

Биология

УДК 575.24.581.15.581.3

Л. А. ГУКАСЯН, И. П. КАСПАРОВА

**МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ГУМАТА НАТРИЯ НА
ГЕНЕТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ
ГЕКСАХЛОРЦИКЛОГЕКСАНА**

На высокочувствительной тест-системе—волосках тычиночных нитей традесканции клона О2 изучено модифицирующее действие физиологически активного вещества гумата натрия (ГН) на генетический эффект хлорорганического инсектицида 1, 2, 3, 4, 5, 6—гексахлорциклогексана (ГХЦГ).

Выявлено значительное снижение уровня частоты индуцированных ГХЦГ мутаций при трехкратном поливе растений традесканции водными растворами ГН.

Применение химических средств защиты растений приводит к интенсивному росту химического загрязнения окружающей среды. Для предотвращения их побочного действия становится необходимым установление генетического контроля при их применении и поиск антимутагенных соединений, снижающих патологический эффект пестицидов. К числу подобных защитных веществ относится физиологически активная соль гуминовых кислот—гумат натрия, обладающий широким спектром действия на обменные процессы [1].

Установлено, что ГН поглощает из атмосферы соединения серы и фенолов, оказывая положительное действие на фотосинтетический аппарат растений и на их устойчивость к промышленному загрязнению [1]. Выявлена эффективность применения ГН в плодоводстве [2], декоративном цветоводстве [3], овощеводстве [4] и других отраслях народного хозяйства.

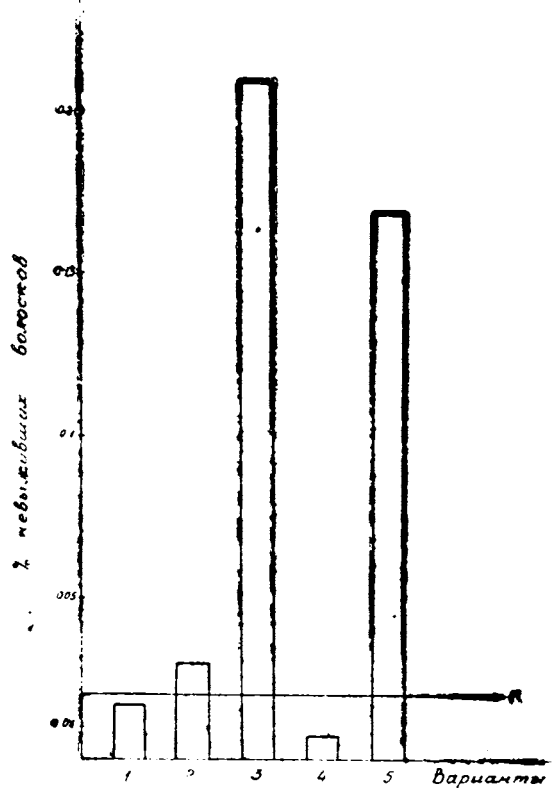
С целью оценки мутагенности пестицидов большая роль отводится растительным модельным тест-объектам как доступным и простым. К числу таких объектов относится традесканция клона О2, у которой волоски тычиночных нитей (ВТН) гетерозиготного по окраске цветка являются чувствительной тест-системой. Рецессивная розовая окраска проявляется при утере или мутировании доминантного аллеля [5].

В настоящей работе с использованием традесканции клона О2 было выявлено модифицирующее действие ГН на генетический эффект хлорорганического инсектицида 1, 2, 3, 4, 5, 6-гексахлорциклогексана, обладающего контактным и фумигатным свойствами и применяемого для борьбы с широким кругом сельскохозяйственных вредителей [6].

Материал и методика. Пестицид использовали исходя из расчета 1 г препарата на 1 кг почвы, что соответствует нормам его практического применения. Исследования проводились на тест-системе ВТН растений традесканции, посаженных в цветочные вазоны с указанной смесью почв. Применен метод трехкратного полива 0,1 и 0,005% концентрациями ГН, действие которых изучалось как отдельно, так и совме-

стно с обработкой ГХЦГ. В течение месяца проводили подсчет соматических розовых мутационных событий среди голубых клеток ВТН. Помимо соматических мутаций учитывали и морфологические изменения (разветвленные и невыжившие волоски). В каждом варианте было проанализировано от 15 до 45 тысяч ВТН. Критерием мутагенной активности пестицида и ГН служила кратность превышения частоты соматических мутаций спонтанного уровня. Полученные данные обработаны статистически.

