Л. А. АРАРАТЯН, А. А. ВАРТАНЯН

МОДИФИКАЦИЯ КРОТИЛИНОМ ДИНАМИКИ КЛЕТОЧНОГО ДЕЛЕНИЯ

Исследование процесса деления клеток может объяснить многие явления, происходящие под воздействием химических и физических агентов. Изменения в клеточном делении приводят зачастую к нарушениям, являющимися решающими для жизни клеток, тканей и даже организмов.

С этой точки зрения как первый этап исследования генетических свойств кротилина нами было предпринято изучение его действия на митотическое деление клеток.

Кротилин—хлоркротиловый эфир 2,4-Д—один из эффективных гербицидов, применяемых для уничтожения двудольных сорняков в посевах злаков. Известен ряд работ по определению степени активности его действия в разных районах страны [1—3]. Обработка кротилином растений в период цветения и оформления колоса приводит к нарушениям в морфогенезе [3]. Вместе с тем его влияние сказывается на основном посеве—интенсифицируется рост растений и повышается урожай [4, 5].

Не исключена возможность его воздействия и на генетический аппарат клеток, на процесс деления, что определяет и наш интерес к этому веществу.

Семена Allium cepa L. проращивали в чашках Петри на воде. На третьи сутки отбирали семена с корешками длиной 4—5 *мм* и переносили на фильтровальную бумагу, смоченную растворами кротилина 10^{-3} и 10^{-6} %. Концентрации эти выбраны не случайно. Наши предварительные опыты показали, что более концентрированные растворы подавляют рост корешков. В сельскохозяйственной практике обычно используется концентрация 10^{-3} % и интересно было выяснить ее эффект. Корешки сразу после обработки промывали в воде и фиксировали в смеси спирт+уксусная кислота. Фиксацию материала производили через каждые три часа в течение 24 часов, точки фиксации одновременно указывают продолжительность обработки корешков лука растворами кротилина. Контролем служил вариант с водой.

Проводили анализ митотической активности и отдельно анализ по фазам митоза по описанной ранее методике [6]. На каждый срок обработки просматривали по 25 корешков.

Данные табл. 1 показывают, что к началу обработки кротилином в корешках A. cepa длиной 4—5 *мм* клетки еще не начали делиться (не обнаружено митозов), что вполне совпадает с имеющимися в литературе сведениями о начальном росте корешков путем растяжения клеток [7].

Уже через три часа обработки появляются делящиеся клетки, причем в вариантах с кротилином отмечается стимуляция этого процес-

са, ибо в обоих случаях по сравнению с контролем вдвое и более увеличен процент делящихся клеток: митотическая активность в контроле—0,85±0,21% от общей суммы (5000 клеток), при кротилине 3,94±0,3 и 4,40±0,3% (при растворах 10^{-3} и 10^{-6} % соответственно). Однако в последующие часы разрыв этот не сохраняется, а наоборот, в опытных вариантах замечается отставание от уровня контроля. В корешках, зафиксированных через 6 и 9 часов от начала обработки, спад по сравнению с контролем наиболее значительный. Так, через 6 часов в контроле отмечено 8,32+0,44% делящихся клеток, а в вариантах с кротилином 6,55±0,39 и 5,90±±0,37%, а еще через три часа разница увеличивается: 10,0±±0,47, 5,51±0,36 и 2,87±0,26% соответственно. Затем идет постепенное нарастание числа делящихся клеток и к концу первого митоза почти достигается уровень контроля (рис. 1).

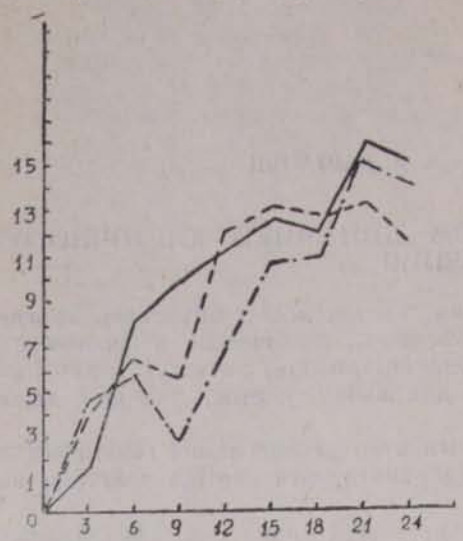

Рис. 1. Действие кротилина на митотическую активность клеток.
Варианты: ———— контроль;
– – – – – кротилин 10^{-6}%;
— · — · — кротилин 10^{-3}%.
По оси абсцисс—продолжительность обработки корешков (в часах), по оси ординат—митотическая активность (в %).

