

Л. А. АРАРЯН

ЗАВИСИМОСТЬ ПОСТРАДИАЦИОННОГО ДЕЙСТВИЯ ГЕТЕРОАУКСИНА ОТ ЕГО КОНЦЕНТРАЦИИ

Существует целый ряд химических веществ, защитные свойства которых зависят от их количественного содержания в применяемом растворе. Частично эта зависимость основывается на токсическом действии высоких концентраций отмеченных веществ. Невыясненным остается еще тот факт, что некоторые нетоксические вещества оказываются эффективными лишь в определенном диапазоне концентраций. Исследования Д. Барнса и Дж. Лаутита показывают этот факт на примере нетоксического вещества—сыворотки крови необлученных животных, лишь определенные концентрации которой оказались защитными при введении облученным мышам [2].

Зависимость степени защиты от концентрации протектора хорошо изучена на универсальном защитном веществе—цистеине [10, 18]. Но не для всех веществ обнаруживается взаимосвязь концентрации и эффекта защиты. Например, мексамин действует в широком диапазоне, и эффект его действия не зависит от количества вводимого препарата [9]. Вероятно, различные протекторы в смысле зависимости эффекта их действия от концентрации обусловлено многими факторами и, главным образом, механизмом действия молекул на процессы поражения и восстановления.

В отношении гетероауксина было выяснено, что его растворы лишь в определенных концентрациях проявляют защитные свойства [1]. Предметом исследования в данном случае является пострadiaционная обработка семян растворами ИУК, которая выявляет иную закономерность.

Материал и методика

Приведенные в настоящей работе данные получены в ходе опытов по определению эффекта действия гетероауксина в зависимости от дозы облучения. Сюда включены результаты эксперимента по действию разных концентраций гетероауксина, в растворах которого были замочены семена *Allium fistulosum* L. сразу после облучения. Рентгенооблучение проведено в двух дозах: 5 и 10 кр. Семена замачивались в растворах ИУК следующих концентраций: 100, 500, 1000 и 5000 мг/л. Дальнейшая обработка материала проводилась по методике, описанной ранее [1].

Экспериментальная часть и обсуждение

Структурные перестройки хромосом. Так как облучались сухие семена (метаболически неактивная система), разница в конечном выходе поврежденных анафаз первого митоза находится в связи с замачива-

нием семян в растворах гетероауксина. При облучении дозой 5 кр не обнаружено разницы в частоте анафаз с абберациями хромосом, на что указывают данные, приведенные в табл. 1. Значит, степень мутирования клеток при облучении этой дозой не изменяется в зависимости от концентрации растворов ИУК: нет достоверного изменения в частоте мутирования клеток по сравнению с контролем.

При облучении семян дозой 10 кр замачивание в ИУК дает значительный радиозащитный эффект, уровень которого, хоть и с незначительной разницей, возрастает с увеличением концентрации раствора. Во всех случаях имеется достоверное снижение процента клеток с абберациями хромосом по сравнению с контролем. Но разница между вариантами с ИУК не достоверна. В случае варианта с 100 мг/л ИУК достоверность разницы с 500 мг/л ИУК составляет 1,3, а с вариантом 1000 мг/л ИУК—1,5.

Таблица 1

Частота клеток с абберациями хромосом при рентгенооблучении и действии гетероауксина

Вариант		Ч и с л о			% изменен- ных анафаз	t diff.	Уровень восстановле- ния
доза облу- чения, кр	ИУК, мг/л	коре- шков	ана- фаз	анафаз с абберациями			
5	Вода	22	1008	369	36,6±1,5	—	—
	100	7	313	111	35,4±2,7	0,3	—
	500	18	716	293	40,9±1,8	1,8	—
	1000	7	276	96	34,7±2,8	0,6	—
	5000	Семена не проросли					
10	Вода	21	607	510	84,0±1,5	—	—
	100	9	240	152	63,3±3,1	6,0	24,6
	500	23	595	349	58,6±2,0	10,2	30,8
	1000	14	350	199	56,8±2,7	8,8	32,3
	5000	Семена не проросли					

Концентрация 5000 мг/л сильно ингибирует прорастание, и материала для фиксации мы не имели.