Результаты и обсуждение. Проведенный анализ позволил установить, что контрольный уровень по розовым мутациям составляет $0,036 \pm 0,0003\%$, а в пересчете на один волосок— $0,0004 \pm 0,0001$. Сходные показатели отмечены при поливах 0,1 и 0,005% концентрациями ГН. Частота розовых мутационных событий, наблюдаемых при действии ГХЦГ, в 3 раза превышает контрольный уровень ($0,109 \pm 0,002\%$; $p < 0,001$): на волосок приходится $0,0011 \pm 0,0002$ мутаций. В зависимости от имеющихся концентраций растворов ГН значительно снижает частоту розовых мутационных событий индуцированных ГХЦГ (соответственно $0,048 \pm 0,001$ и $0,08 \pm 0,0002\%$) (см. табл.). Следовательно, при контакте ГН с пестицидом при трехкратном поливе растений традесканции в указанных концентрациях проявляются его защитные свойства. Возможный механизм физиологического действия гуминовых кислот заключается в содержании в их структуре 2,6-диалкилфенолов, ингибирующих процессы образования свободных радикалов [7]. Вероятно, поэтому на почвах, богатых перегноем, токсичность пестицидов снижается [4]. Предполагается, что в основе угнетающего действия пестицидов на клетку лежит ингибирование белок-синтезирующей системы, а применение ГН приводит к ускорению репарационных процессов и нормализации всей этой системы [8]. Угнетающее действие ГХЦГ на функциональную активность меристематических клеток и митотического аппарата клетки у традесканции вызывает потерю способности волосков к полному развитию (невыжившие волоски) и появление простых и более сложных разветвленных волосков. Предполагается, что последние возникают в результате гибели терминальной клетки с сохранением способности к делению последующих клеток [9]. Согласно нашим данным активное участие ГН проявлялось в нормализации нарушенного хода митотического деления клеток ВТН. Об этом свидетельствуют данные частоты невыживших волосков, достигшие максимума при действии ГХЦГ ($0,211 \pm 0,002\%$). Навысшая концентрация ГН



Частота невыживших волосков. К—контроль; 1—ГН 0,1%; 2. ГН 0,005%; 3. ГХЦГ; 4. ГХЦГ + 0,1% ГН; 5. ГХЦГ + 0,005% ГН (% ошибки не превышает 0,003).

ГН приводит к ускорению репарационных процессов и нормализации всей этой системы [8]. Угнетающее действие ГХЦГ на функциональную активность меристематических клеток и митотического аппарата клетки у традесканции вызывает потерю способности волосков к полному развитию (невыжившие волоски) и появление простых и более сложных разветвленных волосков. Предполагается, что последние возникают в результате гибели терминальной клетки с сохранением способности к делению последующих клеток [9]. Согласно нашим данным активное участие ГН проявлялось в нормализации нарушенного хода митотического деления клеток ВТН. Об этом свидетельствуют данные частоты невыживших волосков, достигшие максимума при действии ГХЦГ ($0,211 \pm 0,002\%$). Навысшая концентрация ГН

(0,1%) значительно снижает их частоту ($0,007 \pm 0,0003\%$) (см. рис.). Это еще раз подтверждает мнение о способности физиологически активных веществ гумусовой природы активизировать защитные процессы и нормализовать функциональную активность митотического аппарата клетки [8].

Исследования показали, что в спектре изменений в большинстве случаев встречались мутационные события, состоящие из 1—2 клеток. Зарегистрированы случаи целых розовых волосков, которые в максимальном количестве обнаружены в варианте с пестицидом (11 случаев), однако после полива растворами ГН их количество значительно уменьшилось (от 1 до 3 случаев). В некоторых вариантах обнаружены также множественные мутационные события. Это мутантные сектора, расположенные в одном и том же волоске и разделенные немутантными клетками. Показано, что большая часть множественных мутаций возникает не в результате случайной ассоциации независимых событий, а гетерозиготности хромосом дочерних клеток (после возникновения мутаций), которые способны выщеплять мутантные клетки в более поздних митотических делениях [10].

Наблюдения за расположением мутационных событий показали, что в контроле и в опытных вариантах в ВТН преобладало терминальное расположение мутантных секторов. В различных вариантах оно составляло от 4 до 8, а в субтерминальном положении—от 1 до 5 случаев. Редко встречались базальные мутантные сектора (от 1 до 2).