Сопоставление данных вариантов с кротилином и контроля по сумме делившихся в течение первого митоза клеток не обнаруживает почти различия в количестве клеток, прошедших первый митоз (31,42% в контроле, 30,99%—при 10^{-6}% кротилина и 28,75%—при 10^{-3}% кротилина). Это указывает на тот факт, что действие кротилина в условиях данного опыта ограничивается смещением активности митоза во времени и не характеризуется стимулированием или ингибированием процесса в целом.

В нашем опыте отмечается некоторая растянутость во времени прохождения первого митоза, что не совпадает с данными Вант Гофа относительно цикла митоза у А. сера: длительность всего цикла (включая интерфазу) составляет 18—18,5 часов, из которых 5—6,5 часов приходятся на профазу—телофазу. Вероятно, такое несовпадение можно объяснить тем, что нами взяты старые семена, и уровень спонтанного мутирования хромосом в корешках составляет 7,3%, что является довольно высоким фоном. Между тем известно, что среднее замедление митоза гораздо больше в клетках с аберрациями хромосом, нежели в неповрежденных клетках [8].

Анализ данных по отдельным фазам митоза показал, что пики и спады процентов профаз под действием двух растворов кротилина не повторяют кривой контроля (рис. 2). Если в первой точке (3 часа обработки) действие кротилина стимулирует переход клеток к профазе, то к 9 часам наступает спад, тогда как кривая, отражающая показатели контроля, постепенно поднимается и к 15 часам достигает пика. Более слабый раствор кротилина (10^{-6} %) дает меньше колебаний в выходе профаз, чем другой раствор, характеризующийся более круты-

Таблица 1

Действие кротилина на митотическую активность клеток корешков

Время обработки (час)	Вариант*	Митотическая активность, %	Активность по фазам (% от суммы делящихся клеток)				
			профаза	метафаза	анафаза	телофаза	клетки с микроядрами
3	1	1,85±0,21	0,55±0,12	0,65±0,3	0,32±0,09	0,32±0,09	—
	2	3,95±0,31	2,35±0,24	0,82±0,14	0,45±0,11	0,32±0,09	—
	3	4,40±0,32	3,02±0,27	0,52±0,11	0,57±0,12	0,27±0,08	—
6	1	8,32±0,44	4,07±0,31	2,75±0,26	1,20±0,17	1,25±0,18	—
	2	6,55±0,39	3,97±0,31	0,82±0,14	0,45±0,11	0,55±0,12	—
	3	5,90±0,37	4,00±0,31	0,97±0,15	0,52±0,11	0,40±0,10	—
9	1	10±0,47	6,40±0,40	1,92±0,22	0,97±0,15	0,93±0,15	—
	2	5,51±0,36	3,02±0,26	1,50±0,19	0,82±0,14	0,70±0,13	—
	3	2,87±0,26	2,37±0,24	0,32±0,09	0,12±0,05	0,05±0,04	—
12	1	11,25±0,50	6,97±0,40	1,67±0,20	1,20±0,17	0,92±0,15	—
	2	12,7 ±0,52	6,32±0,38	2,17±0,23	2,00±0,22	1,57±0,19	—
	3	7,07±0,41	4,80±0,34	1,52±0,19	0,47±0,11	0,27±0,08	—
15	1	12,42±0,52	8,60±0,41	2,25±0,23	1,50±0,19	1,07±0,16	0,25±0,08
	2	13,5 ±0,54	6,91±0,40	3,12±0,28	1,80±0,21	1,65±0,20	0,27±0,08
	3	10,75±0,60	6,65±0,39	1,72±0,20	1,42±0,19	0,95±0,15	—
18	1	12,20±0,51	7,12±0,41	1,70±0,20	1,52±0,19	1,37±0,18	0,30±0,09
	2	12,62±0,53	6,77±0,40	2,75±0,26	1,77±0,21	1,32±0,18	0,07±0,04
	3	10,94±0,56	6,62±0,39	2,25±0,23	0,82±0,14	1,25±0,18	0,25±0,08
21	1	16,02±0,58	8,22±0,43	3,80±0,30	2,20±0,23	2,10±0,22	0,60±0,12
	2	13,25±0,54	6,25±0,38	3,00±0,27	2,35±0,24	1,67±0,20	0,30±0,09
	3	15,1 ±0,57	9,17±0,46	2,85±0,26	1,45±0,19	1,62±0,20	0,15±0,06
24	1	15,07±0,57	7,85±0,42	3,02±0,27	2,75±0,27	1,87±0,21	0,37±0,09
	2	11,42±0,50	6,65±0,39	2,35±0,24	1,55±0,19	0,82±0,14	0,32±0,09
	3	14,4 ±0,55	8,50±0,44	3,05±0,28	1,62±0,20	1,22±0,17	0,48±0,11

