

Р. С. БАБАЯН, Р. Б. АЙРАПЕТЯН, А. А. МУРАДЯН

## О ВЛИЯНИИ ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ВЫХОД ХЛОРОФИЛЬНЫХ МУТАЦИЙ У ЯЧМЕНЯ, ИНДУЦИРОВАННЫХ РЕНТГЕНОВЛУЧЕНИЕМ И ЭТИЛЕНИМИНОМ

В экспериментальном мутагенезе растений, наряду с поиском новых высокоэффективных мутагенов, все чаще проводятся исследования по направлению изменения мутагенного эффекта известных агентов путем совместного с мутагенами применения разных модифицирующих факторов. Известно, что биологический эффект ионизирующих излучений и химических мутагенов модифицируется различными дополнительными воздействиями в широких пределах.

Одним из модификаторов действия ряда мутагенных агентов является температура. Воздействием на семена супероптимальными температурами до или после облучения гамма- или рентгеновыми лучами значительно изменяется физиологический и цитологический эффект облучения (Калдекотт, 1948; Конзак и др., 1961; Шкварников, 1963; Шапиро, Протопопова, 1964 и др.).

Радиомиметические вещества оставляют во многом сходное с ионизирующими излучениями влияние на растения. Поэтому значительный интерес представляет вопрос о возможности изменения эффекта этиленимина при совместном применении его с супероптимальными температурами.

Радиомиметическое соединение этиленимин является одним из действенных и широко используемых химических мутагенов. Наряду с обширными данными о физиологическом и особенно генетическом влиянии этиленимина на организмы, имеется ряд исследований о влиянии способов обработки на мутагенный эффект этого агента. Показано, что на эффект ЭИ влияет способ обработки (пары или водный раствор), длительность замачивания семян, концентрация раствора и др. (Кожанова и др., 1966; Эйрес, 1966; Батикян и др., 1967 и др.). По данным Гентриха, (Hentrich, 1966) температурные условия во время обработки семян ячменя оказывают значительное влияние на мутагенный эффект этилметансульфоната и ЭИ. Совместное действие гамма-лучей и ЭИ (1,5 кр, 0,015 и 0,06%) приводит к снижению повреждающего эффекта в  $M_1$  и повышает количество мутаций в  $M_2$  (Валева, 1965; Хвостова, 1966). Обработка семян ячменя ЭИ после облучения быстрыми нейтронами улучшает развитие растений в  $M_1$  и изменяет количество хлорофильных мутаций в  $M_2$  (Шагин-Березовский, 1965).

В настоящей работе приводятся данные о модифицирующем влиянии супероптимальных нагревов семян ячменя на генетический эффект рентгенооблучения и ЭИ.

Объектом опытов являлись воздушносухие семена ячменя сорта Ленинканский 213 (*Hordeum distichon* var. *putans* Schübl.). Семена до облучения или обработки ЭИ подвергались тепловому воздействию при температуре 80°C продолжительностью 30 минут в ультратермостате (точность  $\pm 0,2^\circ\text{C}$ ). Семена замачивались в 0,03% (объемный) растворе ЭИ в течение 24 часов. После обработки в растворе семена тщательно промывались водопроводной водой. Контрольные семена замачивались в дистиллированной воде.

Облучение проводилось аппаратом РУМ-11, дозой 15 кр при мощности дозы 500 р/мин., 187 кв, 15 ма.

Обработанные и контрольные семена высевались на полевом участке в тот же день после окончания обработки. Густота посева 15×5 см, с каждого варианта было посеяно по 600 зерен.

Тестом генетических изменений служили количество аномальных проростков и хлорофильные мутации. Для учета этих изменений семена в  $M_2$  проращивались в наполненных песком чашках Петри в условиях комнатной освещенности и температуры (18—20°C). С каждого колоса (семьи) брали по 4 зерна. С каждого варианта было посеяно по 200 семей, 800 зерен соответственно. Учет аномальных проростков и хлорофильных мутаций производили по семьям и по растениям.

Результаты опытов показывают, что предшествующий облучению и обработке ЭИ нагрев семян при 80°C, 30 минут, значительно повышает их физиологическую устойчивость к указанным агентам.

