

С. Г. ЕРВАНДЯН

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНЫХ МОЧЕВИНЫ НА СЕМЕНА *L. ESCULENTUM*

Приведены результаты цитогенетического эффекта, митотической активности и биологии прорастания семян у растений томата при мутагенном действии производных мочевины (НММ, НДММ). Указывается, что по изученным параметрам у подопытного сорта во всех вариантах исследования особых различий нет.

Индукцированные мутации широко применяются в генетических исследованиях и представляют большую ценность для изучения метаболических процессов в растениях. Поскольку действия мутагенов часто оцениваются по распределению разрывов хромосом, важно определить, есть ли какие-либо закономерности в распределении разрывов при действии мутагенов на клетки в разные периоды митотического цикла [1]. В этом аспекте заслуживает внимания определенное колебание темпов клеточного деления и уровня аббераций хромосом, наиболее часто обнаруживаемых в отдельные сроки фиксации. В настоящем сообщении представлены некоторые данные о зависимости частоты и спектра хромосомных нарушений от времени фиксации, митотической активности, а также динамики энергии прорастания семян у растений томата при действии производных мочевины.

Материал и методика. Семена томата сорта «Звартноц» обрабатывали разными концентрациями (0,012, 0,025, 0,04, 0,05%) нитрозометилмочевины (НММ), нитрозодиметилмочевины (НДММ) и проращивали в термостате при 24°C. Часть семян каждого варианта и контроля исследовали для изучения цитогенетического действия НММ, а часть — всхожести при НММ и НДММ. Корешки фиксировали смесью спирта и ледяной уксусной кислоты (3:1) в 9, 12, 15 ч дня. Готовили временные давленные препараты апикальной меристемы корешков, окрашенных ацетокармином. Определяли частоту нарушений хромосом в анафазе и телофазе. Митотическую активность (МА) определяли путем подсчета числа клеток, находящихся в различных фазах митоза. В трех повторностях в течение 10 суток определяли энергию прорастания и всхожесть семян. Данные обработаны статистически.

Результаты и обсуждение. Данные по цитогенетическому действию НММ представлены в табл. 1, из которой видно, что у томата индуцированные НММ хромосомные нарушения по сравнению с контролем не так уж велики. У изученного сорта имеется относительно высокий фон спонтанного мутирования (3,5%), который при мутагенном воздействии изменяется не существенно. Причем сравнительно большой выход хромосомных нарушений наблюдался в вариантах с низкими концентрациями НММ. В вариантах более высоких концентраций имелось да-

же некоторое понижение: частота нарушений хромосом не отличалась от контрольного уровня. Это еще раз подтверждает имеющиеся в литературе [2] и полученные нами [3] данные о несохранении в химическом мутагенезе соотношения корреляции «доза-эффект».

Следует отметить, что по сравнению с другими (декоративными) культурами [3] при действии того же мутагена (НММ) спектр хромосомных нарушений у томата не разнообразен: основные типы нарушений—это опережающие и отстающие хромосомы. Некоторую долю составляют мосты и фрагменты, которых по сравнению с контролем чуть больше.

Известно, что томат относится к числу тех сельскохозяйственных культур, которые устойчивы к воздействию химических мутагенов [4, 5, 6]. Предполагается, что большая роль в устойчивости растений принадлежит степени активности процессов восстановления в клетках и тканях растения в ответ на поражающее действие мутагена [7]. Такая относительная устойчивость у сорта «Звартноц» проявлялась как при ростовых процессах (всхожесть семян), так и при изучении динамики клеточных нарушений в течение суток. Из табл. 1 видно, что в разных вариантах в течение дня намечается понижение процента хромосомных нарушений, причем оно происходит постепенно, без особых резких колебаний.

Таблица 1

Частота нарушений хромосом в корешках *L. esculentum* после обработки семян НММ

Вариант опыта	Часы фиксации								
	число изученных ана-, телофаз	9 ч		число изученных ана-, телофаз	12 ч		число изученных ана-, телофаз	15 ч	
		доля измененных ана-, телофаз			доля измененных ана-, телофаз			доля измененных ана-, телофаз	
		число	процент		число	процент		число	процент
контроль	797	28	3,5±0,2	735	26	3,5±0,2	710	15	3,1±0,2
0,012	1451	46	4,5±0,14	—	—	—	236	9	3,8±0,2
0,04	287	9	3,1±1,1	—	—	—	427	13	3,04±0,25
0,05	1585	50	3,1±0,1	266	9	3,4±1,1	1899	33	3,5±0,8

+ митозов нет; ++ митозов мало.

По-видимому, в течение времени, пусть в малой степени, но тем не менее происходят восстановительные процессы, которые и лежат в основе регуляторных механизмов любых клеток. Помимо того, низкий уровень перестроек после химического воздействия в основном или целиком обусловлен медленным созреванием химически индуцированных разрывов до стадии готовности к восстановлению [8]. С другой стороны, возникновение максимального количества клеток с абберациями нередко связано со степенью темпов деления клеток на этот период [9], что было наглядно показано при изучении митотической активности данной культуры.