Анализ соматических мутаций в ВТН традесканции клона О2

Вариант	Число исследованных ВТН	Частота розовых мутационных событий		Мутационные события на волосок
		Число	% $\pm m$	
ГН 0,1%	23761	9	$0,037 \pm 0,0003$ $p > 0,05$	$0,0004 \pm 0,0001$
ГН 0,005	24163	11	$0,045 \pm 0,003$ $p > 0,05$	$0,0005 \pm 0,0001$
ГХЦГ	27388	30	$0,109 \pm 0,002$ $p < 0,001$	$0,0011 \pm 0,0002$
ГХЦГ+0,1 ГН	28908	14	$0,048 \pm 0,001$ $p > 0,05$	$0,0005 \pm 0,0002$
ГХЦГ+0,005 ГН	14976	12	$0,080 \pm 0,0002$ $p < 0,05$	$0,0008 \pm 0,0002$
контроль	44505	16	$0,036 \pm 0,0003$	$0,0004 \pm 0,0001$

Таким образом, физиологически активное вещество—гумат натрия при трехкратном поливе растений традесканции водными растворами различных концентраций снижает уровень частоты индуцированных пестицидом ГХЦГ розовых мутационных событий, нормализует функциональную активность митотического аппарата клеток ВТН традесканции клона О2 и повышает их резистентность к ГХЦГ.

1. Козюкина Т. Ж. Некоторые аспекты положительного действия гумата натрия на устойчивость растений к промышленному загрязнению атмосферы.—В кн.: Гуминовые удобрения. Теория и практика их применения. Днепр.: 1983, с. 31—33.
2. Кириченко Е. И., Сторчай Л. П. Эффективность применения физиологически активного гумата натрия в плодородии.—Там же, с. 83—86.
3. Майко Т. К., Червченко Т. М. Применение гумата натрия в декоративном цветоводстве закрытого грунта.—Там же, с. 87—90.
4. Ткаченко Л. К. Последствие удобрений и гексахлорана на семенную продуктивность огурцов при выращивании их на разных почвах.—Там же, с. 18—22.
5. Mericle L. W., Mericle R. P. Genetic nature of Somatic mutations for flower color in Tradescantia, clone 02.—Radiat. Bot., 1967, v. 7, № 6, p. 440—484.
6. Мельников Н. Н., Новожилов К. В., Белан С. Р., Пылова Т. Н. Справочник по пестицидам. М.: Химия, 1985, с. 146—147.
7. Драгунов С. С. Гуминовые вещества и их значение в плодородии почв.—В кн.: Гуминовые удобрения. Теория и практика их применения. Днепр.: 1983, с. 3—8.
8. Горовая А. И., Кулик А. Ф., Ткаченко Л. К., Филиппова Т. В., Христева Л. А. Влияние некоторых загрязнителей биосферы и физиологически активных веществ гумусовой природы на внутриклеточный нуклеиновый метаболизм сельскохозяйственных культур и их продуктивность.—В¹ сб.: Нуклеиновые кислоты и хроматин растений. Киев: Наукова думка, 1981, с. 34—39.
9. Nayyar G. G., Sparrow A. H. Radiation-induced somatic mutations and the loss of reproductive integrity in Tradescantia stamen hairs.—Radiat. Bot., 1967, v. 7, № 4, p. 257—267.
10. Mericle L. W., Mericle R. P. Resolving the enigma of multiple mutant Sectors in stamen hairs of Tradescantia.—Genetics (USA), 1973, v. 73, № 4, p. 575—582.

Ա մ փ ո փ ու մ

Ուսումնասիրվել է բլորորգանական ինսեկտիցիդ 1, 2, 3, 4, 5, 6-Նեքսա-բլորոցիկլոհեքսանի գենետիկական էֆեկտի մոդիֆիկացումը ֆիզիոլոգիական ակտիվ միացության՝ նատրիումի հումատի, ազդեցությանը: Հետազոտությունը տարվել է գերզգայուն տեստ-համակարգի՝ տրադեսկանցիայի 02 կլոնի առէչաթելերի մազիկների վրա: Կիրառվել է նատրիումի հումատի տարբեր խտության լուծույթներով եռանվագ ջրելու մեթոդը: Պարզվել է, որ նատրիումի հումատի փորձարկվող լուծույթները իջեցրել են ինսեկտիցիդի կողմից մակածված մուտացիաների հաճախականության մակարդակը և վերականգնել տրադեսկանցիայի առէչաթելերի մազիկների բջիջների միտոտիկ ապարատի ֆունկցիոնալ ակտիվությունը:

SUMMARY

The used concentrations of humate sodium at watering of the plants of Tradescantia clone 02, reduce the level of somatic mutations frequency induced by hexachlorocyclohexan, normalize the division process of stamen hair cells of Tradescantia and increase their resistance to pesticide.