Таблица 1

Влияние нагрева семян ячменя при 80°C, 30 минут, на эффект рентгенооблучения и ЭИ в  $M_1$  (в %)

| Варианты              | Проросшие семена | Созревшие растения | Стерильные цветки | Морфозы |
|-----------------------|------------------|--------------------|-------------------|---------|
| Контроль              | 78,8±1,7         | 62,0±1,7           | 7,7±0,5           | —       |
| Теплообработка        | 74,3±1,8         | 55,0±2,0           | 8,0±0,5           | 0,61    |
| Облучение 15 кр       | 47,0±2,0         | 40,3±2,0           | 36,9±0,9          | 2,89    |
| Теплообработка+облуч. | 62,0±1,7         | 50,3±1,8           | 28,6±0,7          | 1,32    |
| ЭИ 0,03%              | 49,7±2,0         | 26,7±1,8           | 34,2±0,9          | 1,25    |
| Теплообработка+ЭИ     | 57,8±2,0         | 45,7±2,0           | 21,9±0,8          | 2,30    |

Как показывают приведенные в табл. 1 данные, облучение дозой в 15 кр или замачивание семян в 0,03% растворе ЭИ в течение 24 ч. вызывает значительное снижение во всхожести, соответственно на 53 и 51,3%. В вариантах же с теплообработкой семян до облучения и замачивания в растворе ЭИ снижение всхожести значительно меньше.

Защитное действие предшествующей теплообработки еще больше в отношении количества созревших растений от количества посеянных семян. В вариантах облучения и обработки семян раствором ЭИ процент созревших растений составляет 40,3 и 26,7, в вариантах же с предшествующим нагревом их количество значительно повышается, составляя соответственно 50,3 и 48,7%.

Облучение и обработка семян ЭИ приводит к значительному снижению завязывания семян (стерильности) в  $M_1$  (рис. 1). По этому показателю теплообработка семян перед облучением и замачиванием в растворе ЭИ тоже оставляет защитное действие, способствует значительному повышению завязываемости по сравнению с вариантами облучения и обработки ЭИ без предшествующей теплообработки.

Таким образом, нагрев семян ячменя до облучения и обработка раствором ЭИ оставляют защитное действие, повышают устойчивость

семян к этим агентам. Вариант нагрева семян (без облучения и обработки ЭИ) по сравнению с контрольным вызывает небольшие изменения по изученным показателям.

Исследованиями В. Я. Александрова и сотрудников (1958 и др.) показано, что супероптимальные температурные воздействия вызывают в широкой степени неспецифичное повышение устойчивости растительных клеток и тканей к различным повреждающим агентам. Наши опыты с семенами пшеницы тоже показали, что кратковременные нагревы вызывают реактивное повышение устойчивости не только к рентгенооблучению, но и к ряду других повреждающих агентов (1966). В  $M_1$  у растений из семян, облученных рентгеновыми лучами и обработанных раствором ЭИ, появились морфологические изменения колоса: вильчатые (ветвистые), имеющие дополнительные зерновки, иногда голые (подопытный сорт пленчатый), переходные чаще в верхушечной час-

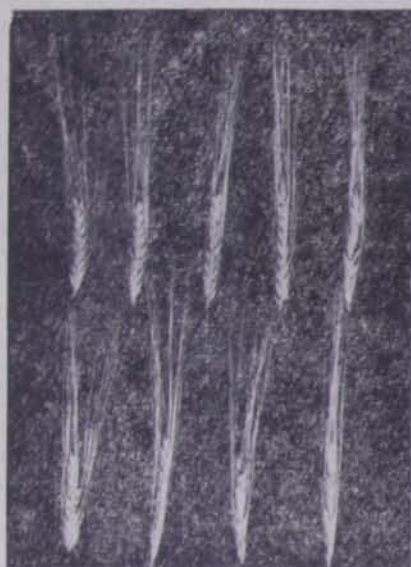


Рис. 1. Колосья ячменя со стерильными цветками.

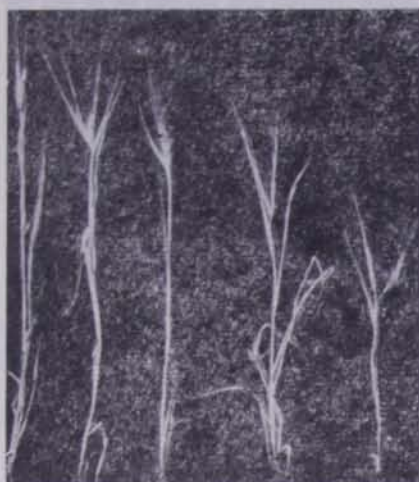


Рис. 2. Морфозы у ячменя в  $M_1$ .