Метод сопоставления соотношения отдельных фаз в митозе и их количества от общего числа клеток позволяет определить, имеет ли место при действии того или иного фактора торможение или стимуляция какой-либо отдельной фазы в митозе. Анализ материала числа делящихся клеток по фазам и митотической активности (МА) при действии НММ представлены в табл. 2. Сопоставление данных показывает, что во всех часах фиксации митотическая активность по сравнению с контролем была низкая: воздействие мутагена привело к снижению МА. Вместе

Таблица ?
Митотическая активность в корешках *L. esculentum* после обработки семян НММ

Вариант опыта	Часы фиксации	Митотический индекс, %	Доля разных фаз митоза, % общего числа делящихся клеток			
			профаза	метафаза	анафаза	телофаза
контроль	9	9,87±0,22	7,04	1,2	1,2	0,4
	12	13,66±0,36	9,76	1,7	1,3	0,9
	15	8,99±0,02	6,39	1,1	1,2	0,3
0,012	9	8,20±0,24	5,60	1,10	1,3	0,5
	12	3,44±0,48	3,44	—	—	—
	15	6,44±0,58	5,62	0,60	0,07	0,05
0,04	9	6,87±0,20	5,07	0,7	0,9	0,2
	12	8,60±0,20	7,20	0,6	0,5	0,3
	15	9,44±0,22	7,54	1,4	0,9	0,6
0,05	9	5,20±0,52	3,80	0,5	0,5	0,4
	12	9,07±0,21	7,01	0,6	1,2	0,26
	15	7,46±0,22	5,16	1,1	1,1	0,1

с тем в структуре митоза в процентном отношении особых различий нет: во всех вариантах имеются некоторое повышение профазного индекса и еле заметное увеличение мета-, анафазных индексов. Так как такая картина наблюдалась и в контрольном варианте, то, по всей вероятности, в клетках первичной меристемы корешков томата последующие стадии протекают быстро, что и проявляется в структуре митоза. Периоды наивысшего подъема митотической активности связаны с временем дня, но они различны для разных тканей и организмов [10]. Результаты исследований показывают, что у растений томата в течение суток (не считая отдельных колебаний) наблюдалась тенденция в сторону увеличения числа митотических клеток: наивысшая митотическая активность в кончиках корней приходится на время около полудня. Так, если в контроле в 9 ч утра МА равнялась $9,87 \pm 0,22$, а при 0,05% концентрации — $5,20 \pm 0,52$, то к 12 ч она составляла $13,66 \pm 0,36$ и $9,07 \pm 0,21$. Периодичность частоты митозов в растительных и животных клетках не является редким явлением [10.] В нашем опыте также в суточном ритме наблюдалась волнообразная картина: в протекании митозов имело место чередование их максимумов и минимумов, совпадающих, видимо, с очередностью включения определенных генетических операторов [9], а также с изменением направленности физиологических и биохимических процессов, протекающих в клетках. Интересно, что действие НММ, особенно в вариантах 0,04% и 0,05% концентраций выявляет выравнивающее действие. Проявляющееся в контроле и в варианте с низкой концентрацией отличие, которое особенно существенно в 12 ч дня, в этих случаях сравнительно небольшое: средний показатель митотической активности клеток проростков приблизительно был равен, амплитуды митотических «волн» не очень велики.

Тщательный анализ митотической активности естественного суточного ритма, а также его сопоставление с данными обработанных вариантов показали своеобразную реакцию клеток корешков томата, которая безусловно связана с периодичностью физиологической деятельности растений данного вида.

Энергия прорастания и всхожесть семян, наряду с цитогенетическими параметрами, являются существенными показателями активности и

специфичности мутагенного воздействия. Полученные данные свидетельствуют о том, что во всех вариантах мутагенного действия наблюдалась высокая всхожесть семян. При этом семена сорта «Звартноц» в разных вариантах опыта имели почти одинаковую всхожесть, но разную энергию прорастания (рис. 1, 2). Так, если к пятому дню в вариан-

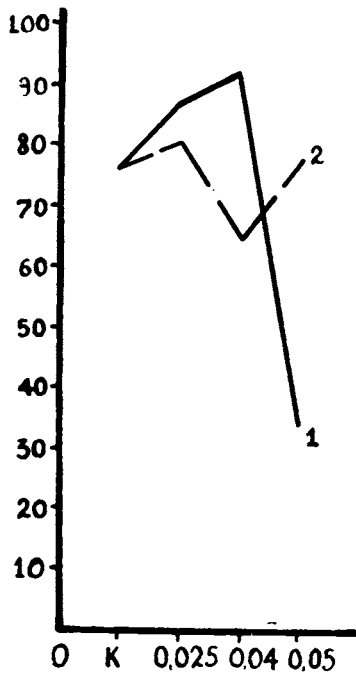


Рис. 1. Энергия прорастания семян томата на 5-ые сутки при действии НММ (1) и НДММ (2). По горизонтали—концентрация мутагена, по вертикали—процент всхожести.