Полученные данные говорят о том, что при пострадиационном замачивании семян нет существенной разницы между силой действия различных концентраций. Таким образом, при дозе 5 кр все взятые концентрации ИУК оказались не эффективными, а при дозе 10 кр конечный уровень восстановления не зависит от концентрации раствора.

Спектр структурных перестроек хромосом. Анализ соотношения типов аббераций хромосом (парных и одиночных ацентрических фрагментов, хроматидных и хромосомных дицентриков) показывает, что изменение дозы облучения не изменяет степени поражаемости хромосом в отдельных стадиях интерфазы. Гетероауксин, как и следовало ожидать, при облучении дозой 5 кр не вносит никаких изменений в спектр перестроек хромосом (табл. 2). При дозе 10 кр имеется некоторая модификация в спектре в вариантах с концентрациями 100 и 1000 мг/л. В первом случае достоверно снижен процент хроматидных дицентриков ($18,9 \pm 1,2$ —в контроле, $10,5 \pm 1,7$ —в варианте с 100 мг/л, $t \text{ diff.}=4$) и повышен процент ацентрических фрагментов ($58,1 \pm 1,5$ и $66,0 \pm 2,7$ соответственно, $t \text{ diff.}=3$). Следует здесь отметить, что такая же тенденция в модификации спектра выявлена и при применении этого раствора до облучения [1].

Спектр структурных перестроек хромосом при пострadiационном действии гетероауксина

Вариант		Число перестроек	Из них (в % от суммы)		
доза облучения, кр	ИУК, мг/л		фрагменты	хроматидные дицентрики	хромосомные дицентрики
5	Вода	593	$58,8 \pm 2,0$	$19,2 \pm 1,6$	$22,0 \pm 1,7$
	100	163	$50,3 \pm 3,8$	$23,3 \pm 3,3$	$26,4 \pm 3,4$
	500	485	$56,0 \pm 2,2$	$17,6 \pm 1,7$	$26,4 \pm 2,0$
	1000	150	$49,4 \pm 4,0$	$23,3 \pm 3,4$	$27,3 \pm 3,6$
10	Вода	973	$58,1 \pm 1,5$	$18,9 \pm 1,2$	$23,0 \pm 1,1$
	100	294	$66,0 \pm 2,7$	$10,5 \pm 1,7$	$23,5 \pm 2,4$
	500	592	$57,9 \pm 2,0$	$18,6 \pm 1,5$	$23,5 \pm 1,7$
	1000	323	$49,0 \pm 2,7$	$18,9 \pm 2,1$	$32,1 \pm 2,5$

При концентрации 1000 мг/л заметно возрастает процент хромосомных дицентриков ($23,0 \pm 1,1$ в контроле и $32,1 \pm 2,5$ в данном варианте, $t \text{ diff.} = 3$).

Трудно объяснить эти факты с позиций активации гетероауксином процессов соединения. Здесь следует учесть различную проницаемость клеток в зависимости от концентрации ИУК и в связи с этим также известный факт о несинхронности синтеза хромосом, от чего может зависеть различие в модифицирующем эффекте разных доз данного вещества.

Митотическая активность. Многие исследователи склоняются к мнению, что основой пострadiационного восстановительного действия химических веществ является оживление метаболических процессов и процессов регенерации и что это способствует излечению организма от лучевого поражения [11, 14, 15]. Однако, несмотря на то, что гетероауксин является стимулятором роста, в сочетании с облучением не всегда наблюдается это его свойство.

Возможно, что сравнительно отдаленный от момента облучения анализ по тесту выживаемости и изменению состояния животных (у мышей учитываемый обычно на 30-й день) или роста, развития и плодоношения растений показывает восстановление цитологических и физиологических процессов. Однако митотическая активность в первом пострadiационном митозе или прорастание семян и начальный рост корешков не могут сразу снять с себя подавляющее действие больших доз облучения. Наряду с хромосомами ионизирующими лучами поражаются и другие системы организма, как, например, физиологические, в частности, система синтеза ауксинов [3, 12, 19].

