

36. Чунаев А. С. Генетическая реконструкция системы светозащиты у зеленых водорослей. — Автореф. канд. дис. Л., 1976. 22 с.
37. Чунаев А. С., Александрова Н. Н., Яковлев М. Д. и др. Чувствительность к видимому свету мутантов *Chlamydomonas reinhardtii*, различающихся по содержанию пигментов. — В кн.: Фотобиология животной клетки. Л., 1979, с. 236—241.
38. Adams M., Warr J. R. The mutagenic activity of hydroxyurea in *Chlamydomonas reinhardtii*. — Mut. Res., 1976, vol. 41, p. 217—224.
39. Alexander N. J., Gillham N. W., Boynton J. E. The mitochondrial genome of *Chlamydomonas*: Induction of minute colony by acriflavine and their inheritance. — Mol. Gen. Genet., 1974, v. 130, p. 275—290.
40. Cain J. R., Trainor F. R. Regulation of gametogenesis in *Scenedesmus obliquus* (Chlorophyceae). — J. Phycology, 1976, v. 12, N 4, p. 383—390.
41. Ebersold W. T. Heterozygous diploid strains of *Chlamydomonas reinhardtii*. — Genetics, 1963, v. 48, p. 888.
42. Gowans C. S. Genetics of *Chlamydomonas moewsi* and *Chlamydomonas eugametos*. — In: The Genetics of Algae. Bot. monographs, 1976, v. 12, p. 145—173.
43. Hudock G. A., Rosen H. Formal genetics of *Chlamydomonas reinhardtii*. — In: The Genetics of Algae. Bot. monographs, 1976, v. 12, p. 29—48.
44. Konvalinkova V., Matagne R. F., Loppes R. Induction and analysis of revertants from various arg7 mutants lacking argininosuccinate lyase in *Chlamydomonas reinhardtii*. — Mut. Res., 1974, v. 24, p. 69—72.
45. Kvitko K. V., Tugarinov V. V., Ho P. T. e. a. Mutational analysis, a method of studying genetic structure of green algae. — In: Genetic aspects of Photosynthesis. Junk Co. The Hague, 1975, p. 225—236.
46. Laube V., Ramaoorthy S., Kushner D. J. Mobilization and accumulation of sediment bound heavy metals by algae. — Bull. Environm. Contam. Toxicol., 1979, v. 29, p. 763—770.
47. Lewin R. A. (Ed.). The Genetics of Algae. Botanical monogr., 1976, v. 12. Oxford, L. 360 p.
48. Necas J. Physiological responses and permanent changes in some characteristics of two chlorococcal algae treated by a mutagen when grown under various culture conditions. — Arch. Hydrobiol. (suppl. 41), 1972, Algological studies, N 7, p. 214—234.
49. Necas J. Sensitisation of three strains of chlorococcal algae for UV-effects by bromodeoxyuridine. — Biologia plantarum, 1976, v. 18, p. 1—12.
50. Sager R. Genetic analysis of Chloroplast DNA in *Chlamydomonas*. — Advances in Genetics, 1977, v. 19, p. 287—340.
51. Schimmer O. Untersuchungen zur mutagenen Wirksamkeit von Cumarinderivaten in *Chlamydomonas*. II. — Mut. Res., 1977, v. 44, p. 33—42.
52. Schimmer O. Untersuchungen zur mutagenen Wirksamkeit von Cumarinderivaten in *Chlamydomonas*. IV. — Mut. Res., 1978, v. 52, p. 353—360.
53. Schimmer O., Arnold C. G. Untersuchungen über Reversions- und Segregationsverhalten eines außerkaryotischen Gens von *Chlamydomonas reinhardtii* zur Bestimmung des Erbtagers. — Mol. Gen. Genet., 1970, v. 107, p. 281—290.
54. Schimmer O., Werner R. Mutagenic effect of aflatoxin B1 on nuclear and extranuclear DNA in *Chlamydomonas reinhardtii*. — Mut. Res., 1974, v. 26, p. 423—425.
55. Tan C. K., Hastings P. J. DNA synthesis during meiosis of eightspored strains of *Chlamydomonas reinhardtii*. — Mol. Gen. Genet., 1977, v. 152, p. 311—320.

