

В. А. Амирбекия

ДЕЙСТВИЕ РЕНТГЕНОВСКИХ ЛУЧЕЙ И ЭТИЛЕНИМИНА НА МИТОТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ

Радиочувствительность клеток в различных фазах митотического цикла изучается давно. Н. Л. Делоне /1/, основываясь на данных многих исследователей по этому вопросу, сделал заключение, что чувствительность клеток к ионизирующим излучениям меняется по мере прохождения через фазы клеточного деления. Так например, самой радиоустойчивой фазой он считает интерфазу, а стадии митоза — профаза, метафаза, анафаза и телофаза — являются чувствительными фазами митотического цикла. Причем радиочувствительность клеток меняется не только от одной фазы к другой, но и в пределах даже периода одной фазы. В постсинтетическом периоде (S_2) клетки устойчивы вначале, наиболее чувствительны в середине и менее чувствительны к концу.

Существует много данных также относительно чувствительности клеток к этилениминам. Этиленимин и его производные обладают высоким мутагенным эффектом при воздействии на растительные и животные организмы и с годами находят все большее применение в экспериментальном мутагенезе. Различают два типа действия этилениминов — структурное и функциональное (торможение митотической активности) /3/. Эти различия обусловлены применяемой дозой. Так, при больших концентрациях обнаруживается цитотоксический эффект, что приводит к гибели клеток. Небольшие же дозы временно подавляют митотическое деление за счет блокирования ферментативных систем. Однако до настоящего времени не выяснены многие вопросы, связанные с зависимостью между митотическим циклом и реакцией хромосом к мутагенным воздействием этиленимина. В частности, противоречивы данные о наибольшей чувствительности к мутагену различных фаз деления клеток.

Важное значение имеет изучение роли генотипа в мутационном процессе. Различия чувствительности разных видов, разновидностей, сортов растений к ионизирующим излучениям и химическим агентам наблюдали многие исследователи, начиная с самых ранних работ /4-6/ и кончая сравнительно недавними /7-11/.

Итоги этих работ показывают, что разные сорта по-разному реа-

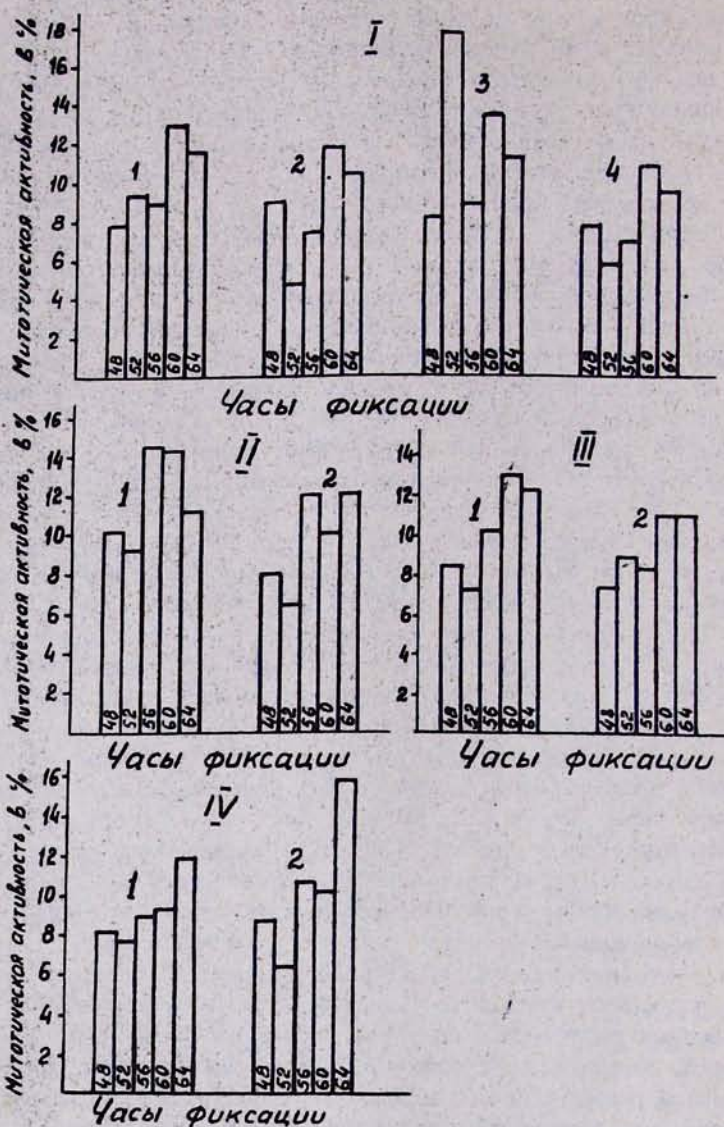
гируют на мутагены. Кроме того известно, что чувствительность различных видов и сортов к ионизирующим излучениям у многих из них не совпадает с их чувствительностью к химическим мутагенам, что, по-видимому, объясняется различием причин, обуславливающих чувствительность в радиационном и химическом мутагенезе /12/.