Анализ митотической активности клеток корешков *Allium fistulosum* L. показал некоторую зависимость интенсивности деления от дозы облучения и от концентрации вещества. При облучении в дозе 5 кр высокие концентрации ИУК ведут к активации деления (табл. 3).

При облучении дозой 10 кр наблюдается спад митотической активности до 77,1% от контроля (100%). Зависимость митотического индекса от концентрации ИУК здесь обратная: повышение концентрации ведет к усилению ингибирования митотического деления.

Прорастание семян и начальный рост корешков. В связи с митотической активностью находится динамика начального роста корешков. Интенсивность прорастания семян обычно отражает степень пораженности клеток облучением [13].

Таблица 3

Митотическая активность клеток *A. fistulosum* L.
при пострadiaционном действии гетероауксина

Вариант		Число про- смотренных клеток	Митотичес- кая актив- ность, %	t diff.	P	Отношение к контролю, %
доза облу- чения, кР	ИУК, мг/л					
Без облучения	Вода	5000	9,3±0,4	—	—	100
	100	5000	8,9±0,4	0,8	0,90	95
	500	5000	9,5±0,4	0,4	0,90	102
	1000	5000	9,6±0,4	0,6	0,90	103
5	Вода	4000	6,0±0,4	—	—	100
	100	4000	6,7±0,4	1,4	0,90	111,6
	500	5000	7,8±0,4	3,6	0,99	130
	1000	3500	7,4±0,4	2,8	0,99	123,3
10	Вода	4000	7,1±0,4	—	—	100
	100	2000	6,6±0,4	0,8	0,90	92,9
	500	4000	6,5±0,3	1,0	0,90	91,5
	1000	2400	5,5±0,4	3,2	0,99	77,1

В табл. 4 приводятся две группы вариантов, отличающиеся друг от друга дозой облучения, а каждая группа разделена на две подгруппы, отличающиеся временем, прошедшим между облучением и замачиванием семян в растворах ИУК и воде. Последнее обстоятельство, как это было продемонстрировано выше, играет существенную роль для участия ИУК в пострadiaционных процессах. К сожалению, мы не располагали соответствующим материалом для определения митотической активности по вариантам с задержкой замачивания, так как лишь единичные корешки достигали необходимой длины. Приведенные данные показывают, что всхожесть семян не изменяется не только в зависимости от концентрации раствора ИУК, но и от дозы облучения. Это положение распространяется лишь на варианты с замачиванием семян сразу после облучения. Задержка замачивания оказывает угнетающее действие на прорастание семян. Это находится в соответствии с данными А. Т. Натараджана и М. М. Марика [17] о кумуляции вредного действия облучения, если между облучением и увлажнением семян проходит некоторое время. А. М. Кузин [6] считает, что в случае проникновения воды в облученную систему вымываются токсические вещества, накопление которых приводит к допорожению клеток.

Как видно из табл. 4, ИУК в обоих случаях не оказывает существенного влияния на динамику прорастания семян.

Начальный рост также показывает зависимость от времени замачивания после облучения. Пострadiaционное действие гетероауксина сводится к усугублению ингибирующего влияния облучения и чем выше концентрация, тем сильнее подавление роста корешков. Задержка замачивания исключительно сильно меняет картину. Основой этого является допорожение системы синтеза ауксинов, продолжающееся и после прекращения облучения. Последствие в данном случае сказывается уже в первые сутки.