ВЛИЯНИЕ КОФЕИНА НА ЧАСТОТУ ИНДУЦИРОВАННЫХ РЕНТГЕНОМ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ У ЛИНИЙ КУР, СЕЛЕКТИРУЕМЫХ ПО РЕАКТИВНОСТИ

Л. А. АЛЕКСЕЕВИЧ, О. А. МАЦКЕВИЧ, Л. П. ШЕВЧЕНКО

Кофеин довольно широко используется в последние годы как модификатор мутационного процесса для изучения физиологии становления мутаций [1, 5—7, 11, 16]. Предполагается, что кофеин вызывает ингибирование ферментных систем, участвующих в процессах репарации, способствуя переходу потенциальных повреждений в мутации. Однако механизм действия кофеина остается не до конца ясным. Это касается,

в частности, его влияния на хромосомные перестройки и специфики действия на разных стадиях клеточного цикла.

В связи с поиском путей усиления биологического действия радиации для повышения эффективности лучевой терапии изучение модифицирующего действия кофеина приобретает и практический аспект [2]. Возможно, использование химических соединений, в том числе кофеина, для усиления действия ионизирующих излучений найдет применение и в селекции сельскохозяйственных животных. Работы по индуцированному мутагенезу у сельскохозяйственных животных уже начались [8, 12—15, 17].

Таблица 1

Суммарная частота хромосомных aberrаций в эпителии пера самок

Возраст, сут	Линия	Рентген		Кофеин+рентген		Рентген+кофеин		Кофеин		Контроль	
		ΣА+Т	ХА, %	ΣА+Т	ХА, %	ΣА+Т	ХА, %	ΣА+Т	ХА, %	ΣА+Т	ХА, %
6	HT	425	10,1	303	11,8	302	9,9	415	1,9	1110	1,1
	BT	394	14,1	535	9,2	420	6,4	335	2,7	202	1,0
12	HT	463	4,5	726	6,1	473	9,7	624	1,4	620	1,0
	BT	500	5,0	916	7,2	439	7,1	593	1,2	258	1,2
24	HT	898	3,0	776	2,4	491	1,2	1026	2,3	331	0,9
	BT	1042	3,1	861	2,4	368	2,7	881	2,4	286	0,7

Примечание. В табл. 1-2: ΣА+Т — сумма анафаз и телофаз, ХА — хромосомные aberrации.

Целью данного исследования было изучение влияния кофеина на частоту радиоиндуцированных хромосомных aberrаций в соматических клетках курицы.

Таблица 2

Суммарная частота хромосомных aberrаций в эпителии пера самцов

Возраст, сут	Линия	Рентген		Кофеин+рентген		Рентген+кофеин		Кофеин		Контроль	
		ΣА+Т	ХА, %	ΣА+Т	ХА, %	ΣА+Т	ХА, %	ΣА+Т	ХА, %	ΣА+Т	ХА, %
6	HT	176	7,1	362	8,8	219	13,2	406	1,7	313	1,9
	BT	312	8,8	226	11,1	155	7,7	320	1,9	184	1,6
12	HT	322	7,1	333	9,0	308	10,1	482	3,5	171	1,8
	BT	470	8,9	321	8,1	278	9,3	426	1,9	359	1,7
24	HT	410	3,7	185	3,2	189	1,6	355	1,7	310	1,0
	BT	496	4,0	299	1,7	307	2,6	259	1,4	351	0,6

Материал и методы. В работе использовали две линии кур породы белая десторри, селективируемые по реактивности на изменение обстановки яйцекладки. Показателем реактивности служила длительность откладки яйца в экспериментальной установке, куда курицу переносили из контрольного гнезда птичника в момент подготовки к откладке яйца. Куры линии HT характеризуются низкими показателями торможения откладки яйца: в новой обстановке они откладывают яйцо в среднем за 3 ч. Куры линии BT характеризуются высокими показателями торможения откладки яйца: в тех же условиях они откладывают яйцо в среднем за 12 ч. Опыты проводились на самках и самцах 11-го поколения отбора. Возраст животных 1,5 года.

Мутационный процесс изучали в эпителии растущего пера. Показателем мутационного процесса служила частота хромосомных aberrаций в анафазе. Подсчет aberrаций проводили на давленных препаратах, окрашенных ацетоорсенном. Типы aberrаций — мосты, фрагменты — учитывали отдельно.

В качестве индуцирующего хромосомные перестройки фактора использовали рентгеновское облучение. Облучение производили аппаратом РУМ-11 при напряжении 190 кВ, силе тока 15 мА, с фильтром 0,5 мм Си, при расстоянии от анода 36 см. Доза облучения 400 р, мощность дозы 20 р/мин. Облучение проводили тотально со спины, причем одновременно облучали две особи (по одной из каждой линии) [3].