Несмотря на многочисленные исследования в этой области, вопрос о чувствительности организмов при воздействии различных мутагенов до сих пор мало выяснен. Полагается, что устойчивость растений связана с восстановительными процессами, протекающими в клетках растений в ответ на поражающее действие мутагенов.

В предыдущей работе /13/, проведенной на корешках сортов мягкой пшеницы, мы проследили за ходом цитогенетических изменений под воздействием рентгенооблучения и этиленimina. В данной работе изучались митотическая активность по фазам и соотношение их в процентах от общей суммы, так как после поражающих действий мутагенов на первичные процессы, наряду с цитогенетическими изменениями, нарушается механизм митоза. Так, при воздействии ионизирующих излучений обычно снижается митотическая активность /14/.

Объектом служили четыре сорта мягкой пшеницы (*T. aestivum*): Арташати 42 (*var. turcicum*), Эритролеукон (*var. erythroleucon*), Спитакаат (*var. graecum*) и Галгалос (*var. delfi*). Семена облучались рентгеновскими лучами на установке РУМ-11 при напряжении на трубке 185 кВ, силе тока 15 мА, мощности дозы 415 р/мин. Доза облучения 10 кр. Облученные и контрольные семена сорта Арташати 42 обрабатывали также водным раствором этиленimina в концентрации 0,02% с продолжительностью обработки 18 час. Семена проращивали в чашках Петри в термостате при 25°C. Корешки начали фиксировать через 48, 52, 56, 60 и 64 час. в смеси абсолютного спирта и ледяной уксусной кислоты (3:1). Корешки окрашивали ацетокармином и готовили временные давленные препараты. В каждом варианте исследовали 4000 клеток. Проводили отдельный учет всех фаз митоза и определяли из расчета количества митозов на 100 клеток.

На рисунке и в табл. 1, 2 представлены данные количественного учета делящихся клеток по фазам и митотической активности при воздействии рентгеновских лучей, этиленimina и их совместном воздействии. У сорта Эритролеукон 12 в варианте рентгенооблучения наблюдаются сменяющиеся периоды усиления и спада митотической активности, что можно объяснить нарушением направленности физиологических и биохимических процессов, протекающих в клетках. В отличие от контроля здесь наблюдается общее понижение митотической активности во всех сроках, кроме последнего (64 час), где она достигает контрольного уровня. Здесь имеет место увеличение числа профаз, превосходящее контроль во много раз, что наблюдается и по сравнению с другими сортами. Накопление профаз свидетельствует о нарушении механизма, который обеспечивает вступление клеток в митоз. В результате этого клетки, вступив в митоз, накапливаются в профазе. Далее число делящихся клеток постепенно уменьшается, и на стадии телофазы, на 60-часовой фиксации, деление клеток вовсе не обнаруживается. Оно отмечается в следующий срок фиксации. Мож-



Динамика митотической активности клеток корешков мягкой пшеницы при рентгенооблучении. I. Арташати 42: 1) контроль; 2) рентгенооблучение; 3) ЭИ 0,02%; 4) рентгенооблучение + этиленмин 0,02%. II. Эритролеукон 12: 1) контроль; 2) рентгенооблучение /10 кр/. III. Спитакаат: 1) контроль; 2) рентгенооблучение /10 кр/. IV. Галгалос: 1) контроль; 2) рентгенооблучение /10 кр/.

