±0,61	9,62±1,48
	0,05	344	6,97±1,39	5,93±1,20	1,13±0,57	—	0,86±0,05	7,57±1,41
Контроль		1565	0,32±0,11	0,13±0,03	0,06±0,06	0,13±0,03	—	0,32±0,1

Сравнение структурных мутаций при действии мутагена в обеих концентрациях показало, что при высокой концентрации процент клеток с перестройками во всех фазах почти вдвое выше, а процент их в спектре не имеет такого различия, но тем не менее достоверное увеличение, которое приближается к 1,0—1,5 раз, существует.

При обработке корешков, клетки которых асинхронны по фазам, наибольшее количество перестроек отмечается при 8-часовой фиксации, т. е. когда клетки в основном находятся в S-фазе [10]. При 10- и 12-часовой фиксации процент перестроек снижается, такое же количество их наблюдается при 2-, 4- и 6-часовой фиксации (клеточная популяция при 10, 12, 2, 4, и 6-часовой фиксации асинхронная [10]).

Возникает вопрос: почему в сухих семенах к прометрину более чувствительными оказываются клетки, находящиеся в фазе G₂, а в корешках—в S-фазе. Тут надо подчеркнуть, что прометрин (как было сказано) является мутагеном задерживающего действия, а для таких химических мутагенов, в отличие от радиации, характерна задержка в появлении перестроек хромосом, хотя они в клетке потенциально существуют [6, 7, 10, 16]. Причины этого явления до конца не выяснены. Потенциально возникшие перестройки, как правило, реализуются только

Типы aberrации хромосом в корешках *Steris capillaris*, индуцированных прометрином

Часы фиксации	Концентрация, %	Количество изученных метафаз	Клетки с перестройками, %	Число перестроек на 100 клеток				
				хроматидные делеции	изоразрывы без соединений концов	изоразрывы с соединениями	микрфрагменты	всего
2	0,1	380	5,5 ± 1,28	2,7 ± 0,85	1,1 ± 0,54	—	1,94 ± 0,71	5,83 ± 1,23
	0,05	493	2,63 ± 0,70	1,01 ± 0,44	1,01 ± 0,44	—	0,61 ± 0,35	2,63 ± 0,70
4	0,1	506	5,12 ± 0,96	2,57 ± 0,70	0,98 ± 0,43	0,19 ± 0,19	1,38 ± 0,50	5,12 ± 0,96
	0,05	625	3,52 ± 0,73	2,08 ± 0,57	1,37 ± 0,46	—	0,48 ± 0,27	3,78 ± 0,76
6	0,1	600	6,6 ± 1,1	3,66 ± 0,74	1,5 ± 0,49	—	1,6 ± 0,49	6,83 ± 1,03
	0,05	502	4,38 ± 0,91	3,16 ± 0,78	0,59 ± 0,33	—	0,99 ± 0,44	4,75 ± 0,94
8	0,1	561	7,31 ± 1,1	4,1 ± 0,83	2,17 ± 0,61	0,18 ± 0,4	1,43 ± 0,51	7,85 ± 1,13
	0,05	560	5,18 ± 0,93	3,93 ± 0,82	1,08 ± 0,43	—	0,54 ± 0,30	5,83 ± 0,96
10	0,1	382	5,75 ± 1,18	4,28 ± 1,03	1,05 ± 0,51	—	1,05 ± 0,51	6,28 ± 1,24
	0,05	458	3,93 ± 1,38	1,98 ± 0,65	0,87 ± 0,43	—	1,09 ± 0,20	3,93 ± 1,38
12	0,1	253	5,10 ± 1,38	4,73 ± 1,33	0,78 ± 0,58	—	0,78 ± 0,58	5,92 ± 1,48
	0,05	413	3,61 ± 0,87	2,14 ± 0,70	0,75 ± 0,42	—	0,75 ± 0,42	3,61 ± 0,87
Контроль								

тогда, когда эти клетки проходят фазу S [6, 10, 16]. Следовательно, при обработке корешков мять-таки чувствительными окажутся клетки в фазе G₂, с той лишь разницей, что в противоположность клеткам сухих семян перестройки хромосом здесь находятся не в реализованном, а в потенциальном состоянии.