* Варианты: 1—контроль, 2—кротилин 10^{-6} %, 3—кротилин 10^{-3} %.

ми спадами и подъемами кривой. То же самое можно отметить и в отношении влияния на метафазу. Хотя абсолютное количество их и колеблется в меньших пределах, чем в случае профазы, но основная тенденция действия кротилина сохраняется (рис. 3).

На протяжении всего исследованного периода количество анафаз и телофаз заметно отстает от контроля, что особенно явно в варианте с 10^{-3} % (рис. 4, 5).

Снижение общей митотической активности обусловлено снижением почти в одинаковой степени показателей по всем четырем фазам.

Необходимо особо остановиться на динамике появления клеток с микроядрами. Известно, что фрагменты поврежденных хромосом или же отстающие хромосомы при организации ядра новой клетки обычно не включаются в него, а создают отдельные микроядра, и появление клеток с микроядрами является показателем перехода части клеток в интерфазу второго митоза.

Учет микроядер в нашем опыте велся параллельно с определением митотической активности с 200 клеток на каждый просмотренный корешок.

Данные таблицы показывают, что при более слабом из испытанных нами растворов кротилина процент клеток с микроядрами не отлича-

ется от контрольного показателя. Нет различия также во времени появления первых клеток с микроядрами: в обоих случаях они появляются на 15-м часу и в одинаковом количестве. В последующие часы процент клеток с микроядрами в этом варианте значительно меньше,

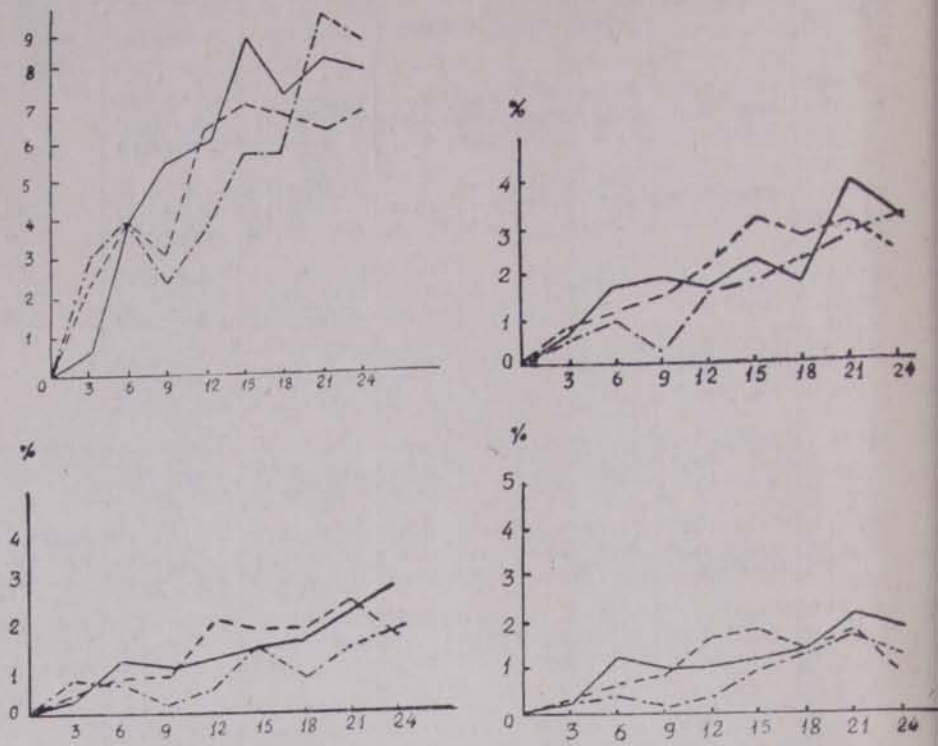

Рис. 2—5. Действие кротилина на активность отдельных фаз митоза.
Варианты: ——— контроль;
— — — кротилин 10^{-6}%;
— · — · — кротилин 10^{-3}%.
По оси абсцисс—продолжительность обработки корешков (час), по оси ординат—процент клеток в данной фазе.

