

action of N-NMU and waste materials from a paper production industry than yeast strain 15V-P4 *Saccharomyces cerevisiae*. We obtained morphological mutants of black yeast strain R-11 induced by N-NMU. Waste materials induced only one type of morphological mutants — dwarf mutants in R-11 strain.

УКАЗАТЕЛЬ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ваулина Э. Н., Анисеева И. Д., Коган И. Г. Индуцированный мутагенез и селекция хлореллы. М., 1978. 84 с.
2. Захаров И. А., Кривинский А. С. Радиационная генетика микроорганизмов. М., 1972. 195 с.
3. Захаров И. А., Кожин С. А., Кожина Т. Н., Федорова И. В. Сборник методик по генетике дрожжей-сахаромнитетов. Л., 1976. 112 с.
4. Захаров И. А., Ковальцова С. В., Марфин С. В. Штаммы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* для изучения индуцированного мутагенеза и рекомбинации. — Генетика, 1979, т. 15, № 1, с. 41—48.
5. Инге-Вечтомов С. Г. Идентификация некоторых групп сцепления у Петергофских генетических линий дрожжей. — Генетика, 1971, т. 7, № 9, с. 113—124.
6. Касьяненко А. Г., Портенко Л. Г. Генетика возбудителя вилта хлопчатника *Verticillium dactyliae* Kleb. Сообщение I. Генетическое маркирование физиологических рас *Verticillium dactyliae* Kleb. — Генетика, 1979, т. 15, № 5, с. 812—822.
7. Коган И. Г., Анисеева И. Д. О природе мутантов хлореллы. — Генетика, 1973, т. 9, № 12, с. 76—83.
8. Павленко В. В., Путинцева Л. А. Определение токсичности и мутагенности промстоков сульфат-целлюлозного производства на генетических моделях. — В кн.: Исследования по генетике. Л., 1979, № 8, с. 62—70.
9. Плохинский Н. А. Биометрия. М., 1970. 368 с.
10. Родина А. Г. Бактерии в продуктивности камшистой литорали озера Байкал. — Тр. проблем. и темат. совещ. Зоол. ин-та АН СССР. Л., 1954, вып. 2, с. 45—52.
11. Родина А. Г. Дрожжевые грибки в рыбоводных прудах и их пищевое значение. — Изв. АН СССР, сер. биол., 1960, № 5, с. 14—19.
12. Роуз Э. Химическая микробиология. М., 1971. 294 с.
13. Хропова В. И. Изменчивость *Chlorella vulgaris* Beijer., индуцированная N-нитрозометилмочевниной. — В кн.: Супермутagens. М., 1966. 190 с.
14. Фюшштейн Л. М., Калинин Л. М., Полухина Г. Н., Абилов С. К., Шапиро А. А. Тест-система оценки мутагенной активности загрязнителей среды на *Salmonella*. Методическое указание. М., 1977. 52 с.

ДЕЙСТВИЕ ЭКЗОГЕННЫХ МЕТАБОЛИТОВ САМЦОВ ДОМОВОЙ МЫШИ НА ПРОЦЕСС КЛЕТОЧНОГО ДЕЛЕНИЯ В ГЕНЕРАТИВНОЙ ТКАНИ МОЛОДЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ОДНОКРАТНЫХ И МНОГОКРАТНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ

Р. И. ЦАПЫГИНА, Е. В. ДАЕВ, С. Н. НОВИКОВ

Одним из актуальных вопросов экологии является проблема идентификации факторов среды, влияющих на рост и развитие организма. Особое значение имеют факторы биогенного происхождения, изменяющие зоосоциальное поведение, морфологические и эндокринологические характеристики животных [3]. Есть основания предполагать, что ряд веществ, присутствующих в экскреторных продуктах домовой мыши (феромоны), эффективно действует на других особей того же вида [6]. В зависимости от пола, физиологического состояния, зоосоциального ранга и, по-видимому, генотипа как донора, так и реципиента, эти вещества могут вызывать различные нейроэндокринные сдвиги и, таким образом, влияя на функционирование организма как составной части популяции, выступать в качестве универсального хемокоммуникационного механизма существования последней как единого целого. Этот вы-

вод подтверждают такие феромональные эффекты, как блокировка беременности [11], синхронизация эстральных циклов [20], акселерация и подавление полового созревания [12, 13, 14] и др.