Анализируя полученные данные, можно заметить, что перестройки в основном, как уже отмечалось, фрагментационного типа, что, по-видимому, является следствием поврежденных разрывов ДНК. Как уже указывалось выше, при обеих дозах мутагена в фазе G₁ и S количество хромосомных aberrаций соответственно почти на одном уровне, а в G₂ процент перестроек приблизительно в два раза выше. Это, видимо, объясняется тем, что в фазах G₁ и S, когда процесс синтеза веществ для редубликации ДНК в самом разгаре, клетка более активно защищается против чужеродных веществ через систему репарационных механизмов. В фазе G₂, когда уже завершён синтез ДНК, по-видимому, механизмы защиты клетки репарационного характера действуют не столь активно, и, следовательно, перестройки возникают с большей частотой.

Выше упоминалось, что при низкой дозе прометрина количество aberrаций хромосом вдвое меньше. Тут логично предположить, что при малых дозах в поврежденных клетках для восстановления нормальных процессов повышается активность функции гено типа и ферментов репарации [1, 3].

Ряд авторов [1, 4, 5, 7, 15] предполагают, что гербициды, в частности триазинные, связываются в основном с белковыми компонентами и особенно с каталитически активными белками ферментов, а эти фер-

менты прямо или косвенно связаны с нуклеиновым (генным) аппаратом растительной клетки. По мнению Жалина и др. [8], прометрин, в силу структурного сходства с пиримидиновыми основаниями, может встраиваться в ДНК и в ней образовывать «бессмысленные кодоны». Эти авторы на естественной клеточной синхронизированной популяции гороха, подвергнутого обработке прометрином, используя меченые предшественники белков (лейцин), ДНК (тимидин) и РНК (урацил), показали, что включение лейцина и тимидина в большом количестве имеет место в G_1 и S-фазах и достигает максимума в фазе G_1 , в противоположность этому, включение предшественников уменьшается в G_2 .

Таким образом, на основании этих и наших данных можно заключить, что в фазах G_1 и S ДНК и связанные с ней ферменты более активно действуют для нормализации функции клетки и поэтому количество перестроек здесь сравнительно меньше, а в фазе G_2 , когда включение предшественников уменьшается, действие взаимосвязанных молекул ДНК и ферментов, по-видимому, ингибируется прометрином, что приводит к нарушению механизмов системы репарации, обуславливающему увеличение количества перестроек хромосом.

ВНИИ охраны природы и заповедного дела МСХ СССР,
лаборатория комплексных проблем охраны природы Армении

Поступило 9.IV 1983 г.

ՀԵՐԲԵՑԻՒ ՊՐՈՄԵՏՐԻՆԻ ԲՋՁԱՎԵՆՆԵՏԻՎԱԿԱՆ ԱԶԳՆՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ CREPIS CAPILLARIS-ի ԲՐՈՒՐՈՍՈՄԱՅԻՆ ԱՊԱՐԱՏԻ ՎՐԱ

Ա. Չ. ՎՈՍԿԱՆԻԱՆ, Վ. Ա. ԱՎԱԿԻԱՆ

Ստամոսիրությունները ցույց են տվել, որ պրոմետրինը հանդիսանում է ձգձգվող ազդեցության մոտոազնու Այն առաջելի տկարիվ է բջի միթոտիկ ցիկլի S փուլում:

Պրոմետրինի ազդեցությամբ առաջացած բրոմոսոմային խաթարումները հիմնականում կրում են ֆրագմենտացիոն բնույթ:

THE CYTOGENETIC EFFECT OF THE HERBICIDE PROMETRIN ON THE CHROMOSOME APPARATUS OF *CREPIS CAPILLARIS*

A. Z. VOSKANIAN, V. A. AVAKIAN

The study of prometrin has shown that it is a mutagen of delayed action. The effect of prometrin is the most active in the G_1 phase of mitotic cycle. The chromosome aberrations are mainly of fragmentary nature.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бергманова Е., Кубелова А., Тоимр Л. В кн.: Механизм действия гербицидов и синтетических регуляторов роста растений и их судьба в биосфере. 122—125, Пуццино, 1975.
2. Воеводин А. В., Нензорова М. И., Казарини Е. М. В кн.: Растения и химические канцерогены. 28—31, Л., 1979.

