

Оскар ПРИЙЛИНН, Тойво ОРАВ

## СРАВНЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИХ МУТАГЕНОВ НА ПШЕНИЦУ И ЯЧМЕНЬ ПРИ РАЗНЫХ рН РАСТВОРА ОБРАБОТКИ СЕМЯН

С начала 70-х годов в печати стали появляться данные о значительном влиянии кислотности среды при обработке семян растений химическими мутагенами типа нитрозоалкилмочевин на их токсичность и генетические эффекты, различия которых при разных рН могли быть весьма большими. Например, в наших опытах по обработке семян N-нитрозо-N-метилмочевинной (НММ) при наиболее эффективных концентрациях (1,6 мМ, рН 7) частота хлорофильных мутаций в  $M_2$  у ячменя была 2,58%, а при рН 5 и меньшей концентрации 0,4 мМ — 23,5%, т. е. максимальная частота была при концентрации в 4 раза слабее, чем в первом случае и по абсолютному значению в 9 раз больше. Еще более контрастный эффект дала обработка нитрозометилбиуретом (НМБ). При наиболее эффективной его концентрации и рН 7 частота мутаций составляла 1,05, а при рН 5 — 20,56%, т. е. разница почти двадцатикратная (Орав и др., 1978).

Для объяснения рН-зависимости генетических эффектов, которая, кстати, наблюдалась у всех изученных химических мутагенов, высказано предположение (Veleminsky, Gichner, 1970), что меньшая токсичность мутагена при рН 7 обуславливается более быстрым его распадом и снижением химической активности до проникновения к ядрам клеток зародышевой меристемы семян, показано (Серебряный и др., 1977), что определенную роль в этом может играть и изменение хода первичных химических реакций мутагена с генетическим веществом. Карбамоилирование ДНП мало изменяется с изменением рН от 7 до 5, а метилирование ДНК в составе ДНП с уменьшением рН резко падает, в результате чего повышается роль повреждения белка в общей картине вызванных мутагеном эффектов.

В отделе генетики растений Института экспериментальной биологии АН ЭССР с 1972 г. проводят исследование физиологического и генетического действия ряда химических мутагенов на три сорта яровой пшеницы: 'Норрена', 'Диамант' и 'Ленинградка' и также на три сорта ярового ячменя: 'Харьковский 306', 'Отра' и 'Ингрид'. Вышеприведенные данные о частоте хлорофильных мутаций в наиболее эффективных вариантах обработки получены в предварительных опытах с ячменем 'Харьковский 306', тогда же были подобраны и более или менее сравнимые по эффекту концентрации для разных рН в основном опыте. Поскольку подобных опытов с пшеницей не проводили, у этой культуры с некоторыми мутагенами при рН 5 погибли растения почти всех вариантов. Не было и предварительных опытов с изоцианатом калия (KNCО) и примененные в основном опыте дозы не дали достаточного генетического эффекта (Орав и др., 1976).

Воздушно-сухие семена как ячменя, так и пшеницы обрабатывали растворами мутагенов в Институте химической физики АН СССР по



единой методике: замачивали в фосфатно-цитратном буферном растворе (рН 5 или рН 7) в течение 18 ч при комнатной температуре. Однако, так как опыты были поставлены самостоятельно и сравнение эффектов у разных культур не предусматривалось, то совпала только часть концентраций, и из 7 примененных для пшеницы и 6 примененных для ячменя мутагенов сравнить можно лишь четыре: НММ, НМБ, N-нитрозо-N-этилмочевину (НЭМ) и N-нитрозо-N-диметилмочевину (НДММ). По одинаковой методике подсчитан процент сохранившихся до уборки растений и измерена их высота, снижение которой можно рассматривать как показатель депрессии, вызванной действием мутагена.

Для генетического сравнения нет однотипных данных, так как для пшеницы определены цитогенетические отклонения в части вариантов обработки НДММ и НЭМ, у ячменя — частота мутаций в  $M_2$  и  $M_3$  во всех вариантах. Поэтому сравнение может быть только приближенно-оценочным по степени модификации разных эффектов в зависимости от рН раствора мутагена. Опыты с пшеницей проводили наши сотрудники Т. Шнайдер, А. Вяляютс и Ю. Пярди, а опыты с ячменем — И. Орав и К. Рандалу.