ти к 4—6-рядному, и др. (рис. 2). Необходимо отметить, что морфозы колоса типа переходных к 4—6-рядному наблюдались и у растений, полученных из семян, обработанных только температурой.

Количество морфозов у варианта обработки ЭИ с предшествующим нагревом почти в два раза больше по сравнению с вариантом обработки только ЭИ. Количество морфозов больше в варианте облучения без предшествующего нагрева. Достоверность различия между вариантами по количеству морфозов низкая ( $P=70\%$ ) из-за малого количества сохранившихся растений в  $M_1$ .

В отличие от  $M_1$ , когда температурное воздействие уменьшает повреждающее действие облучения и ЭИ, в  $M_2$ , наоборот, наблюдается повышение частоты генетических изменений.

Тестами генетических изменений в  $M_2$  служили количество аномальных проростков (карликовые, не выходящие из coleoptilya, вогнутые, с кудрявым листом и др.) и количество хлорофильных мутаций. Известно, что хлорофильные мутации считаются одним из объективных

показателей генетической изменчивости. Мутантные проростки по внешнему виду четко различаются от нормальных (рис. 3).

Приведенные в табл. 2 данные показывают, что предшествующий нагрев семян почти вдвое увеличивает выход хлорофильных мутаций, в том числе мутаций, совершенно лишенных пигментов (типа *albina*), как при рентгенооблучении, так и при обработке семян раствором ЭИ.

Таким образом, термическое воздействие специфично модифицирует эффект указанных агентов, заключающееся в том, что оно снижает часть одних эффектов (защитное действие в  $M_1$ ) и, наоборот, усиливает другие эффекты—индукцию точковых мутаций.

Относительно количества выхода мутаций нужно учитывать и то обстоятельство, что термическое воздействие, способствуя выживанию большего количества растений из облученных или обработанных ЭИ семян и повышая фертильность растений в  $M_1$ , в конечном счете приводит к увеличению абсолютного количества особей, носящих мутации.

Разграничение, в определенной степени, повреждающего и мутагенного эффектов при воздействии мутагенных агентов представляет значительный интерес как для изучения механизма мутационного процесса, так и для мутационной селекции.

Таблица 2

Модифицирующее влияние нагрева семян до рентгенооблучения и обработки ЭИ на выход хлорофильных мутаций у ячменя в %

| Варианты                  | Ненормальные проростки |                   | Хлорофильные мутации |                   |                |                   |
|---------------------------|------------------------|-------------------|----------------------|-------------------|----------------|-------------------|
|                           | по числу семей         | по числу растений | Всего                |                   | Albina         |                   |
|                           |                        |                   | по числу семей       | по числу растений | по числу семей | по числу растений |
| Контроль                  | 1,0±0,4                | 3,2±1,1           | 0,13±0,1             | 0,45±0,4          | —              | —                 |
| Теплообработка            | 0,8±0,3                | 3,0±1,2           | 0,81±0,3             | 2,0±1,0           | —              | —                 |
| Облучение                 | 2,8±0,6                | 8,0±1,7           | 0,73±0,3             | 1,6±0,8           | 0,37±0,2       | 1,2±0,6           |
| Теплообработка+ облучение | 5,1±0,7                | 13,3±1,9          | 4,81±0,7             | 8,3±1,5           | 1,12±0,3       | 2,3±0,2           |
| ЭИ                        | 5,9±0,8                | 11,0±1,1          | 1,1±0,3              | 2,0±0,5           | 0,5±0,2        | 1,0±0,3           |
| Теплообработка+ ЭИ        | 6,7±0,9                | 12,5±2,2          | 2,2±0,5              | 4,58±0,7          | 0,9±0,3        | 2,0±0,5           |

Такая возможность при гамма-облучении доказана работами Конзака, Найлена и др. (1961), Хвостовой и др. (1965, 1966).

Приведенные результаты опытов показывают, что аналогичное явление наблюдается и при воздействии супероптимальных температур.