3. Гаврилова А. Н., Потоцкая Л. А., Протасов Н. И., Бурский Е. Н. В кн.: Механизм действия гербицидов и синтетических регуляторов роста растений и их судьба в биосфере. 47—51, Пуццано, 1975.
4. Деева В. П., Шелег З. И., Санько П. В. В кн.: Регуляция роста и питания растений. 156—165, Вильнюс, 1980.
5. Деева В. П., Шелег З. И. Минск: Наука и техника, 245, 1976.
6. Дубинин Н. П., Митрофанов Ю. А., Мануилова Е. С. Изв. АН СССР, серия биол., 4, 447—448, 1967.
7. Дубинин Н. П., Сапрыкина Е. Г. Докл. АН СССР, 158, 4, 956—959, 1964.
8. Лапина Т. В., Ходеева Л. В., Мержинский Д. Г. Физиология и биохимия культурных растений, 13, 3, 301—305, 1981.
9. Митрофанов Ю. А., Котомина И. Ф. Генетика, 6, 3, 18, 1970.
10. Митрофанов Ю. А., Воскиян А. З. Цитология и генетика, 5, 422—425, 1972.
11. Моргун В. В., Лосвиненко В. Ф., Мержинский Ю. Г., Лапина Т. В. Цитология и генетика, 16, 1, 1982.
12. Протопопова Е. М., Шевченко В. В., Генералова М. В. Генетика, 6, 19, 1967.
13. Стрельчук С. И. Цитология и генетика, 12, 5, 428—436, 1978.
14. Шарманов Т. Ш. В кн.: Охрана природы и применение химических средств в сельском и лесном хозяйстве, 97—100, Л., 1981.

«Биолог ж. Армения», т. XXXVII, № 2 1981

УДК 575.24:517

ИНДУЦИРОВАННАЯ МУТАБИЛЬНОСТЬ ХРОМОСОМ *СРЕPIS* *CAPILLARIS* В УСЛОВИЯХ ХРАНЕНИЯ СЕМЯН И МОДИФИКАЦИИ СИНТЕЗА ДНК. II.

Г. И. МПРЗОЯН

Изучена модификация цитогенетического эффекта HN_2 с помощью ингибитора синтеза ДНК, ФУДР в G_1 - и G_2 -фазах клеточного цикла после хранения в сухом состоянии семян *Srepis capillaris* в течение 60 дней. При воздействии HN_2 наблюдается волновая кинетика мутагенеза. Спектр структурных мутаций хромосом во все сроки хранения представляет собой исключительно aberrации хроматидного типа, ФУДР в обеих фазах модифицирует действие HN_2 с увеличением выхода хроматидных aberrаций.

Ключевые слова: хромосомы *Sr. capillaris*, азотистый инит, ФУДР, ДНК.

В предыдущем сообщении были приведены результаты экспериментального изучения модифицирующего эффекта 5-фтор-2-десоксиуридина (ФУДР) и тимидина в G_1 - и G_2 -фазах на радиационные повреждения хромосом после их хранения в сухом состоянии [3]. Исследования показали, что модификация радиационного повреждения хромосом при хранении сухих семян выражается в увеличении выхода aberrаций хромосом и не зависит от сроков хранения.

Настоящее исследование посвящено изучению влияния ФУДР в обеих фазах клеточного цикла на количество и спектр aberrаций хромосом в семенах *Sr. capillaris*, обработанных бифункциональным азо-