Схема сравнимых вариантов приведена в табл. 1, где показано наличие нескольких характерных типов реакции по выживаемости растений в случае применения разных мутагенов. Первую группу представляют собой генетически наиболее эффективные, а также наиболее токсичные мутагены НММ и НЭМ. Показатели средней выживаемости для всех сортов (как при рН 5, так и рН 7) настолько хорошо совпадают у обеих культур, что практически сливаются в один ряд. Очень четко выражена рН-зависимость токсичности. Различия между сортами случайные, лишь ячмень 'Отра' несколько более чувствителен к этим мутагенам, чем другие сорта.

Сорта разных культур по-разному реагируют на действие НДММ и НМБ. Ячмень малочувствителен к действию НДММ как при рН 5, так и рН 7. То же можно сказать и о генетическом действии НДММ. Частота хлорофильных мутаций в некоторых вариантах опыта ниже, чем в контрольных, где семена замачивали в дистиллированной воде и буферных растворах (Прийлинн и др., 1976, с. 41). Как показывает табл. 1, выживаемость одинакова при примененных концентрациях как в случае рН 5, так и рН 7.

На пшеницу же НДММ при рН 5 действует губительно — частично гибнут растения всех сортов при 1,0 мМ (выживаемость от 14,7 до 19,0%) и полностью при концентрации от 2,0 мМ. Степень выживаемости ниже, чем у ячменя и при рН 7. Относительно пшеницы, к сожалению, имеются данные только при рН 5, которые говорят об исключительной устойчивости этой культуры к НМБ. В выживаемости растений ячменя существуют четкие различия при рН 5 и рН 7. Обработка концентрацией 1,5 мМ (рН 5) приводит почти к полной гибели растений. Напомним, что и разница в генетических эффектах при применении НМБ была наиболее контрастной (Орав и др., 1978).

Следующая проблема — депрессия роста растений  $M_1$  в результате воздействия химическими мутагенами. Объем статьи не позволяет остановиться на динамике депрессии в ходе развития растений, поэтому в качестве критерия принята высота растений при уборке, измеренная тем же способом и для ячменя, и для пшеницы. Результаты измерений приведены в табл. 2. Для удобства сравнения приведены не абсолютные цифры, а проценты от соответствующих контрольных вариантов.

В табл. 2 еще меньше сравнимых величин, чем в табл. 1, потому что во многих вариантах опыта погибли все растения или сохранились



Выживаемость растений М<sub>1</sub> после обработки разными химическими мутагенами при рН 5 и рН 7

Мутаген	рН	Концент-рация раствора в мм	Пшеница			Ячмень			Средние по всем сортам	
			'Нор-рена'	'Диа-мант'	'Ленин-градка'	'Харь-ковский 306'	'Отра'	Инг-рид'	для пше-ницы	для ячменя
НММ	5	0,5				66,4	20,1	27,5	—	38,0
		1,0	0,0	0,0	17,0	0,0	0,0	0,1	5,7	0,0
		1,5				0,0	0,0	0,6	—	0,2
		2,0	0,0	0,0	0,0				0,0	—
		2,5	0,0	0,0	0,0				0,0	—
	7	1,0				74,0	44,3	62,2	—	60,2
		2,0	35,8	61,0	68,8	23,2	12,1	34,3	55,2	23,2
		3,0	45,0	45,7	46,0	0,0	0,3	1,8	45,6	0,7
		4,0	14,2	1,5	0,0				5,2	—
НЭМ	5	0,5				79,2	46,0	55,0	—	60,1
		1,0				60,9	28,5	33,3	—	40,9
		1,5				0,9	2,1	5,2	—	2,7
		2,5	0,0	0,0	0,0				0,0	—
		3,0	0,0	0,0	0,0				0,0	—
	7	4,0	0,0	0,0	0,9				0,0	—
		1,0				82,9	45,4	66,6	—	65,0
		2,0				72,0	56,9	65,1	—	64,7
		3,0	75,4	61,5	61,9	74,5	51,4	63,6	66,3	63,2
		5,0	53,6	47,5	39,6				46,9	—
НДММ	5	6,0	14,6	23,0	3,3				13,6	—
		0,5				72,6	55,6	68,5	—	65,6
		1,0	19,0	14,7	19,0	80,6	50,5	67,0	17,6	66,0
		1,5				68,9	51,6	61,3	—	60,6
		2,0	0,0	0,0	0,0				0,0	—
	7	2,5	0,0	0,0	0,0				0,0	—
		1,0				69,1	50,8	67,0	—	62,3
		2,0	63,8	59,5	63,0	72,5	61,5	68,3	62,1	67,4
		3,0	64,4	59,2	61,4	78,9	61,4	70,3	61,8	70,2
		4,0	42,6	50,7	51,6				48,3	—
НМБ	5	5,0	28,0	54,4	25,8				36,1	—
		0,5	66,0	62,7	66,8	66,4	50,0	61,9	65,2	59,4
		1,0	59,8	62,2	65,0	29,5	14,7	35,8	62,3	26,7
		1,5	60,0	55,8	64,4	0,7	0,2	6,8	60,1	2,6
	7	1,0				71,6	57,4	67,2	—	65,4
		2,0	Вариантов опыта с пшеницей нет			71,8	59,7	66,7	—	66,1
		3,0				71,6	50,7	68,3	—	63,5