В ряде работ показано, что различные нейроэндокринные сдвиги вызывают изменения в процессе протекания клеточного деления (уровень митотической активности) и в структурной организации хромосомного аппарата клетки (частота хромосомных аберраций) [4, 5, 7]. Поэтому логично предположить, что и экзогенные метаболиты, являясь, в частности, стрессовыми факторами, путем изменения нейроэндокринного статуса организма могут действовать на цитогенетические процессы.

Этот принципиально важный вопрос остается неисследованным. Поэтому представляется интересным изучение действия экскреторных продуктов мышей на цитогенетические процессы в генеративной ткани реципиентов.

Материал и методика. В литературе известны данные о различной эффективности действия экзогенных метаболитов животных в линиях лабораторных мышей с нормальным и нарушенным метаболизмом тестостерона [17, 18], поэтому наши исследования мы проводили на таких линиях, исследуя при этом эффективность действия экскреторных продуктов половозрелых самцов различающихся линий на цитогенетические процессы в тканях молодых животных-реципиентов с использованием провокационного фона и без него, а также цитогенетический эффект в генеративных клетках при одноразовом и длительном стрессировании молодых мышей экзогенными метаболитами.

Исходя из анализа литературных данных о существовании определенных критических периодов, во время которых животные наиболее чувствительны к внешним экологически значимым воздействиям [3, 9, 15], эксперименты проводили на молодых (возраст 30±1 день) самцах мышей — межлинейных гибридах CBA/Sto×C57BL/6Sto, которых в дальнейшем будем обозначать как СВAB6F₁.

Эксперимент состоял из трех серий опытов.

В первой серии изучали влияние экзогенных метаболитов половозрелых самцов мышей на цитогенетические процессы в генеративной ткани молодых животных без применения провокационного фона. Для этого мышат СВAB6F₁ (возраст 30±1 день) помещали на 2 ч в клетки, где до манипуляции в течение 2—3 недель содержали фертильных самцов-одиночек (возраст 3—4 мес.) линии C57BL/6 или линии CBA.

Контрольных мышат не подвергали никаким воздействиям или помещали в клетки с чистой подстилкой, в качестве которой служили опилки. Через 8 ч после начала стрессирования животных забивали посредством декапитации и брали материал для цитогенетического анализа (семенники).

Во второй серии экспериментов изучали действие экзогенных метаболитов на эти же процессы с использованием провокационного фона. Для этого на 30±1 день жизни мышат подвергали тотальному облучению рентгеновскими лучами в дозе 300 Р [1], а затем стрессированию — 2-часовой пересадке на различные подстилки по описанной ранее методике. Материал фиксировали также через 8 ч.

В третьей серии экспериментов изучали влияние экзогенных метаболитов на цитогенетические процессы при длительном их воздействии. Изучение проводили также с использованием провокационного фона. Животные этой серии опытов были подразделены на 7 экспериментальных групп. Молодые самцы трех групп поступали в эксперимент в возрасте 21±1 день. В течение последующих 10 дней их ежедневно помещали на 2 ч в клетки с чистой подстилкой, подстилкой половозрелых

самцов линии С57BL/6 или линии СВА. Перед последним стрессированием мышат облучали рентгеновскими лучами.

Животных двух групп не подвергали никаким воздействиям до возраста 30+1 день. На 30+1 день их облучали рентгеновскими лучами, а затем помещали на подстилку половозрелых самцов линии С57BL/6 или линии СВА.

Мышат еще одной группы облучали в возрасте 30+1 день и не подвергали пересадкам на какую-либо подстилку.

Облучение и стрессирование всех групп проводили одновременно.

Животные последней группы служили контролем и не подвергались никаким воздействиям.