Исследование пострadiaционного действия ИУК на темп удлинения

Динамика прорастания семян и длина корешков *Allium fistulosum* L.
при пострadiaционном действии ИУК

Длительность воздействия при радиационном действии ИУК										Средняя длина корешков, мм
Доза облучения, кр	ИУК, мг/л	Число семян	Число проросших семян							
			на 3-й день		на 4-й день		на 5-й день			
			абс.	%	абс.	%	абс.	%		
При замачивании сразу после облучения										
5	Вода	600	39	6,5±0,3	93	15,5±0,4	177	29,5±0,5	5,33±0,40	
	100	600	19	3,1±0,7	68	11,3±0,4	146	24,3±0,5	4,60±0,37	
	500	600	39	6,5±0,3	101	16,8±0,4	192	32,0±0,6	4,75±0,30	
	1000	600	23	3,8±0,7	70	11,6±0,4	132	22,0±0,5	4,55±0,34	
При замачивании через сутки после облучения										
5	Вода	500	4	0,8±0,3	8	1,6±0,5	10	2,0±0,6	2,96±0,32	
	100	500	8	1,6±0,5	10	2,0±0,6	18	3,6±0,8	3,36±0,36	
	500	500	6	1,2±0,4	8	1,6±0,5	19	3,8±0,8	2,60±0,31	
	1000	500	5	1,0±0,3	9	1,8±0,5	4	2,8±0,7	2,60±0,26	
При замачивании сразу после облучения										
10	Вода	600	19	3,1±0,7	74	12,3±0,4	115	19,1±0,5	5,19±0,43	
	100	600	24	4,0±0,8	70	11,6±0,4	149	24,8±0,5	4,74±0,38	
	500	600	33	5,5±0,9	91	15,1±0,4	150	25,0±0,5	4,74±0,30	
	1000	600	10	1,6±0,5	50	8,3±1,1	116	19,3±0,5	3,68±0,28	
При замачивании через сутки после облучения										
10	Вода	385	4	1,0±0,5	5	1,3±0,5	11	2,8±0,8	2,66±0,42	
	100	400	4	1,0±0,4	6	1,5±0,6	14	3,5±0,9	2,60±0,38	
	500	400	4	1,0±0,4	4	1,0±0,4	10	2,5±0,7	2,68±0,46	
	1000	400	2	0,5±0,3	3	0,7±0,4	5	1,2±0,5	1,69±0,18	

корешков показало, что низкие концентрации (порядка 10^{-8} — 10^{-9} М) снимают вызванное облучением торможение роста у гороха [16]. В этом вопросе, видимо, решающими являются условия опыта (концентрация, время замачивания и т. д.), а также специфичность объекта.

На основании приведенных данных можно заключить, что восстановление структуры хромосом при пострadiaционном действии ИУК не коррелирует с энергией прорастания и начального роста корешков, а также интенсивностью деления клеток. Эти процессы, по-видимому, подчиняются иным закономерностям, и восстановительное действие ИУК на хромосомы не изменяется с оживлением метаболических процессов. Полученные данные позволяют присоединиться к мнению ряда авторов, что не имеется соответствия между поражением рентгеновскими лучами и восстановлением хромосом, с одной стороны, и процессами деления клеток, роста и развития растительного организма—с другой [4, 5, 7, 8]. Поражение этих систем подчиняется различным закономерностям, и это их различие выявляется при пострadiaционном действии гетероауксина.

На основе вышеизложенного нам кажется, что применение гетероауксина в качестве стимулятора роста в питательных средах, на которых проращиваются облученные семена, может сместить истинную кар-

тину, если преследуется цель определения защитных свойств других веществ.

Выводы

При пострadiaционном действии гетероауксина отмечается независимость эффекта восстановления от концентрации; вместе с тем, разные концентрации ИУК по-разному влияют на модификацию спектра структурных перестроек хромосом

Эффект пострadiaционного действия гетероауксина на прорастание семян, рост корешков и митотическую активность в первом митозе не коррелирует с его восстановительными свойствами, проявляющимися на уровне хромосом. В основе этого несоответствия лежит различие в поражаемости рентгеноблучением двух систем—генетической и физиологической. Экзогенный гетероауксин усиливает ингибирующее влияние облучения на процессы роста, что проявляется особенно сильно при задержке замачивания.