лишь отдельные, средние данные которых случайны и имеют большую ошибку. Такие варианты отмечены в табл. 2 крестиками. В большинстве остальных опытов измерено по 100—200 растений и статистически существенной является уже небольшая разница в 3—4 см (что примерно соответствует такому же числу процентов).

По изучаемому показателю сравниваемые культуры ведут себя по-разному. Реакция всех сортов пшеницы пропорционально зависит от концентрации мутагенного воздействия, кроме НМБ, воздействие которого практически никакой реакции не дает. Так как влияние



Таблица 2

Средняя относительная высота растений (в процентах от средних контрольных вариантов) после обработки разными химическими мутагенами при рН 5 и рН 7

Мутаген	рН	Концентрация раствора в мМ	Пшеница			Ячмень			Средние по всем сортам	
			'Норрена'	'Диамант'	'Ленинградка'	'Харьковский 306'	'Отра'	Ингрид'	для пшеницы	для ячменя
НММ	5	0,5				82,7	71,3	96,1		83,4
		1,0	+	+	84,7	+	+	+	84,7	+
		1,5				+	+	+		+
		2,0	+	+	+				+	
		2,5	+	+	+				+	
НММ	7	1,0				92,0	91,6	103,5		95,7
		2,0	81,6	87,3	94,6	72,1	70,9	95,2	87,8	79,4
		3,0	68,7	77,3	79,7	+	+	67,5	75,2	67,5
		4,0	78,1	49,5	+				63,8	
НЭМ	5	0,5				114,3	80,5	88,5		94,4
		1,0				80,0	83,7	91,0		84,9
		1,5				89,7	91,3	93,0		91,3
		2,5	+	+	+				+	
		3,0	+	+	+				+	
		4,0	+	+	+				+	
НДММ	7	1,0				108,0	76,1	96,3		93,5
		2,0				103,5	86,7	96,3		95,5
		3,0	89,0	93,9	96,4	103,9	102,9	87,4	93,1	98,1
		5,0	76,9	90,4	78,2				81,8	
		6,0	64,0	79,6	56,0				66,5	
НДММ	5	0,5				110,9	120,7	91,2		107,6
		1,0	61,8	57,4	69,8	108,5	82,6	94,9	63,0	95,3
		1,5				87,4	97,9	96,1		93,8
		2,0	+	+	+				+	
		2,5	+	+	+				+	
НМБ	7	1,0				99,4	97,3	91,1		95,9
		2,0	81,9	89,9	87,3	115,3	117,1	91,7	86,4	108,0
		3,0	80,3	81,7	83,4	109,7	115,1	95,4	81,8	106,7
		4,0	68,8	85,0	74,0				75,9	
		5,0	61,3	73,2	72,1				68,9	
НМБ	5	0,5	95,1	92,3	96,9	83,1	95,8	78,7	94,8	85,9
		1,0	94,8	93,3	97,2	68,8	65,4	87,5	95,1	73,9
		1,5	94,5	94,1	96,9	54,2	+	84,6	95,2	69,4
НМБ	7	1,0				90,9	99,6	96,1		95,5
		2,0	Вариантов опыта с пшеницей нет			87,5	126,0	94,6		102,7
		3,0				99,4	111,7	96,9		102,7

НМБ/рН 5 вызывает депрессию роста растений только сорта 'Отра', то объяснить это отклонение можно недостаточно высокими примененными концентрациями мутагена.