Фиксацию материала проводили через 8 ч после начала стрессирования, на 30+1 день жизни молодых мышат. Препараты из семенных канальцев готовили по модифицированной методике Ивенса [16]. Анализировали клетки на стадии метафазы I. Нарушенными считали метафазы I с унивалентами, с хромосомными нарушениями типа: слипание бивалентов, транслокации, фрагменты. В третьей серии экспериментов учитывали только общее число нарушений. Полученные данные обрабатывали статистически, предварительно проверив их гетерогенность [2].

Результаты и обсуждение. Проверка материала первой серии опыта на гетерогенность выявила его однородность, и в дальнейшем статистическую обработку вели, принимая за единицу варьирования клетку (метафаза I).

Таблица 1

Частота нарушений мейоза (стадия метафазы I) при действии экзогенных метаболитов ($p \pm m$, %)

Тип воздействия	Количество метафаз I	Общая частота нарушений мейоза	Частота XA	Частота Y
Контроль	318	11+1,9	7+1,4	7+1,4
ЧП	411	23+2,0	12+1,7	11+1,2
В6	302	43+2,8	32+2,7	11+1,8
СВА	311	48+2,8	35+2,7	13+1,8

Примечания. ЧП — животные, стрессированные чистой подстилкой; В6 — животные, стрессированные подстилкой самцов линии С57BL/6; СВА — животные, стрессированные подстилкой самцов линии СВА. Вертикальные линии соединяют достоверно различающиеся величины: сплошные — при $P < 0,01$; пунктирные — при $P < 0,05$.

Анализ частоты нарушений в мейозе у молодых самцов мышей показал (табл. 1), что экскреторные продукты взрослых мышей достоверно повышают уровень нарушений, выявляемых в метафазе I мейоза. Частота нарушений возрастает примерно в три раза по сравнению с контрольным уровнем. Достоверных различий в действии экзогенных метаболитов самцов разных линий не установлено. Чистая подстилка также вызывает достоверное повышение частоты нарушений, обнаруженных в метафазе I мейоза ($P < 0,01$), по сравнению с контрольными животными, но ее стрессующее действие слабее, чем действие экзогенных метаболитов.

Анализ материала на гетерогенность во второй серии опытов также показал однородность материала, и статистическая обработка материала была такая же, как и в первом эксперименте. Анализ полученных данных показал, что экзогенные метаболиты повышают общий уровень радиоиндуцированных хромосомных нарушений, выявляемых в метафазе I мейоза молодых самцов (табл. 2). Частота этих нарушений

возрастает примерно в 1,2—1,4 раза. Выявлены межлинейные различия: экскреторные продукты самцов линии СВА вызывали достоверно большее повышение уровня нарушений в мейозе, чем экзогенные метаболиты самцов линии С57BL/6 ($P < 0,01$). При использовании после облучения в качестве стрессирующего фактора чистой подстилки не выявлено изменения частоты радиоиндуцированных нарушений, по сравнению с только облученными молодыми самцами.

Таблица 2

Частота радиоиндуцированных нарушений (стадия метафазы I мейоза) при действии экскреторными продуктами ($p + m$, %)

Тип воздействия	Количество метафаз I	Общая частота нарушений мейоза	Частота ХА	Частота А
R	396	57 ± 2,5	49 ± 2,5	16 ± 1,9
R + ЧП	375	61 ± 2,5	45 ± 2,6	18 ± 1,9
R + B6	402	68 ± 2,3	51 ± 2,5	18 ± 1,9
R + СВА	508	79 ± 1,8	69 ± 2,1	11 ± 1,4

Результаты, полученные в третьей серии опытов, свидетельствуют о том, что однократное действие стрессирующего агента (экзогенных метаболитов половозрелых самцов) такое же, как и во второй серии экспериментов (табл. 3).