но предполагать, что здесь имеет место удлинение продолжительности анафазы, и клетки, не успевшие быть в этой фазе к этому сроку

Таблица 1

Количество клеток по фазам в корешках сортов мягкой пшеницы при рентгенооблучении

Сор- та	Время фиксаций, часы	Контроль				10 кр			
		Активность по фазам / % от делящихся клеток /							
		профаза	метафаза	анафаза	телофаза	профаза	метафаза	анафаза	телофаза
Эритролеу- кон 12	48	1,57 $\pm$ 0,20	5,07 $\pm$ 0,35	2,75 $\pm$ 0,26	0,72 $\pm$ 0,13	1,85 $\pm$ 0,21	3,50 $\pm$ 0,29	2,2 $\pm$ 0,23	0,42 $\pm$ 0,10
	52	3,0 $\pm$ 0,27	3,87 $\pm$ 0,30	2,02 $\pm$ 0,22	0,45 $\pm$ 0,11	2,17 $\pm$ 0,23	2,06 $\pm$ 0,22	1,42 $\pm$ 0,19	0,82 $\pm$ 0,14
	56	3,55 $\pm$ 0,29	5,55 $\pm$ 0,36	2,80 $\pm$ 0,26	2,72 $\pm$ 0,26	4,37 $\pm$ 0,35	5,30 $\pm$ 0,35	1,75 $\pm$ 0,21	0,30 $\pm$ 0,88
	60	2,15 $\pm$ 0,22	6,45 $\pm$ 0,39	4,02 $\pm$ 0,31	1,5 $\pm$ 0,19	5,77 $\pm$ 0,37	3,55 $\pm$ 0,29	0,62 $\pm$ 0,12	-
	64	3,75 $\pm$ 0,30	5,15 $\pm$ 0,35	1,92 $\pm$ 0,22	0,35 $\pm$ 0,09	3,25 $\pm$ 0,28	5,47 $\pm$ 0,36	2,57 $\pm$ 0,25	0,45 $\pm$ 0,11
Спитаккаг	48	1,15 $\pm$ 0,17	2,77 $\pm$ 0,26	2,35 $\pm$ 0,24	2,02 $\pm$ 0,22	2,42 $\pm$ 0,24	3,10 $\pm$ 0,27	1,27 $\pm$ 0,18	0,60 $\pm$ 0,12
	52	1,62 $\pm$ 0,20	2,57 $\pm$ 0,25	2,25 $\pm$ 0,24	0,90 $\pm$ 0,15	2,57 $\pm$ 0,25	3,60 $\pm$ 0,29	1,97 $\pm$ 0,22	0,70 $\pm$ 0,13
	56	2,32 $\pm$ 0,24	4,52 $\pm$ 0,33	2,55 $\pm$ 0,25	0,80 $\pm$ 0,14	2,45 $\pm$ 0,24	4,30 $\pm$ 0,32	1,07 $\pm$ 0,16	0,57 $\pm$ 0,12
	60	4,2 $\pm$ 0,32	5,47 $\pm$ 0,36	2,57 $\pm$ 0,25	0,67 $\pm$ 0,13	2,62 $\pm$ 0,25	4,60 $\pm$ 0,33	2,67 $\pm$ 0,25	1,20 $\pm$ 0,17
	64	2,8 $\pm$ 0,26	5,37 $\pm$ 0,36	3,30 $\pm$ 0,28	0,67 $\pm$ 0,13	3,12 $\pm$ 0,27	5,02 $\pm$ 0,34	2,57 $\pm$ 0,25	0,27 $\pm$ 0,08
Галгалос	48	2,8 $\pm$ 0,26	3,10 $\pm$ 0,27	1,47 $\pm$ 0,19	0,77 $\pm$ 0,14	1,75 $\pm$ 0,20	3,17 $\pm$ 0,28	1,32 $\pm$ 0,18	2,15 $\pm$ 0,23
	52	1,9 $\pm$ 0,22	3,02 $\pm$ 0,27	1,92 $\pm$ 0,22	0,82 $\pm$ 0,14	1,90 $\pm$ 0,22	2,52 $\pm$ 0,25	1,27 $\pm$ 0,18	0,50 $\pm$ 0,11
	56	2,22 $\pm$ 0,23	4,27 $\pm$ 0,32	1,82 $\pm$ 0,14	0,40 $\pm$ 0,09	2,65 $\pm$ 0,25	5,22 $\pm$ 0,35	1,87 $\pm$ 0,21	0,92 $\pm$ 0,15
	60	1,32 $\pm$ 0,18	3,90 $\pm$ 0,31	3,87 $\pm$ 0,30	0,25 $\pm$ 0,07	2,52 $\pm$ 0,25	4,60 $\pm$ 0,33	2,35 $\pm$ 0,24	0,65 $\pm$ 0,13
	64	3,90 $\pm$ 0,30	5,67 $\pm$ 0,36	1,87 $\pm$ 0,21	-	3,37 $\pm$ 0,29	4,82 $\pm$ 0,34	7,02 $\pm$ 0,40	0,40 $\pm$ 0,09

(60 час), проявлялись на 64 часу. Хотя известно, что анафаза — самая короткая фаза в цикле и при действии антимиотических агентов не ингибируется.

У сорта Спитакаат число метафаз по сравнению с другими фазами увеличивается. Это увеличение отражает торможение митоза в этой фазе. Митотическая активность понижается во все сроки и лишь к последнему сроку несколько превышает контроль.

У сорта Галгалос также наблюдаются спады и подъемы митотической активности. К последнему сроку митотическая активность резко повышается и превосходит таковую у всех остальных сортов. При всех комбинациях митотическая активность во время спадов находится на уровне контроля, а в остальные сроки превосходит его.

У сорта Арташати 42 наблюдается резкий спад митотической активности на 52 часу. Далее в период от 56 до 64 час. наступает постепенное увеличение. Наблюдается накопление клеток в метафазе, что указывает на торможение митоза в этой фазе.

Сопоставляя данные разных сортов, можно сказать, что рентгенооблучение, в целом, оказывает несколько угнетающее действие на митоз. Имеют место изменения процентного соотношения различных фаз митоза в зависимости от сортовой специфики. Так например, по сравнению с контролем у сортов Эритролеукон 12 и Спитакаат наблюдается накопление профаз. Сорт Галгалос превышает контроль по частоте делящихся клеток во всех фазах митоза. Таким образом, рентгенооблучение, угнетающе действующее на митоз других сортов, стимулирует у сорта Галгалос, находясь на уровне контроля в первые часы фиксации: митотическая активность у этого сорта превышает контроль в поздние часы фиксации, а в последний час превосходит его во много раз. Колебание в соотношении различных фаз митозов в пределах одного сорта объясняется подавляющим действием рентгенооблучения на деление клеток. Блокируя их последовательное продвижение по митотическому циклу, оно удлиняет продолжительность той или иной стадии и способствует накоплению клеток отдельных фаз митоза. Сортовая специфика имеет место также при продолжительности митотического цикла. Так, в работе Тейлора /15/ показано контролирование зависимости длительности митотического цикла от генотипа.

Анализ митотической активности в соотношении различных фаз митоза, при действии этиленмина на сорт Арташати 42, показывает высокую частоту делящихся клеток во всех фазах по сравнению с рентгенооблучением. К 52 часу митотическая активность превышает рентгенооблучение и контроль во много раз. Отмечено также уменьшение профаз по сравнению с контролем в первые сроки фиксации, вероятно по причине блокирования на стадии интерфазы, не допускающей вступление клеток в митоз. Важно отметить, что уменьшение клеток в первые и увеличение их в поздние часы фиксации, как при рентгенооблучении, так и под воздействием этиленмина, закономерно для всех фаз митоза, кроме телофазы. Очевидно, под воздействием мутагенов происходят сокращение продолжительности интерфазы и удлинение отдельных фаз митоза. Изменение же количества телофаз у сортов незначительно во всех вариантах, кроме сорта Галгалос.

Совместное воздействие оказывает подавляющее действие на ми-

Таблица 2

Количество клеток, находящихся в разных фазах митоза в корешках сорта Арташати 42

Варианты	Время фиксации, часы	Активность по фазам (% от делящихся клеток)			
		профаза	метафаза	анафаза	телофаза
Контроль	48	$1,97 \pm 0,22$	$3,32 \pm 0,28$	$1,25 \pm 0,18$	$1,0 \pm 0,56$
	52	$3,0 \pm 0,27$	$3,95 \pm 0,31$	$1,95 \pm 0,22$	$0,45 \pm 0,11$
	56	$2,0 \pm 0,22$	$4,05 \pm 0,31$	$1,95 \pm 0,22$	$0,87 \pm 0,147$
	60	$2,97 \pm 0,27$	$5,32 \pm 0,35$	$4,50 \pm 0,33$	$0,32 \pm 0,09$
	64	$2,70 \pm 0,26$	$6,12 \pm 0,38$	$2,70 \pm 0,26$	$0,22 \pm 0,07$
Рентген-облучение, 10 кр	48	$0,97 \pm 0,15$	$3,45 \pm 0,29$	$3,37 \pm 0,29$	$1,10 \pm 0,16$
	52	$2,27 \pm 0,23$	$2,2 \pm 0,23$	$0,92 \pm 0,15$	$0,32 \pm 0,09$
	56	$2,55 \pm 0,25$	$3,25 \pm 0,28$	$1,30 \pm 0,18$	$0,27 \pm 0,08$
	60	$3,55 \pm 0,29$	$5,57 \pm 0,36$	$1,80 \pm 0,21$	$0,72 \pm 0,13$
	64				
ЭИ 0,02%	48	$0,90 \pm 0,15$	$3,32 \pm 0,28$	$2,65 \pm 0,25$	$0,97 \pm 0,15$
	52	$2,8 \pm 0,26$	$3,27 \pm 0,28$	$5,35 \pm 0,36$	$6,12 \pm 0,38$
	56	$1,32 \pm 0,18$	$4,05 \pm 0,308$	$0,57 \pm 0,12$	$0,75 \pm 0,13$
	60	$4,25 \pm 0,32$	$6,20 \pm 0,38$	$2,05 \pm 0,22$	$0,42 \pm 0,10$
	64	$2,5 \pm 0,25$	$4,85 \pm 0,34$	$3,22 \pm 0,28$	$0,47 \pm 0,11$
10кр+ ЭИ 0,02%	48	$1,07 \pm 0,16$	$3,4 \pm 0,29$	$2,07 \pm 0,22$	$1,0 \pm 0,19$
	52	$1,70 \pm 0,20$	$2,57 \pm 0,25$	$1,40 \pm 0,19$	$0,35 \pm 0,09$
	56	$1,92 \pm 0,22$	$2,90 \pm 0,26$	$1,70 \pm 0,20$	$0,35 \pm 0,9$
	60	$3,85 \pm 0,30$	$4,32 \pm 0,32$	$1,90 \pm 0,22$	$0,60 \pm 0,12$
	64	$2,55 \pm 0,25$	$4,47 \pm 0,32$	$1,77 \pm 0,21$	$0,37 \pm 0,09$

тоз. Слады митотической активности отмечены с первых же часов фиксации, далее в последних двух сроках идет повышение митотической активности, которая несколько ниже, чем при воздействии этиленимином и рентгенооблучением в этих же сроках. Понижение митотической активности, по сравнению с рентгенооблучением, наблюдается во всех сроках, кроме второго, где они равны, а по сравнению с этиленимином это равенство наблюдается в первом сроке, затем во втором сроке идет резкое повышение, которое в несколько раз превосходит вариант совместного воздействия. Повышение имеет место также в последующие часы по сравнению с совместным воздействием.

Таким образом, на сортах мягкой пшеницы показаны как общее подавление митотической активности под воздействием рентгенооблучения, выражающееся в уменьшении клеток, вступающих в профазу, так и стимулирующее действие, проявляющееся в повышении числа делящихся клеток во всех фазах митоза в зависимости от сортовой специфики.

Комбинированное действие двух мутагенов оказывается более эффек-

тивным, чем каждого в отдельности. По сравнению с отдельными мутагенами оно сильнее подавляет митотическую активность клеток.

V. A. Amirbekian

THE EFFECT OF X-RAYS AND ETHYLENIMINE ON THE MITOTIC ACTIVITY

S u m m a r y

It was shown that x-ray irradiation of wheat leads to a general depression, which is expressed by the decrease of the number of dividing cells entering mitosis, as well as to a stimulation which is expressed by the increase of the number of the dividing cells in the mitotic phases, depending on the variety characteristics.

It was also shown that ethylenimine has a stimulatory effect on the mitotic activity.

According to the tests the combined application is more effective than that of separate mutagens.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Делоне Н. Л. Перестройки хромосом, вызванные ионизирующими излучениями. В сб.: Итоги науки. Ионизирующие излучения и наследственность, М., Изд-во АН СССР, 104, 1966.
2. Митрофанов Ю. А., Тарасов Г. С. Действие облучения на митотический цикл клеток, радиочувствительность фибробластов эмбриональных тканей мышей в различных фазах цикла. В сб.: Влияние ионизирующих излучений на наследственность, М., "Наука", 1966.
3. Бартошевич Ю. Э. Этиленимин и мутационный процесс. В сб.: Супермутагены, М., "Наука", 1966.
4. Делоне Н. Л. Опыты по рентгенизации селекции пшениц. Н.-и. ин-т Союзсахара, У1, Киев, 1930.
5. Сапегин А. А. Рентгеномутации мягкой пшеницы. Тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции, серия П, 9, 1936.
6. Асеева Т. В., Благовидова М. Искусственные мутации у картофеля. Социалистическое растениеводство, серия А, № 15, 1935.
7. Шкарников П. К., Черный И. В. Экспериментальные мутации у яровой пшеницы и их значение для селекции. Радиобиология, 1, вып. 2, 1961.
8. Gevallos G. Redpuesta de algunas variedades irradiation gamma. Turrialba 13, I, 1963.
9. Mak-Key. Methods of utilizing induced mutation and plant breeding. U.S.A., 336, 334, 1961.
10. Енкен В. Б. Роль генотипа в экспериментальном мутагенезе. В сб.: Экспериментальный мутагенез у с.-х. растений и его использование в селекции, 1966.

11. Эйгес Н. С. Мутагенный эффект разных концентраций этиленимина на озимой пшенице. В сб.: Экспериментальный мутагенез у с.-х. растений и его использование в селекции, М., "Наука", 1966.
12. Зоз Н. Н., Кожанова Н. Н., Сальникова Т. В. Чувствительность различных сельскохозяйственных культур к воздействию химическими мутагенами. Генетика, № 2, 1967.
13. Амирбемян, В. А., Авакян В. А., Действие рентгеновских лучей и этиленимина на частоту мутирования хромосом у мягкой пшеницы. В сб.: Экспериментальный мутагенез, вып. 4.
14. Шербаков В. К. Методы цитогенетического анализа действия радиации и радиомиметических веществ. Радиобиология, информ. бюллетень, № 7, 1965.
15. Taylor J.H. Control mechanisms for chromosome reproduction in the cell growth and cell division. N.J. London 2:161-177, 1963.