У ячменя же четкая зависимость реакции от концентрации имеется только при воздействии НММ и НМБ при рН 5. В ряде же вариантов обработки двух сортов — ('Харьковский 306' и 'Отра') выявилась стимуляция роста (0,5 мМ НДММ, рН 5; 2—3 мМ НДММ, рН 7). Кроме того, достоверный эффект стимуляции имеет место у сорта 'Харьковский 306' при 0,5 мМ с рН 5 при обработке НЭМ, а у сорта 'Отра' при



обработке НМБ (2—3 мМ, рН 7). В большинстве же вариантов обработки ячменя влияние мутагенов на процессы роста практически отсутствует, или же не имеет дозовой зависимости.

На основе изучения физиологического действия химических мутагенов на пшеницу и ячмень можно сделать следующие выводы более общего плана, особенно при сравнении эффектов химических мутагенов с изученными нами ранее радиационными воздействиями (Орав и др., 1972):

1) полиплоидное состояние изученных сортов пшеницы не создает защищенности к химическим воздействиям по сравнению с диплоидным состоянием ячменя; в этом состоит отличие химического поражения от радиационного, где такая защищенность весьма значительна (Раук, 1982);

2) в подобного рода опытах ячмень теряет преимущество модельного объекта, которое отмечено в радиобиологических опытах, где биологический эффект облучения пропорционален дозе в весьма широком диапазоне доз (Ebert, Varber, 1961). Сохраняется другое преимущество — высокая частота мутирования, отмеченная уже Стадлером (Stadler, 1928).

Сравнение генетических эффектов (цитогенетического у пшеницы и мутагенного у ячменя) проведено в виде трехфакторного дисперсионного анализа без каких-либо трансформаций, без учета культуры, так как сравнивали разное количество сортов пшеницы и ячменя, иначе роли культур оказались бы неравными, а между сортами по воздействиям имела место довольно большая изменчивость. Результаты анализа приведены в табл. 3. Роли мутагенного воздействия (мутаген, концентрация) и рН раствора мутагена оказались высокосignификантными — первая на уровне  $<0,01$ , вторая почти на уровне  $0,01$  (табл. 3). Все взаимодействия незначительны, далеки даже от уровня  $0,05$ . Таким образом, можем констатировать невысокую роль генетической специфичности мишени — генотипа подопытного сорта, опять вызывающую невольное сравнение с совсем иной картиной в радиационных опытах.

Проведенное в настоящей статье сравнение физиологических и генетических эффектов, вызванных четырьмя химическими мутагенами у ячменя и пшеницы, позволяет сделать следующие выводы:

1. Полиплоидность пшеницы не создает защищенности в отношении наиболее эффективных мутагенов НММ и НЭМ, при воздействии кото-

Таблица 3

Результаты дисперсионного анализа зависимости генетических эффектов у ячменя и пшеницы от факторов обработки химическими мутагенами

Тип разброса	S	df	s <sup>2</sup>	F <sub>факт</sub>	F <sub>табл</sub>	
					0,05	0,01
Суммарный	95 118	29				
По сортам	12 184	4	3 046	3,06	3,84	
По рН	10 983	1	10 983	11,04	5,32	11,26
По мутагенным воздействиям	36 817	2	18 408	18,51	4,46	8,65
Взаимодействия:						
сорт/рН	2 528	4	632	0,63		
сорт/воздействие	18 648	8	2 331	2,34	3,44	
рН/воздействие	6 004	2	3 002	3,01	4,46	
Остаточный	7 954	8	994			



рыми сорта ячменя и пшеницы ведут себя практически как сорта одной и той же культуры. При использовании более сложного биалкилирующего НДММ в ответах на воздействие появляются различия в сторону большей чувствительности у пшеницы.

2) У двух сортов ячменя некоторые мутагенные воздействия стимулировали рост, чего не наблюдалось у пшеницы. Прежде всего это относится к вариантам обработки НДММ, а у сорта 'Отра' — НМБ при рН 7.

3) На проявление генетических эффектов мутагенов влияли как характер воздействия (мутаген и его концентрация), так и рН раствора обработки, однако эти результаты следует рассматривать как предварительные и этот вопрос требует дальнейшего исследования и постановки специальных опытов.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Орав И., Зоз Н., Орав Т., Серебряный А., Рандалу К. Частота хлорофильных мутаций у ячменя после обработки химическими мутагенами при разных рН. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1976, 25, 249—251.
- Орав Т., Шангин-Березовский Г., Орав И. Радиационный мутагенез и модифицирующие его условия. Таллин, 1972.
- Орав Т., Зоз Н., Орав И., Серебряный А., Калам Ю., Рандалу К. Специфичность спектра хлорофильных мутаций у ячменя после обработки химическими мутагенами при разных рН. — Изв. АН ЭССР, Биол., 1978, 27, 70—74.
- Прийлинн О., Шнайдер Т., Орав Т. Исследования по химическому мутагенезу у сельскохозяйственных растений. Таллин, 1976.
- Раук Х. К вопросу о связи радио- и хемоустойчивости растений с некоторыми клеточными параметрами. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1982, 31, 30—36.
- Серебряный А. М., Зоз Н. Н., Суйкова Л. А., Рандалу К. Х., Бабаев М. Ш., Горин А. И., Цейтлин П. И. О природе влияния рН на генетические и физиологические эффекты, вызываемые N-нитрозо-N-алкилмочевинами у растений. — Докл. АН СССР, 1977, 232, 691—694.
- Ebert, M., Barber, D. A. The effects of X-rays on the extension growth of barley roots. — Intern. J. Radiat. Biol., 1961, 3, 587—593.
- Stadler, L. I. Mutations in barley induced by X-ray and radium. — Science, 1928, 68, 186—187.
- Veleminsky, J., Gichner, T. The influence of pH on the mutagenic effectiveness of nitroso compounds in Arabidopsis. — Mutation Res., 1970, 10, 43—52.

Институт экспериментальной биологии  
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию  
28/II 1983

Oskar PRIILINN, Toivo ORAV

#### KEEMILISTE MUTAGEENIDE TOIME NISULE JA ODRALE SEEMNETE TÖÖTLEMISLAHUSE ERINEVA pH KORRAL

Kirjeldatud katsetes töödeldi suviniisusortide 'Norröna', 'Diamant' ja 'Leningradka' ning suviõdrasortide 'Harkovi 306', 'Otra' ja 'Ingrid' seemneid erinevate mutageenide lahustega, mille pH oli 5 ja 7, kusjuures võrreldavad andmed saadi mutageenide N-nitroso-N-metüülkarbamiidiga (NMK), N-nitroso-N-etüülkarbamiidiga (NEK) ja N-nitroso-N-dimetüülkarbamiidiga (NDMK) ning osalt ka nitrosometüülbiureediga (NMB).

Taimede ellujäämine erineva tugevusega mõjutuste korral näitas, et nisu polüploidus ei anna kaitsetoimet tugevatoimeliste keemiliste mutageenide suhtes (nagu see on ioniseerivate kiirguste suhtes); veel rohkem — kasvudepressiooni järgi otsustades on nisu enamasti tundlikum kui oder. Kahel odrasordil kutsus suhteliselt nõrgem NDMK-mõjutus esile kasvustimulatsiooni.

Tsütogeneetilise ja geneetilise toime dispersioonanalüüs näitas, et geneetilist toimet määravad mõjutuse iseloom (mutageen ja selle kontsentratsioon) ning mõjutuslahuse pH, sordi geneetilistel iseärasustel ning faktoritevahelistel koosmõjudel ei ole aga olulist toimet.



**COMPARATIVE STUDIES OF CHEMICAL MUTAGEN ACTIVITIES  
IN WHEAT AND BARLEY WITH DIFFERENT pH OF SOLUTION  
DURING THE TREATMENT OF SEEDS**

The seeds of spring wheat varieties 'Norröna', 'Diamant' and 'Leningradka', and the spring barley varieties 'Harkovsky 306', 'Otra' and 'Ingrid' were treated by solutions of chemical mutagens (N-nitroso-N-methylurea, N-nitroso-N-ethylurea and N-nitroso-N-dimethylurea). The survival of plants after mutagenic treatments with different values of pH and concentrations showed that there was no defensive reaction in allopolyploidy wheat genomes against the effects of chemical mutagens (in contrast to ionizing radiation). The wheat plants were more sensitive to mutagenic treatments than the barley plants, using as a criterium the delay in plant growth. Weak treatments of NDMU resulted in stimulating the growth of two barley varieties.