Таблица 3

Частота радиоиндуцированных нарушений (стадия метафазы I мейоза) при различной длительности действия экскреторными продуктами ($p + m$, %)

Тип воздействия	Количество метафаз	Общая частота нарушений мейоза
Контроль	190	11 ± 2,2
R	238	53 ± 3,3
R + B6	345	65 ± 2,5
R + СВА	349	73 ± 2,5
R + 10 ЧП	472	40 ± 2,3
R + 10 B6	225	39 ± 2,4
R + 10 СВА	252	37 ± 3,0

Примечание. R — облученные животные; R + B6, R + СВА — животные, подвергнутые облучению и однократному стрессированию экскреторными продуктами самцов линий С57BL/6 и СВА соответственно; R + 10 ЧП, R + 10 B6, R + 10 СВА — облученные животные, подвергшиеся 10-дневному стрессированию экскреторными продуктами самцов соответствующих линий и чистой подстилкой.

Длительное стрессирование молодых самцов в течение 10 дней экскреторными продуктами самцов линий СВА и С57BL/6, а также чистой подстилкой вызывает достоверное снижение общего уровня радиоиндуцированных нарушений, обнаруживаемых в метафазе I мейоза, по сравнению с их частотой у только облученных животных ($P < 0,01$). Достоверных различий в частоте нарушений мейоза между этими тремя вариантами нами не обнаружено. Тем не менее частота нарушений при длительном действии стрессирующего агента и облучении остается достоверно выше, чем у животных контрольного варианта, не подвергавшихся никаким воздействиям ($P < 0,01$).

Таким образом, полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что экскреторные продукты взрослых мышей оказывают влияние на клеточные процессы в генеративной ткани молодых животных. Эффект этот имеет место как при использовании провокационного фона, так и без него. Применяемая нами методика стрессирования с помощью экскреторных продуктов лишь незначительно отличается от ра-

нее описанных в литературе, что позволяет с определенной степенью вероятности отождествлять действие экзогенных метаболитов с эффектом феромонального АКТГ-индуктора [10].

Результаты сравнения эффективности действия экзогенных метаболитов самцов линий С57BL/6 и СВА подтверждают предположение ряда авторов о существовании генетически детерминированных нарушений метаболизма тестостерона в семействе линий С57 [17, 18, 20]. Так, во всех трех экспериментах сохраняется следующая закономерность: экскреторные продукты самцов линии СВА вызывают наибольшее увеличение частоты нарушений в метафазе I мейоза. Вероятно, животные с нарушенным метаболизмом тестостерона отличаются от особей других линий по своей феромональной активности, и поэтому линия С57BL/6 обладает более низкой способностью к феромональной активации адренокортикальной системы других животных. Этот вывод подтверждается данными С. Н. Новикова [3], которым ранее было показано, что только экзогенные метаболиты самцов линии СВА обладают резко выраженным стрессирующим эффектом, который определяли по изменению ряда поведенческих характеристик животных в тесте «открытое поле». Эффект экскреторных продуктов самцов линии СВА выявляли у животных СВАВ6F₁ в возрасте 8 и 14 недель, тогда как влияние экзогенных метаболитов самцов линии С57BL/6 не обнаруживали уже в 8-недельном возрасте. Используя этот же стрессор (подстилку), Арчер [8] показал изменение массы надпочечников и концентрации в них аскорбиновой кислоты при стрессировании животных (мышей).

Выявленный эффект уменьшения числа радиониндуцированных нарушений в диакинезе — метафазе I при комплексном воздействии «рентген + стрессирование подстилкой половозрелых мышей» у молодых животных, которые предварительно подвергались в течение 10 дней данному стрессированию, вероятно, можно рассматривать как адаптивный к неблагоприятным факторам окружающей среды (феромональному стрессору). Это связано с постепенным повышением резистентности к их действию. Полученный эффект согласуется с данными Сьютвика, в работе которого было показано, что неоднократно повторяющееся воздействие одного и того же стресс-фактора (подстилка самцов линии С57BR) на животных приводит к уменьшению степени стрессированности мышей [19]. Автор судил о состоянии подопытных мышей по изменению уровня эозинофилов в крови и обнаружил, что при однократном воздействии феромонального стрессора число эозинофилов резко уменьшается, а затем при неоднократном воздействии раздражителя постепенно возвращается к норме. Таким образом, адаптацией можно объяснить уменьшение частот нарушений мейоза в клетках генеративной ткани животных всех вариантов, подвергнутых 10-дневному стрессированию, но только до уровня таковых у животных, облученных и нестрессированных. Более сильное падение частот нарушений мейоза у животных, подвергнутых длительному воздействию (в течение 10 дней по 2 ч ежедневно), требует дополнительного обсуждения.