чем в контроле, но достоверность разницы опыт—контроль для 18-го часа обработки составляет 2,3, а для 21-го часа—2,0.

Действие раствора 10^{-3}% кротилина сводится к растягиванию течения первого митоза, и появление клеток с микроядрами в этом варианте отмечено на три часа позже, чем в контроле. Количественно данные обсуждаемого варианта достоверно отличаются от контроля лишь в случае обработки 21 час (достоверность разницы опыт—контроль—3,4).

Таким образом, выяснено, что уже через 3 часа от начала обработки кротилин способствует увеличению процента делящихся клеток, которые к началу обработки в массе были готовы к переходу к профазе. Далее, с течением времени сказывается ингибирующее действие вещества, но начиная с 12-го часа обработки оно постепенно слабеет.

Снижение общей митотической активности обусловлено снижением почти в одинаковой степени показателей по всем четырем фазам митоза.

Влияние 10^{-3} % раствора кротилина характеризуется замедлением прохождения первого митоза, показателем чего является задержка на 3 часа по сравнению с контролем появления клеток с микроядрами.

Լ. Ա. ԱՐԱՐԱՏՅԱՆ, Ա. Ա. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ

ԿՐՈՏԻԼԻՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԲՋՋԱՅԻՆ ԲԱԺԱՆՄԱՆ ԴԻՆԱՄԻԿԱՅԻ ՎՐԱ

Ամփոփում

Allium cepa L. տեսակի ծիլերը մշակվել են կրոտիլինի տարբեր խտությունների լուծույթներով։ Պարզվել է, որ մշակումից 3 ժամ հետո բջիջների բաժանման ռոկոսը բարձրացել է։ Հետագա ժամերի ընթացքում նկատվել է այդ նյութի ճնշող ազդեցություն, որը 12-րդ ժամից սկսած թուլացել է։

L. A. ARARATYAN, A. A. VARDANYAN

EFFECT OF CROTILINE ON THE DYNAMICS OF CELL SEPERATION

Summary

Sprouts of the Allium cepa L. type have been treated with crotiline solutions of different densities. It was found out that three hours following their treatment the percentage of the separation of cells had risen. During the following hours it was noticed that the substance had a suppressing effect which weakened only from the 12th hour on.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Галстян Ц. М.* Влияние гербицидов (натриевой соли 2,4-Д и кротилина) на сорную растительность в различных подзонах Сисианского района Армянской ССР. Автореферат канд. диссертации, Ереван, 1963.
2. *Карапетян Н. О.* Результаты государственного испытания нового гербицида кротилина в посевах кукурузы в различных районах Советского Союза. Известия МСХ Арм. ССР, 8, 41, 1963.
3. *Джугарян О. А.* Влияние гербицидов на яровой ячмень Нутанс в условиях сухостепной зоны Армении. «Биологический журнал Армении», 22, № 1, 86, 1969.
4. *Джугарян О. А.* Действие гербицидов на аминокислотный состав зерна яровой пшеницы Кондик. «Биологический журнал Армении», 22, № 3, 91, 1969.
5. *Абрамян А. Г.* Действие некоторых физиологически активных веществ на рост растений. «Биологический журнал Армении», 21, № 6, 1968.
6. *Араратян Л. А.* Некоторые особенности генетического действия гетероауксина на клетки растения. Канд. диссертация, Ереван, 1969.
7. *Van't Hof J.* Relationships between mitotic cycle duration, S-period duration and the averege rate of DWA synthesis in the root meristem cells of severel plants. Exptl Cell Res., 39, 1, 48, 1965.
8. *Хайтинг А.* Защита и восстановление клетки от радиационного повреждения. В кн.: «Радиационная защита и восстановление», 122, Атомиздат, 1964.