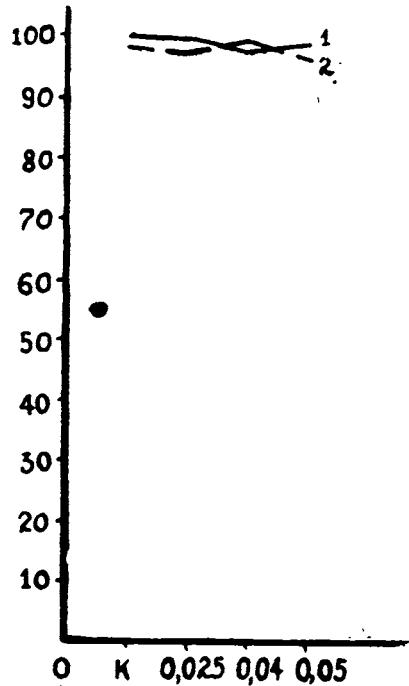


Рис. 2. Всхожесть семян томата при действии НММ (1) и НДММ (2). По горизонтали—концентрация мутагена, по вертикали—процент всхожести.

тах испытания 0,025 и 0,05% концентраций НММ энергия прорастания соответственно была 72 и 46%, то в аналогичных вариантах НДММ она составляла 81 и 78%. Это, с одной стороны, говорит о лабильности физиологического состояния метаболизирующих систем семян, а с другой—о проявлении специфичности мутагенного воздействия. Свидетельством этого является наличие подобных различий между двумя повторностями, где, особенно в варианте 0,05% НММ, имеется некоторое угнетающее действие. Однако подавляющее действие постепенно снимается и в конечном итоге во всех вариантах наблюдается максимальная всхожесть. Эти данные наводят на мысль, что эффект действия НММ и НДММ на начальные стадии роста растений томата не существенный.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у сорта томата «Звартноц» при воздействии испытываемых факторов во всех вариантах исследуемые показатели мало чем отличались друг от друга: проценты хромосомных нарушений и всхожести в контроле и в опыте были почти на одинаковом уровне. Наряду с этим, НММ имела заметное угнетающее действие на процесс клеточного деления: в отдельных вариантах наблюдалось снижение митотического индекса. Наибольшая пролиферативная активность клеток намечалась около 12 ч дня.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бараташвили Д. И. Цитогенетический эффект мутагенного действия ^{32}P и ^{35}S на семена чая.—Цитология, 1968, т. 23, № 1, с. 74—80.
2. Дубинина Л. Г., Курашова З. И., Сергиевская С. П. Доза-эффект при мутагенном последствии.—Генетика, 1979, т. 15, № 2, с. 244—253.
3. Ервандян С. Г. Сравнительное изучение чувствительности к НММ видов из семейства сложноцветных.—Биол. ж. Арменин, 1982, т. 35, № 7, с. 540—544.
4. Зоз Н. Н., Кожанова Н. Н., Сальникова Т. В. Чувствительность различных сельскохозяйственных культур к воздействию химическим мутагенам.—Генетика, 1967, т. 3, № 2.
6. Эдельштейн В. И. Руководство к практическим занятиям по овощеводству. М.: 1958, с. 48.
6. Топорнина Н. А. Чувствительность сортов и гибридов яровой пшеницы к воздействию этиленмина— Сб.: Химический мутагенез и создание сельскохозяйственного материала. М.: Наука, 1972.
7. Ауэрбах Ш. Проблемы мутагенеза. М.: Мир, 1978, с. 463.
8. Рапопорт Н. А. Различие в механизме действия основных мутагенов и нуклеотидных аналогов. В кн.: Успехи химического мутагенеза в селекции. М.: Наука, 1974, с. 5—28.
9. Мэзия Д. Митоз и физиология клеточного деления. М.: Иностранная литература, 1963, с. 427.

Ս. Գ. ԵՐԱՆՈՅԱՆ

ՄԻՋԱՆՑՈՒԹԻ ԱԾԱՆՑՅԱԼՆԵՐԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ
ԼՈՒԿԻ ՍԵՐՄԵՐԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ուսումնասիրվել է նիտրոզոմեթիլմիդանյուրի (ՆՄՄ) և նիտրոզոդիմեթիլմիդանյուրի (ՆԴՄՄ) տարբեր խտությունների (0,012, 0,025, 0,04, 0,05 %) ազդեցությունը լուիկի «Զվարթնոց» սորտի սերմերի վրա:

Ստացված տվյալները վկայում են, որ ուսումնասիրված շափանիշների տեսակետից (բջջագենետիկական արդյունավետության, միտոտիկ ակտիվության, սերմերի ծլունակության) փորձարկման բուսանձին տարբերակներում ստուգիչի համեմատ էական տարբերություններ չկան: Սակայն մուտագենով մշակված տարբերակում նկատվել է միտոտիկ ակտիվության որոշ անկում: