

Оскар ПРИЙЛИНН, Юта ШИФРИН,
Тамара ШНАЙДЕР, Татьяна ДОРОХОВА

ДЕЙСТВИЕ ХИМИЧЕСКИХ МУТАГЕНОВ НА ПШЕНИЦУ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ СЕМЯН ПРИ ИХ ОБРАБОТКЕ

К числу факторов, способных модифицировать действие физических и химических мутагенов, следует отнести влажность семян, т. е. их метаболическое состояние во время обработки. Набухание их до начала прорастания и последующие процессы роста и развития обуславливают различия в физиологическом состоянии изучаемого объекта, и вследствие этого его различную чувствительность к мутагенам.

Поглощение воды зернами пшеницы при замачивании их в течение 6 ч составляет 24% от первоначального веса, а в течение 48 ч — 54%, при этом происходит очень интенсивное начальное поглощение воды, которое позже замедляется, и через 72 ч замачивания влажность семян равна 56% (Леманн, Айхеле, 1936).

Наши предшествующие исследования (Шнайдер, Прийлинн, 1972; Прийлинн и др., 1973) показали явную зависимость эффективности обработки этиленмином от метаболического состояния семян. В этих опытах наибольшая частота перестроек хромосом в меристеме первичных корней пшеницы наблюдалась в вариантах воздушно-сухих семян и семян после 12 и 16 ч замачивания. По всей вероятности, повышенная чувствительность набухающих семян к действию этиленмина, отмеченная через 12 и 16 ч от начала их замачивания, связана с вступлением клеток зародыша семени в фазу синтеза ДНК.

В целях дальнейшего выяснения влияния метаболического состояния семян пшеницы на эффективность действия химических мутагенов был проведен опыт, в котором воздействию мутагенами подвергались семена после 16 ч замачивания, т. е. в один из наиболее чувствительных к обработке периодов.

Материал и методика

Опытным материалом служили семена яровой пшеницы сортов 'Ленинградка' и 'Саппо'. Воздушно-сухие и предварительно замоченные в водопроводной воде в течение 16 ч семена обрабатывали растворами N-нитрозо-N-метилмочевины (НММ) в 0,01 и 0,02%-ных концентрациях и 1,4-бисдиазоацетилбутана (ДАБ) в 0,05, 0,10 и 0,15%-ных концентрациях. Обработка длилась 12 ч при температуре 21 °С и рН 5,8. После 1,5-часовой промывки проточной водой часть семян высевалась в поле по 1300 зерен в варианте. Другая часть прорастивалась в чашках Петри,

и для цитологического анализа корешки проростков длиной до 1 см фиксировались в ацеталкоголе (1:3), окрашивались по Фельгену, и временные давленные препараты просматривались под световым микроскопом. В первых митозах меристемы корней подсчитывали число клеток, находящихся на разных фазах клеточного деления, определяли число клеток в ана- и телофазах с хромосомными перестройками, приходящееся на 100 клеток в этих фазах деления, и среднее число клеток (интерфазных и делящихся) с микроядрами на один корень (меристематическую его часть). В среднем в каждом варианте было просмотрено около 3000 ана- и телофаз. Физиологическое действие мутагенов и роль влажности семян оценивали по их всхожести, выживаемости растений, фертильности колосьев и темпу прироста растений в высоту. Учитывались также растения с морфологически измененными признаками.

Результаты исследований

Как видно из табл. 1, токсическое действие на замоченные семена оказывала повышенная концентрация НММ (0,02%). Так, при полевой всхожести 87% у сорта 'Ленинградка' и 74% у сорта 'Саппо' через 6—7 недель вегетации почти все растения этого варианта погибли. Обработка пониженной концентрацией НММ (0,01%) сухих и замоченных семян не привела к гибели растений.

Существенным было действие НММ на прирост растений и прохождение основных фаз. Обработка семян НММ вызывала замедление роста растений по сравнению с ростом растений в контроле, причём торможение сказывалось сильнее у растений, выросших из замоченных семян (рис. 1). Отрицательного влияния ДАБ на рост растений не отме-

Таблица 1

Влияние обработки семян пшеницы НММ и ДАБ на жизнедеятельность растений М,

| Варианты опыта | 'Ленинградка' | | | | 'Саппо' | | | |
|---------------------------------|---------------|-----------------|------------------------------------|---------------------------------------|--------------|-----------------|------------------------------------|---------------------------------------|
| | Всхожесть, % | Выживаемость, % | Дни от посева до появления всходов | Дни от появления всходов до колошения | Всхожесть, % | Выживаемость, % | Дни от посева до появления всходов | Дни от появления всходов до колошения |
| Воздушно-сухие семена | | | | | | | | |
| Контроль | 96,0±2,12 | 86,3±1,58 | 9 | 20 | 83,3±2,35 | 80,3±2,92 | 11 | 24 |
| НММ 0,01% | 93,0±3,46 | 87,0±5,29 | 9 | 21 | 83,5±4,69 | 82,3±3,08 | 11 | 23 |
| НММ 0,02% | 94,8±2,35 | 89,3±0,70 | 10 | 27 | 82,9±1,43 | 72,0±1,00 | 12 | 29 |
| ДАБ 0,05% | 93,2±2,55 | 89,3±1,58 | 10 | 18 | 83,8±1,23 | 84,7±5,52 | 11 | 22 |
| ДАБ 0,10% | 95,5±2,55 | 92,7±3,24 | 9 | 19 | 78,7±7,11 | 75,0±6,44 | 11 | 22 |
| ДАБ 0,15% | 92,3±1,73 | 87,3±2,55 | 10 | 19 | 82,9±2,65 | 79,7±8,52 | 11 | 22 |
| Замоченные (16 ч) семена | | | | | | | | |
| Контроль | 95,0±2,65 | 89,0±3,00 | 8 | 20 | 80,5±5,52 | 77,7±5,70 | 10 | 24 |
| НММ 0,01% | 94,5±2,90 | 91,3±4,64 | 9 | 26 | 80,5±1,41 | 71,7±2,55 | 11 | 26 |
| НММ 0,02% | 86,9±2,65 | 0 | 14 | Погибли | 74,4±4,36 | 0,1±0,01 | 14 | Погибли |
| ДАБ 0,05% | 95,1±2,12 | 87,0±5,57 | 8 | 19 | 81,0±7,68 | 80,1±10,82 | 10 | 23 |
| ДАБ 0,10% | 92,5±5,34 | 89,0±5,20 | 10 | 20 | 84,5±4,00 | 77,7±8,46 | 10 | 23 |
| ДАБ 0,15% | 93,9±1,58 | 91,3±0,70 | 10 | 20 | 78,2±2,45 | 80,0±8,89 | 10 | 24 |

'САППО'

Воздушно-сухие семена Замоченные 16ч семена

'ЛЕНИНГРАДКА'

Воздушно-сухие семена Замоченные 16ч семена

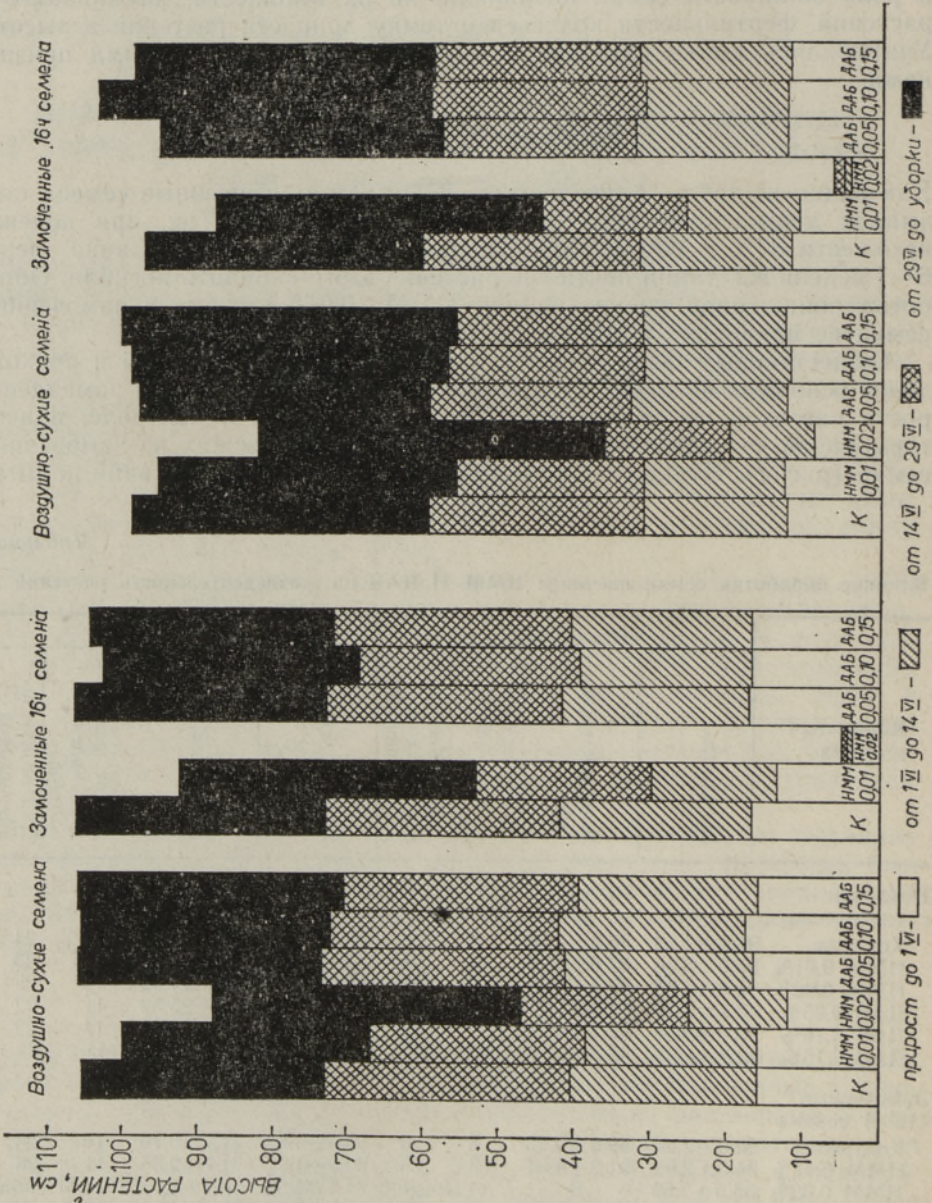
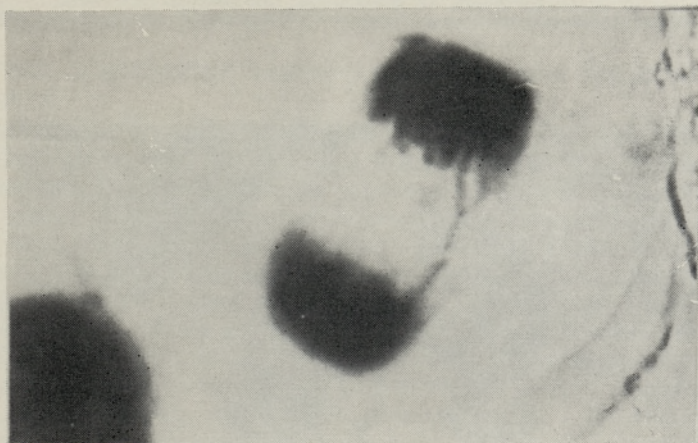
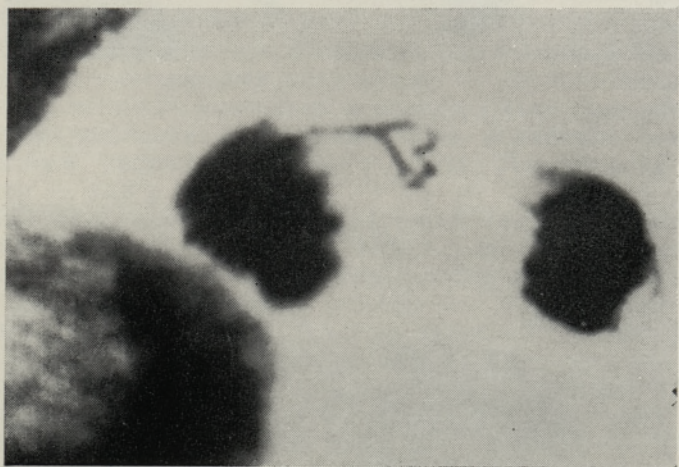


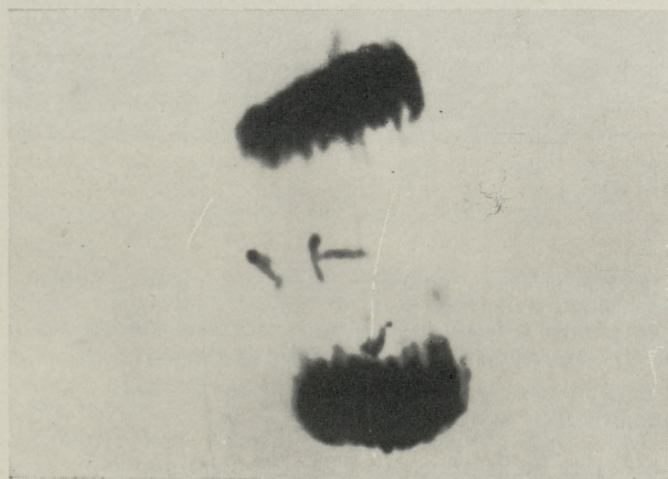
Рис. 1. Прирост в высоту у растений пшеницы после обработки семян НММ и ДАБ.



a



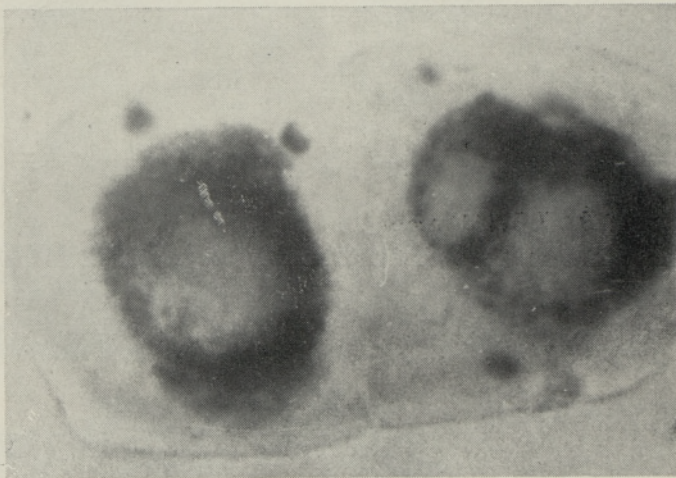
b



c



а



б

Рис. 2. Нарушения в митозе, вызванные обработкой семян химическими мутагенами: мост (а), фрагментированный мост (б), фрагменты и фрагментированный мост (в) и отстающая хромосома в анафазе (г), микроядра в интерфазе (д).

чено, наоборот, в некоторых вариантах наблюдалась тенденция к стимуляции роста.

НММ значительно замедлила также прохождение растениями фаз развития. Период от появления всходов до колошения у сорта 'Ленинградка' увеличился на 6—7 дней, а у сорта 'Саппо' — на 2—5 дней по сравнению с таковым у контрольных растений. Обработка ДАБ практически не влияла на продолжительность фенофаз у сорта 'Ленинградка', а у сорта 'Саппо' несколько ускорила развитие, в особенности прохождение фазы от появления всходов до колошения (см. табл. 1). Следует отметить, что у обоих сортов при всех использованных концентрациях НММ и ДАБ растения в вариантах обработки замоченных семян проходили все фазы от появления всходов до колошения медленнее, чем растения в вариантах обработки сухих семян. В связи с неблагоприятными погодными условиями лета 1977 года созревание пшеницы происходило в более поздние сроки и неравномерно. Отставание в развитии растений после обработки семян НММ, наблюдавшееся в ходе вегетации, отмечено и при уборке.

При анализе растений на поле и после уборки были выделены формы с морфологически измененными признаками — крупноколосые, остистые, с деформированными колосками и прочие. Самое большое количество измененных растений отмечалось после обработки замоченных семян 0,01%-ным раствором НММ: у сорта 'Ленинградка' — 37,9, у сорта 'Саппо' — 12,8% колосьев.

После обработки семян НММ у растений заметно увеличивалось количество стерильных колосков (до 45% и более). После обработки семян ДАБ озерненность колосьев, особенно у сорта 'Ленинградка' была выше, чем у контрольных растений, что еще раз подтверждает положительное влияние обработки семян ДАБ на жизнедеятельность растений. Полученные результаты хорошо согласуются с литературными данными о более жестком действии НММ по сравнению с влиянием ДАБ (Зоз, 1969). После обработки семян растворами НММ возникало гораздо больше деформированных колосьев, чем после обработки ДАБ. Так, у сорта 'Ленинградка' при обработке замоченных семян 0,01%-ным раствором НММ было получено 29% деформированных колосьев, у сорта 'Саппо' — 14%, в то время как после обработки 0,15%-ным раствором ДАБ число деформированных колосьев составляло соответственно 8 и 1%. Как уже было отмечено, количество стерильных и полустерильных колосьев у сортов 'Ленинградка' и 'Саппо' после обработки НММ (0,02%) составляло свыше 45%, а после обработки ДАБ — не более 10%.

Для определения корреляций между количеством изменений в M_1 и выходом мутаций в последующих поколениях и установления характера наследственных изменений весь материал был посеян в поле в 1978 г. по семьям.

Сравнение реакций двух генотипов пшеницы выявило большую чувствительность сорта 'Ленинградка' к воздействию использованных мутагенов. У него отмечено больше измененных растений, и пик частоты изменений (суммарно морфологических и физиологических) находился при более низких концентрациях мутагенов. Заметную модифицирующую роль в этом сыграло также предварительное замачивание семян. Можно предположить, что большая изменчивость сорта 'Ленинградка' обусловлена его полигибридным характером (Наволоцкий, 1976).

Как показал цитологический анализ, обработка воздушно-сухих и предварительно замоченных семян пшеницы химическими мутагенами приводила к значительному увеличению числа клеток с микроядрами

Таблица 2

Частота нарушений хромосом у пшеницы после обработки семян химическими мутагенами

| Варианты опыта | Число просмотренных корней | | Число просмотренных ана-телофаз | | Процент ана-телофаз с нарушениями | | Среднее число клеток с микроядрами на 1 корень | |
|-----------------------|----------------------------|---------|---------------------------------|---------|-----------------------------------|----------|--|---------|
| | 'Ленинградка' | 'Саппо' | 'Ленинградка' | 'Саппо' | 'Ленинградка' | 'Саппо' | 'Ленинградка' | 'Саппо' |
| Воздушно-сухие семена | | | | | | | | |
| Контроль | 20 | 29 | 3398 | 5995 | 3,3±0,30 | 0,9±0,12 | 0,5 | 1,1 |
| НММ 0,01% | 20 | 20 | 3279 | 4101 | 1,0±0,17 | 0,7±0,13 | 1,7 | 4,7 |
| НММ 0,02% | 24 | 21 | 3607 | 3622 | 3,3±0,30 | 3,2±0,29 | 36,3 | 45,0 |
| ДАБ 0,05% | 20 | 20 | 5041 | 2432 | 1,3±0,16 | 2,8±0,33 | 1,8 | 0,8 |
| ДАБ 0,15% | 22 | 20 | 4659 | 3122 | 1,2±0,16 | 1,1±0,18 | 5,7 | 3,0 |
| Замоченные семена | | | | | | | | |
| Контроль | 21 | 24 | 4087 | 4478 | 2,1±0,22 | 2,4±0,23 | 0,3 | 6,3 |
| НММ 0,01% | 20 | 19 | 3938 | 3310 | 1,1±0,17 | 2,8±0,28 | 41,5 | 40,6 |
| НММ 0,02% | 20 | 20 | 2650 | 3458 | 14,3±0,68 | 3,0±0,29 | 184,3 | 179,6 |
| ДАБ 0,05% | 20 | 23 | 4280 | 3663 | 0,5±0,10 | 1,0±0,16 | 1,2 | 4,8 |
| ДАБ 0,15% | 22 | 20 | 4826 | 3139 | 1,0±0,15 | 1,1±0,18 | 5,6 | 4,6 |

на один корень, причем наиболее существенным в этом отношении было действие высокой концентрации НММ как на сухие, так и на замоченные семена — 36 и 184 клетки у сорта 'Ленинградка' и 45 и 179 — у сорта 'Саппо' (табл. 2). Как известно, число клеток с микроядрами представляет собой чувствительный тест мутагенного действия (Heddle, 1973; Hess и др., 1973). У обоих сортов низкая доза НММ увеличивала число клеток с микроядрами при действии на замоченные семена (41,5 и 40,6) по сравнению с числом их после обработки сухих семян (1,7 и 4,7), в то время как действие ДАБ было значительно менее эффективным. Обработка высокой дозой НММ предварительно замоченных семян вызывала значительное увеличение числа клеток с хромосомными перестройками — мостами, фрагментами, отстающими хромосомами в ана-телофазах (рис. 2) — по сравнению с таковым как в контроле, так и в вариантах опытов с сухими семенами. Низкая доза НММ и все использованные дозы ДАБ отличались слабой цитогенетической активностью, и частота аберраций хромосом в этих вариантах опыта не превышала уровня контроля или была даже ниже его. Эти данные подтверждают имеющиеся в литературе указания относительно того, что ДАБ является мутагеном, индуцирующим преимущественно генные мутации без нарушения целостности хромосом (Рапопорт, Зоз, 1962). Отмеченное снижение процента перестроек хромосом после воздействия ДАБ можно объяснить стимулирующим эффектом этого мутагена, проявляющимся не только при низких, но и при более высоких дозах (Набойщиков и др., 1968; Ахун-заде, 1977; Григорова, 1977). Можно предположить, что ДАБ, взаимодействуя в ходе внутриклеточных биохимических процессов с метаболитами клетки, способствует снижению уровня спонтанного мутирования, наблюдаемого в контрольных вариантах.