Кофеин вводили из расчета 1 мл 20%-ного раствора натриевой соли кофеина на 1 кг массы животного. Кофеин применяли в 3 вариантах: 1) за 30—40 мин до облучения; 2) непосредственно после облучения; 3) без сочетания с облучением. Фиксацию перьев проводили через 6, 12 и 24 ч после воздействия. За сутки до постановки эксперимента с подопытных животных брали перья для определения спонтанного, контрольного (K) уровня хромосомных aberrаций. В каждом варианте опыта было 5 самок и 5 самцов каждой линии (всего 80 особей). Результаты обрабатывали по критерию Вилкоксона и методу угла ϕ -Фишера.

Результаты. Суммарная частота хромосомных aberrаций в эпителии пера представлена в табл. 1 и 2. Спонтанный уровень aberrаций высок, причем у самцов он выше, чем у самок ($P < 0,05$). Кофеин в примененной дозе оказался

слабым мутагеном ($P < 0,05$) для особей обоих полов. Рентген индуцирует примерно одинаковое количество aberrаций у обоих полов. Эффект совместного влияния обоих факторов наиболее отчетливо проявился у самок. При этом обнаруживаются и линейные особенности. Так, через 6 ч после воздействия у кур линии НТ частота хромосомных aberrаций одинакова при действии рентгена и при его сочетании с кофеином, тогда как у кур линии ВТ наблюдается достоверное снижение частоты хромосомных aberrаций при сочетании облучения и кофеина, как в случае, когда кофеин дается до облучения, так и в случае, когда кофеин применяется после облучения.

В последующие сроки фиксации материала (через 12 и 24 ч) достоверные ($P < 0,05$) изменения частоты хромосомных aberrаций наблюдаются у кур линии НТ только в варианте «рентген + кофеин». Причем через 12 ч после воздействия происходит повышение частоты хромосомных aberrаций, а через 24 ч — понижение.

У петухов влияние совместного действия облучения и кофеина выявлено только в одном случае: у линии ВТ при действии кофеина до облучения через 24 ч после воздействия происходит достоверное снижение частоты хромосомных aberrаций по сравнению с действием облучения (рис. 1).

Анализ распределения частот отдельных типов aberrаций у самок

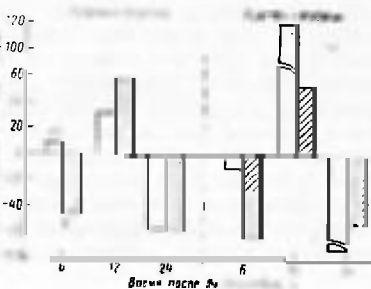


Рис. 1. Эффект совместного применения облучения и кофеина на частоту хромосомных aberrаций в эпителии растущего пера кур.

показывает, что в контроле и при действии кофеина значительную долю aberrаций составляют мосты: в контроле их примерно треть, в варианте «кофеин» около половины всех aberrаций (табл. 3). Парные фрагменты в этих вариантах отсутствуют. У самцов картина менее четкая (табл. 4). В вариантах с облучением преобладают фрагменты, при-

Таблица 3

Частота отдельных типов aberrаций в эпителии пера самок

Возраст, сут	Вариант	Рентген			Кофеин+рентген			Рентген+кофеин			Кофеин			Контроль		
		ОФ	ПФ	Мост	О	П	о	ОФ	ПФ	Мост	ОФ	ПФ	Мост	ОФ	ПФ	Мост
6	НТ	5,6	4,0	0,5	4,9	4,6	2,3	3,7	3,2	3,0	0,7	0	1,2	0,8	0	0,3
	ВТ	4,5	4,8	4,8	4,3	3,2	1,7	3,5	1,7	1,2	1,5	0	1,2	0,5	0	0,5
12	НТ	3,7	0,4	0,4	5,4	0	0,7	8,9	0	0,8	0,9	0	0,5	0,5	0	0,5
	ВТ	4,4	0	0,5	6,7	0	0,5	6,2	0	0,9	0,5	0	0,7	1,2	0	0
24	НТ	1,9	0,3	0,8	1,3	0,3	0,8	0,2	0	1,0	1,4	0	0,9	0,9	0	0
	ВТ	1,8	0	1,3	1,8	0,1	0,5	0,5	0	0,8	1,2	0	1,2	0,4	0	0,3

Примечание. В табл. 3 и 4: ОФ — одиночный фрагмент; ПФ — парный фрагмент.