ԲԱՐՁՐ ԶԵՐՄՈՒԹՅԱՆ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԲԵՆՏԳԵՆՅԱՆ ՀԱՌԱԳԱՅԹԱՀԱՐՄԱՆ  
ԵՎ ԷԹԻԼԵՆԻՄԻՆՈՎ ՄԱԿԱԾՎԱԾ ԳԱՐՈՒ ՔԼՈՐՈՖԻԼԱՅԻՆ ՄՈՒՏԱՑԻԱՆԵՐԻ  
ՔԱՆԱԿԻ ՎՐԱ

Ա մ փ փ ու մ

Որպես ռենտգենյան ճառագայթահարման և էթիլենիմինի զենետիկական էֆեկտի փոփոխիչ է օգտագործվել սերմերի ջերմամշակումը  $80^{\circ}$  պայմաններում 30 րոպե տևողությամբ:

Պարզվել է, որ երբ ճառագայթահարումից կամ էթիլենիմինի 0,03 % լուծույթում թրջելուց առաջ զարու սերմերը ջերմամշակման են ենթարկվում, առաջին սերնդում բարձրանում է նրանց դիմացկունությունը այդ գործոնների նկատմամբ:

Երկրորդ սերնդում, ընդհակառակը, շուրջ երկու անգամ մեծանում է բրոֆիլային մուտացիաների քանակը:

Յույց է տրված, որ ջերմամշակումը նպաստում է բրոֆիլային մուտացիաների քանակի հարարերական և բացարձակ ավելացմանը:

Ենթադրվում է, որ սերմերի այդ ձևով մշակելը կարող է օգտագործվել մուտացիոն սելեկցիայում:

R. S. BABAYAN, R. B. HAIRAPETYAN, A. A. MURADYAN

EFFECT OF HIGH TEMPERATURE ON THE AMOUNT OF  
CHLOROPHYLL MUTATIONS OF BARLEY COATED WITH X-RAYS  
AND ETHYLENAMINE.

Summary

Thermal treatment of seeds under  $80^{\circ}\text{C}$  for 30 minutes has been applied as an alternator of X-rays and genetic effect of ethylenamine. It was noted that when seeds of barley undergo a thermal treatment before irradiation or wetting in a 0.03% solution of ethylenamine, their stability increases in the first generation with regard to those factors, while in the second generation, on the contrary, the amount of chlorophyll mutations increases twice as much. Thermal treatment assists in increasing the relative and absolute amount of chlorophyll mutations. This way of treating seeds might probably be used in mutation selection.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александров В. Я. и Фельдман Н. Л. Бот. журнал. т. 43, № 2, 1958.
2. Бабалян Р. С. ДАН Арм. ССР, т. 41, № 1, 1965.
3. Бабалян Р. С., Айрапетян Р. Б. В сб.: «Применение экспериментальных мутаций в селекции растений» (тезисы докладов симпозиума), Киев, 1968.
4. Бабалян Р. С. Известия с.-х. наук МСХ Арм. ССР, № 7, 1966.
5. Ватикян Г. Г., Погосян В. С. Биол. журнал Армении, т. 20, № 5, 1967.

6. Валева С. А. Генетика, № 2, 1965.
7. Кожанова Н. Н., Григорева Н. В., Зоз Н. Н. В сб.: «Супермутагены», М., 1966.
8. Хвостова В. В., Эльшуни К. А. Радиобиология, т. 5, № 1, 1965.
9. Хвостова В. В. В сб.: «Экспериментальный мутагенез у сельскохозяйственных растений и его использование в селекции», М., 1966.
10. Шагин-Березовский Г. Н. Труды ин-та генетики, № 32, М., 1965.
11. Шапиро Н. И., Протопопова Е. М. Радиобиология, т. 4, № 2, 1964.
12. Шкварников П. К. Цитология, т. 5, № 5, 1963.
13. Эйгес Н. С. В сб.: «Экспериментальный мутагенез у сельскохозяйственных растений и его использование в селекции», М., 1966.
14. Эльшуни К. А., Хвостова В. В., Столетов В. Н. Генетика, № 3, 1965.
15. Эльшуни К. А., Хвостова В. В. Генетика, № 6, 1966.
16. Konzak F., Nilan R. A., Legault R. R., Heiner R. F. Proc. Sympos. Effects of Ionizing Radiations on Seeds. v. 1., Karlsruhe, IAEA, Vienna, 1961.
17. Smith L., Caldecott R. S. Hereditas. 39, 1948.