ЛИТЕРАТУРА

- Ахун-заде А. И. Генетические эффекты супермутагенов и гамма-лучей у гороха. — В кн.: Химический мутагенез и создание сортов интенсивного типа. М., 1977, с. 143—150.
- Григорова Н. В. Изучение цитогенетического действия супермутагенов в связи со спектром индуцированных мутаций. — Автореф. дис. канд. биол. н. М., 1977, с. 19.
- Зоз Н. Н. Закономерности действия химических мутагенов на высшие растения. — Автореф. дис. докт. биол. н. Новосибирск, 1969.
- Леманн Е., Айхеле Ф. Физиология прорастания семян злаков. М.—Л., 1936.
- Набойщиков А. М., Газизов К. Г., Ионов Э. Ф., Фаизов Н. М., Зазулина Л. В. Мутагенное действие N-нитрозоалкилмочевин и 1,4-бисдиазоацетилбутана на яровую пшеницу в разных экологических условиях. — В кн.: Мутационная селекция. М., 1968, с. 13—24.
- Наволоцкий А. В. Селекция яровой пшеницы в СЗНИИСХ. — В кн.: Научные труды Северо-западного НИИ сельского хозяйства, вып. 37. Л., 1976, с. 68—77.
- Рапопорт И. А., Зоз Н. Н. Химические мутации без нарушения целостности хромосом. — Цитология, 1962, т. 4, № 3, с. 330—384.
- Прийлинн О., Шнайдер Т. М., Шангин-Березовский Г. О зависимости цитогенетического эффекта от состояния семян во время обработки этиленмином. — В кн.: Чувствительность организмов к мутагенным факторам и возникновение мутаций. Вильнюс, 1973, с. 129—138.
- Шнайдер Т., Прийлинн О. Зависимость цитогенетического действия этиленмина от температуры и влажности семян пшеницы. — Изв. АН ЭССР, Биол., 1972, т. 21, № 1, с. 33—39.
- Heddle, J. A. A rapid *in vivo* test for chromosomal damage. — Mutation Res., 1973, v. 18, N 2, p. 187—190.
- Hess, R., Langauer, M., Rathenberg, R., Strasser, F., Müller, D. Evolution of the «micronucleus test» in comparison with chromosome studies on germ cells and on somatic cells of *Chinese hamsters* treated with cyclophosphamide. — Mutation Res., 1973, v. 21, N 1, p. 31.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
18/VIII 1978

Oskar PRIILINN, Juta SCHIFRIN,
Tamara SNAIDER, Tatjana DOROKHOVA

KEEMILISTE MUTAGEENIDE TOIME SÖLTUVUS NISUSEEMNETE
FÜSIoloogilISEST SEISUNDIST TÖÖTLEMISE AJAL

Artiklis on käsitletud N-nitroso-N-metüülkarbamiidi (NMK) ja 1,4-bisdiasoatsetüülbutaani (DAB) mõju suviniisu kasvule ja arenemisele ning tsütogeneetilistele muutustele, olenevalt mutageeni kontsentratsioonist ja seemnete füsioloogilisest seisundist. Katsete põhjal on konstateeritud NMK kõrgemate kontsentratsioonide tugevat toksilist toimet niisutatud seemnete, samuti DAB mõningast stimuleerivat mõju.

Oskar PRIILINN, Juta SCHIFRIN,
Tamara SHNAIDER, Tatyana DOROKHOVA

EFFECTS OF CHEMICAL MUTAGENS ON COMMON WHEAT DEPENDING
ON THE PHYSIOLOGICAL STATE OF SEEDS DURING THE TREATMENT

Air-dry and presoaked (during 16 h) seeds of the spring wheat varieties 'Leningradka' and 'Sappo' were treated by chemical mutagens — N-nitroso-N-methylurea (NMU) concentrations 0.01 and 0.02% and 1,4-bisdiasoacetylbutan (DAB) concentrations 0.05, 0.10 and 0.15%.

Seed germination, surviving of plants, rate of plant development and growth were assessed during the period of vegetation. Cytological analysis of mitosis in root tip meristematic tissues was carried out.

Data received in these experiments showed a strong toxic effect of high concentration of NMU on the presoaked seeds. Some stimulating effect of DAB was stated.