чем в материале, зафиксированном через 6 ч после воздействия, и у самок, и у самцов появляется высокий процент парных фрагментов. Во всех вариантах с облучением у петухов значительно ниже процент мостов. У кур выявлены линейные различия по изменению частоты мостов при действии кофеина в сочетании с облучением: у линии ВТ в обоих вариантах происходит достоверное ($P < 0,5$) снижение частоты мостов, у кур линии НТ картина обратная, причем достоверное увеличение частоты мостов наблюдается лишь при действии кофеина после облучения. На рис. 2 графически представлен эффект совместного действия рентгена и кофеина на частоту мостов. У кур линии ВТ во все сроки фиксации материала наблюдается отрицательный эффект совместного влияния двух факторов; у кур линии НТ картина меняется в зависимости от срока с момента воздействия.

Таблица 4

Частота отдельных типов aberrаций в эпителии пера самцов

Возраст, сут	Вариант	Рентген			Кофеин+рентген			Рентген+кофеин			Кофеин			Контроль		
		ОФ	ПФ	Мост	О	П	Мост	ОФ	ПФ	Мост	ОФ	ПФ	Мост	ОФ	ПФ	Мост
6	НТ	3,4	4,0	0	5,2	3,3	0,3	6,8	6,4	0	0,7	0	1,0	1,6	0	0,3
	ВТ	4,4	4,4	0	3,4	3,5	0	3,8	3,9	0	1,0	0,6	0,3	1,6	0	0
12	НТ	6,8	0	0,3	7,8	0,3	0,9	8,2	1,9	0	2,9	0	0,6	0,6	0	1,2
	ВТ	8,7	0	0,2	7,8	0	0,3	8,9	0,4	0	1,7	0	0,2	1,1	0	0,6
24	НТ	0	1,2	2,1	1,1	0	1,5	0	1,1	0,6	0	1,1	1,0	0	0	
	ВТ	0	0	1,1	0,3	0,3	0,6	0	1,0	1,4	0	0	0,6	0	0	

Обсуждение и выводы. Используемые в работе отобраны по реактивности линии кур различаются также по некоторым другим показателям первой деятельности и поведения, в частности по силе возбудительного процесса [4]. Исходя из гипотезы системного контроля физиологических процессов, мы предполагали возможность вы-

явления различий в реакции линий НТ и ВТ на примененное нами воздействие. В экспериментах, проведенных на мышах, было показано влияние нервной системы на возникновение хромосомных перестроек [9, 10].

Кофеин применяли в двух вариантах (до облучения и после), чтобы вычлнить его влияние преимущественно на нервную систему (вариант «кофеин+рентген») и ферментные системы репарации (вариант «рентген+кофеин»), хотя безусловно в обоих случаях влияние затрагивает и нервную систему и ферменты.

Кофеин был применен в дозе, которая в тесте на силу возбуждательного процесса для кур линии ВТ оказалась предельной, т. е. через 30—40 мин после введения кофеина у кур линии ВТ происходил срыв условнорефлекторной деятельности. Следовательно, можно было ожидать, что в том варианте, где кофеин вводили за 30—40 мин до облучения, работоспособность нервных клеток у кур линий НТ и ВТ в момент облучения была различной, что могло повлиять на протекание восстановительных реакций.

Высказанное предположение подтвердилось отчасти в экспериментах с самками. У кур линии ВТ с относительно более слабым возбуждательным процессом достоверная реакция на применение кофеина проявляется в варианте, когда кофеин предшествует облучению. У кур линии НТ этого не наблюдали ни в одном случае, они более четко реагируют на применение кофеина после облучения. Качественные различия между линиями проявились лишь в одной точке фиксации, через 6 ч после воздействия и при учете одного типа аберраций—мостов. Если рассматривать образование мостов как проявление репарации, хотя и не тождественной, тогда можно предположить, что у кур исследованных линий на отмеченной стадии выявляется своеобразие в работе систем репарации. У петухов выявить модифицирующий эффект кофеина не удалось, за исключением одного случая (у линии ВТ в варианте «кофеин+рентген» через 24 ч после воздействия).

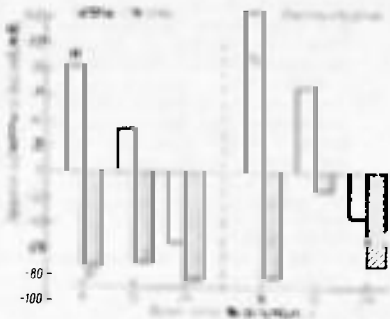


Рис. 2. Эффект совместного применения облучения и кофеина на частоту мостов в эпителии растущего пера кур.