Полученные в нашей работе данные по эффективности действия экзогенных метаболитов самцов разных линий на генеративную функцию молодых животных подтверждают важную роль хекоменникационных отношений у грызунов, на что указывает большое количество работ, появившихся в последнее время [3, 6, 13, 17 20]. Вызывая различные нейроэндокринные сдвиги, экзогенные метаболиты могут влиять на функционирование организма как составной части популяции и выступать в качестве универсального механизма существования последней как целого. До настоящего времени не было известно литературных данных по изучению действия феромонального АКТГ-индуктора на ци-

тогенетические процессы. Остается открытым вопрос, какие конкретные нейроэндокринные сдвиги и гормональные механизмы лежат в основе наблюдаемых различий. Для решения этих вопросов необходима дальнейшая работа с привлечением физиологических, биохимических и цитогенетических методик и комплексный подход к анализу материала.

ВЫВОДЫ

1. Экзогенные метаболиты половозрелых самцов лабораторных мышей C57BL/6Sto и CBA/Sto при одноразовом 2-часовом воздействии вызывают достоверное повышение частоты хромосомных aberrаций в диакнеше — метафазе I мейоза у молодых самцов CBAxB6F₁.

2. Экзогенные метаболиты половозрелых самцов мышей линий C57BL/6 и CBA при одноразовом 2-часовом воздействии вызывают повышение частоты радиондуцированных хромосомных aberrаций в метафазе I мейоза у молодых животных. Эффективность действия экскреторных продуктов самцов линии CBA достоверно выше по сравнению с действием экзогенных метаболитов линии C57BL/6.

3. Ежедневное 2-часовое стрессирование экзогенными метаболитами половозрелых самцов мышей в течение 10 дней вызывает достоверное понижение частоты радиондуцированных хромосомных aberrаций, выявляемых в метафазе I мейоза молодых самцов.

Summary

The article deals with the effect of exogenic metabolites of mature domestic male mice (*Mus musculus*) on the structure of chromosomes during stage metaphase I in germinal cells of young males.

The effect of single exposure for 2 hours is comparable with total X-rays irradiation (dose 300 R).

The 2-hours exposure and irradiation (dose 300 R) increase the frequency of meiosis disturbances in germinal cells 1.2—1.4 fold in comparison with that in only irradiated males.

Daily 2-hours pretreatment with exogenic metabolites for 10 days reduces the level of meiosis disturbances in spermatogenesis because of certain kind of adaptation; the frequency of disturbances decreased 1.3 times in comparison with irradiated but not adapted animals.

УКАЗАТЕЛЬ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеевич Л. А., Барабанова Л. В., Ватти К. В., Тихомирова М. М., Чапыгина Р. И. Сравнительный анализ частоты возникновения индуцированных рентгеновыми лучами доминантных летальных мутаций у самок и самцов разных видов животных. — В кн.: Исследования по генетике. Л., 1979, № 8, с. 70—81.
2. Асташиев М. М., Глотов Н. В., Кузнецова О. В., Соломатин В. М., Янушевский С. П. Большой практикум по генетике животных и растений. М., 1977. 135 с.
3. Новиков С. П. Экспериментальный анализ этолого-физиологических механизмов формирования перармии у лабораторных мышей. Автореф. канд. дис. Л., 1979.
4. Писенкова М. П. Влияние нейротропных веществ на цитогенетические процессы в соматических клетках (мышь, человек). Автореф. канд. дис. Л., 1975. 23 с.
5. Полянская Г. Г. Влияние симпатикотомии на цитогенетические процессы у мышей. Автореф. канд. дис. Л., 1971. 25 с.
6. Соколов В. Г., Скурлат Л. Н., Котенкова Е. В. Особенности запаховой сигнализации у домовых мышей (*Mus musculus*). — Зоол. журн., 1976, т. 55, с. 1710—1714.
7. Чапыгина Р. И. Изучение роли центральной нервной системы в регуляции цитогенетических процессов условнорефлекторным методом. Автореф. канд. дис. Л., 1972. 24 с.