L. A. ARARATYAN

Հետերոաուկսինի ՀեՏԱՌԱԳԱՅԹԱԶԱՐԿԱՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ
ԿԱԽՎԱՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՆՐԱ ԽՏՈՒԹՅՈՒՆԻՑ

Ա մ փ ո փ ու մ

Allium fistulosum L. տեսակի սերմերը 10 կո դոզայով ճառագայթահարումից անմիջապես հետո դրվել են հետերոաուկսինի տարբեր խտության լուծույթների մեջ՝ 24 ժամ անողությամբ, որի հետևանքով բրոմոսոմների մուտացիաներ կրող բջիջների թիվը զգալի ընկել է: Հետերոաուկսինի լուծույթի բարձրացման հետ պակասել է վնասված բջիջների տոկոսը:

5 կո դոզայով ճառագայթահարելուց հետո, հետերոաուկսինի վերահիշյալ խտություններից ոչ մեկը պաշտպանական ազդեցություն չի ցուցաբերել:

Հետերոաուկսինը որոշ հետճառագայթահարման ազդեցություն է գործում նաև բջիջների բաժանման, սերմերի ծլման և արմատիկների աճման վրա, սակայն նրա արդյունքները չեն հարաբերակցվում վնասված բրոմոսոմների վերականգնման օրինաչափությունների հետ:

L. A. ARARATYAN

EFFECT OF POST-IRRADIATION OF INDOLACETIC ACID
DEPENDEND ON ITS DENSITY

Summary

Seeds of *Allium fistulosum* L. species immediately after having been irradiated with a dose of 10 kX-rays, were put in IAA solutions of different densities for 24 hours, as a result of which the number of cells bearing chromosome mutations has decreased. The percentage of the injured cells decreases with the increasing density of the IAA solution.

None of the above mentioned heteroauxin densities shows a protective effect after being irradiated with a 5 kX-rays dose.

A certain effect of post-irradiation of heteroauxin can also be noted on the division of cells, sprouting of seeds and the growth of small roots, but the results cannot be related to the regularities of the restoration of the injured chromosomes.

ЛИТЕРАТУРА

1. Араратян Л. А. Биологический журн. Армении, т. 20, № 9, 1967, 48—57.
2. Барнс Д., Лаутит Дж. В кн.: «Ионизирующие излучения и клеточный метаболизм», М., 1958, 178.
3. Гордон А. В кн.: «Материалы международной конференции по мирному использованию атомной энергии», Женева, 1955, 348—358. Изд. Мед. лит-ры, М., 1958.
4. Горизонтов П. Д. Радиобиология (информ. бюл.), 8, 3, 1965.
5. Дэвидсон Д. В кн.: «Радиационная защита и восстановление», Атомиздат, 1964, 182—220.
6. Кузин А. М. Радиобиология (информ. бюл.), 8, 1965, 68.
7. Парибок В. П. Цитология, т. XI, № 2, 1967, 137—151.
8. Стейплтон Дж. В кн.: «Радиационная защита и восстановление», Атомиздат, 1964, 93.
9. Стрелков Р. Б., Семенов Л. Ф. Радиобиология, т. VII, вып. 4, 1967, 562—564.
10. Царапкин Л. С. В сб.: «Первичные механизмы биологического действия ионизирующих излучений», 1963, 213—217.
11. Butler J. A. V. In: „Radiobiology Symp.“, 1954, London (In discussion).
12. Gordon S. A. Quart. rev. biol., 32, 1, 1957, 3—14.
13. Harrison B. J., McLeish J. Nature (Lond.), 173, 1954, 195—196.
14. Kimball R. F. Amer. Rev. Microbiol., 11, 1957, 199—220.
15. Kimball R. F. Rad. Res., 9, 1958, 138—139.
16. Mika E. S. Botan. Gaz., 113, N 3, 1952, 285—293.
17. Natarajan A. T., Mairic M. M. Rad. Bot., 1, 1961, 1—9.
18. Patt H. M. In: „Radiobiology Symposium“, 105, London, 1954.
19. Skoog F. J. Cell. Comp. Phys., 7, 1935, 227—270.