Summary

The effect of caffeine on mutation process has been studied for feather epithelium two genetic lines of *Gallus domesticus* (white leghorn). The chromosomal aberrations were induced by X-ray (400 r). The modification of X-ray action have been demonstrated after caffeine treatment only for females. Direction of this effect depends on the time after X-ray action. There are no interline differences concerning frequency of both separatal and complexic treatment of X-ray and caffeine.

УКАЗАТЕЛЬ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Азатын Р. А., Закарян М. С., Акифьев А. П. Модификация штогенетического эффекта рентгеновских лучей кофеином в клетках *Crepis capillaris*. — Цитология и генетика, 1977, т. 11, № 5, с. 445—449.

2. Айрапетян Л. Г., Севаньяев А. В. Влияние кофеина на частоту аберраций в процессе индуцированных радиацией в различных стадиях клеточного цикла. — Цитология и генетика, 1977, т. 11, № 5, с. 468—472.
3. Алексеевич Л. А., Барабанова Л. В., Ватти К. В., Тихомирова М. М., Цалыгина 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.
4. Алексеевич Л. А., Мацкевич О. А., Вайдо А. И. О коррелятивной зависимости параметров нервной деятельности кур при селекции по реактивности на изменение обстановки. — В кн.: Исследования по генетике. Л., 1974, № 5, с. 3—7.
5. Анисимова Л. Е. Сравнительное изучение мутабельности самок и самцов *Drosophila melanogaster* при действии физических и химических факторов в связи с процессом репарации. Автореф. канд. дис. Л., 1975. 24 с.
6. Ганагеси Е. Э., Занчикина С. И., Аптикаева Г. Ф. Исследование временных параметров модификации лучевого повреждения хромосом проростков *Vicia faba*. Сообщ. II. Модификация повреждения хромосом на протяжении предмитотической стадии и стадии синтеза ДНК. — Генетика, 1977, т. 13, № 11, с. 1915—1954.
7. Димитров Б. Изучение внутри- и межхромосомного распределения аберраций, индуцированных комбинированным воздействием химических мутагенов и кофеина у *Crepis capillaris*. — В кн.: XIV Международный генетический конгресс, сессия засед. Тезисы докл., ч. II, М., 1978, с. 227.
8. Кудрявцев И. В., Яковлев А. А., Пигарева М. Д. Мутабельность клеток сперматогенного эпителия японского перепела. — В кн.: Исследования по генетике, иммуногенетике и селекции сельскохозяйственных животных. М., 1974, с. 243—268.
9. Полянская Г. Г. Влияние преангионарной симпатэктоми на возникновение хромосомных перестроек и митотическую активность в эпителии роговицы мыши. — Цитология, 1970, т. 12, № 6, с. 790—794.
10. Цалыгина Р. И. Роль центральной нервной системы в регуляции процессов клеточного деления и радиочувствительности хромосом клеток эпителия роговицы у мыши. — В кн.: Исследования по генетике. Л., 1971, № 4, с. 54—60.
11. Чубьякин В. Л., Лебедева Л. И. Защитное действие кофеина на хромосомную структуру клеток млекопитающих, облученных УФ-лучами. — Генетика, 1976, т. 12, № 8, с. 73—79.
12. Яковлев А. А. Проблема индуцированного мутагенеза у животных и подходы к ее решению. — В кн.: Исследования по генетике, иммуногенетике и селекции сельскохозяйственных животных. М., 1974, с. 193—217.
13. Яковлев А. А., Кудрявцев И. В., Пигарева М. Д., Скобина А. А. Влияние локального X-облучения гонад японского перепела на воспроизводительные способности облученной птицы и потомства. — В кн.: Исследования по генетике, иммуногенетике и селекции сельскохозяйственных животных. М., 1974, с. 21—27.
14. Arafat H., Lowry D. C., Lerner I. M., Dempster E. R. Selection for egg number with X-ray-induced variation. — Genetics, 1964, v. 50, № 52, p. 1083—1160.
15. Kashiwabara T., Tanaka R., Matsumoto T., Suzuki F. Preliminary experiments of radiation breeding of the domestic fowls. — In: Proc. XII Int. Congr. Genet., 1968, v. 1, p. 272.
16. Kihlman B. A. Effect of caffeine on the genetic material. — Mut. Res., 1974, v. 26, N 2, p. 53—71.
17. Opreacu St., Constantinescu O. Influence of X-rays on chromosomes from somatic and gonad cells in *Gallus domesticus*. — In: Proc. XII Int. Congr. Genet., 1968, v. 1, p. 97.