8. Archer J. E. Adrenocortical response to olfactory stimuli in male mice. — *J. Mammal.*, 1969, v. 50, p. 836—841.
9. Bateson P. How do sensitive periods arise and what are they for? — *Anim. Behav.*, 1979, v. 27, p. 470—486.
10. Bronson F. H. Rodent pheromones. — *Biol. Reprod.*, 1971, v. 4, p. 334—357.
11. Bruce H. M. An exteroceptive block to pregnancy in the mouse. — *Nature*, 1959, v. 184, p. 105.
12. Drickamer L. G. Delay of sexual maturation in female house mice by exposure to grouped females or urine from grouped females. — *J. Reprod. Fert.*, 1977, v. 51, p. 77—81.
13. Drickamer L. C. Acceleration and delay of first estrus in wild *Mus musculus*. — *J. Mammal.*, 1979, v. 60, p. 215—216.
14. Drickamer L. C., Murphy R. X., Jr. Female mouse maturation: effects of excreted and bladder urine from juvenile and adult males. — *Develop. Psychobiol.*, 1978, v. 11, p. 63—72.
15. Dyer D. P., Jr., Southwick C. H. A possible sensitive period for juvenile socialization in mice. — *Behav. Biol.*, 1974, v. 12, p. 551—558.
16. Evans H. J., Breckon G., Ford C. E. An air-drying method for meiotic preparations from mammalian testes. — *Cytogenetics*, 1964, v. 32, N 3, p. 289—294.
17. Hoppe P. C. Genetic and endocrine studies of the pregnancy blocking pheromone of mice. — *J. Reprod. Fert.*, 1975, v. 45, p. 109—115.
18. Shire J. G. M., Bartke A. Strain differences in testicular weight and spermatogenesis with special reference to C57BL/10J and DBA/2J mice. — *J. Endocrinol.*, 1972, v. 55, p. 163—171.
19. Southwick C. H. Eosinophil responses of C57BR mice to behavioral disturbance. — *Ecology*, 1959, v. 40, p. 156—157.
20. Whitten W. K. Genetic variation of olfactory function in reproduction. — *J. Reprod. Fert.*, 1973, Suppl. 19, p. 405—410.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЗЕЛЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ ДЛЯ МУТАГЕНОТИПИРОВАНИЯ ЗАГРЯЗНЕНИЙ И ГЕНЕТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА В ГИДРОСФЕРЕ

К. В. КВИТКО, И. Н. МАТОУШКОВА

Выявление (с целью изъятия из обращения) потенциально опасных, мутагенных, загрязнений должно осуществляться сейчас с помощью надежной генетической системы, обеспечивающей оценку их мутагенности и непрерывное слежение за генетическим здоровьем популяций (мониторинг). Оценка осуществляется чаще всего с помощью микроорганизмов, но пока лишь гетеротрофных, таких, как бактерии (кишечная палочка, сальмонелла) и грибы (неуроспора, аспергилл и пекарские дрожжи) [8]. Это дает возможность прогнозировать мутабельность прокариотических организмов, а из множества эукариотических микробов выбраны лишь аскомицеты, клетки которых имеют не типичный цитоскелет, а упрощенный его вариант, без центриолей и жгутиков; кроме того, эти организмы — типичные гетеротрофы. Тем самым генетические повреждения, приводящие к нарушению функций фотосинтеза и функций движения клеток, выпадают из поля зрения при оценке генетического груза в популяциях одноклеточных организмов.

Сложившаяся практика мониторинга основывается на упрощенном представлении о преобладании прямого химического действия загрязнений среды на клетки. Это, на наш взгляд, справедливо лишь для первичных продуцентов и в первую очередь для водорослей. Одноклеточные водоросли — повсеместно распространенные организмы, обитатели гидросферы в расширенном понимании этого термина (по В. И. Вернадскому, сюда относятся не только водоемы, но и все стоки — назем-