

Г. Г. БАТИКЯН, Е. Г. СИМОНЯН, Г. Е. САМВЕЛЯН

ИЗМЕНЕНИЕ МИТОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК КОРЕШКОВ ЛУКА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ТЕМПЕРАТУРНОГО ШОКА

Естественные ритмы клеточного деления не сохраняются долго в ряду поколений. Это объясняется, очевидно, воздействием различных факторов, влияющих на скорость подготовки клетки к делению и на само деление. Относительно синхронизированные деления, обычно, обнаруживаются в тех клетках, которые не растут между делениями, и в которых подготовка к делению не зависит от факторов питания и процессов синтеза.

Наиболее обычным примером синхронизированного деления растений является деление материнских клеток пыльцы в ходе микроспорогенеза, а также деление оплодотворенных яиц животных на ранних стадиях развития. Однако как в растительных, так и в животных клетках частота митозов носит периодический характер.

Тишлер еще в 1922 г. [10] приводит множество описаний указанного явления у растений. Суточная периодичность митотической активности в органах млекопитающих описана многими авторами [1—6]. Более детальное изучение периодичности митозов почти во всех органах млекопитающих (крыс и мышей) проведено в последние годы В. Н. Доброхотовым и его сотрудниками [4]. Они указывают, что изучение суточной периодичности митотической активности важно для оценки действия различных факторов, стимулирующих и угнетающих митозы, так как без знания динамики суточных изменений митотической активности полученные данные могут отражать не результат воздействия, а естественный этап суточного ритма.

На суточные ритмы клеточного деления оказывает влияние как свет, так и температура, питание и др. факторы. Браун [7] наблюдал пик клеточного деления в меристемах проростков гороха около полуночи в том случае, если последние выращивались на свету от 10 час. утра до 10 час. вечера, а остальное время содержались в темноте. Однако ритм совершенно менялся, если проростки выращивались в темноте. При изучении эпидермиса человека Купер и Франклин [8] наблюдали максимальную частоту митозов в течение ночи, а при изучении эпидермиса уха мыши днем, наибольшее число митозов приходилось на 10 час. утра. Зависимость суточного режима митотической активности в эпидермисе роговицы от светового фактора [5—6] наблюдается как в естественных условиях, так и при искусственном изменении режима освещения. Так, при смене освещения и затемнения (днем—затемнение, ночью—освещение) наблюдается соответственное изменение суточного ритма митозов.

Для изучения биологии клетки большое значение имеет получение синхронизированной клеточной популяции. Первыми исследователями экспериментальной синхронизации клетки являлись Шербаум и Цейтен [9]. В своих опытах они использовали температурный шок (выдерживание клетки при сублетальной температуре 34°) и следующих за ними 30-минутных периодов оптимальной температуры (28°). От шести до десяти температурных шоков оказалось достаточным, чтобы захватить всю популяцию клеток. После этого клетки помещались в условия оптимальной температуры (28°), при которых они делились с замечательной синхронностью, приблизительно через каждые 75 мин.

Целью настоящего исследования явилось получение синхронизированных меристематических клеток корешков лука. Известно, что из разнообразных методов экспериментальной синхронизации, наиболее часто используются температурные циклы. При этом применяются как низкие, так и высокие воздействия. В нашем опыте была использована температура в 40° , которая, как было установлено впоследствии, явилась сублетальной, ибо при более высоких температурах (50°) клетки погибали. Низкие же температуры, наоборот, не задерживали клеточного деления. Принцип даваемых нами температурных шоков состоял в том, чтобы клетки приводились к одной и той же фазе по отношению к делению, либо задерживая их, либо возвращая их к стадии, непосредственно следующей за делением. При этом исходили из того, что клетки на разных стадиях развития неодинаково чувствительны к температурным шокам. Использованный нами температурный шок состоял в чередовании 60-минутных периодов выдерживания при оптимальной температуре в $23-25^{\circ}$. При этом клетки, миновавшие определенный момент чувствительности перед делением, завершали его. Клетки же, застигнутые температурным шоком во время чувствительного периода интеркинеза, не могли перейти через момент наступления необратимости за те 60 минут, в течение которых они находились в условиях оптимальной температуры и снова отбрасывались назад при следующем периоде воздействия высокой температурой. Шесть температурных шоков оказались достаточным, чтобы захватить всю популяцию клеток и привести их к одному состоянию.

В опыте были использованы проросшие корешки лука длиной в 3—4 мм; фиксация корешков производилась по способу С. Г. Навашина с предварительным погружением в спирт с уксусной кислотой в соотношении 3:1, по способу Карнуа. Срезы делались толщиной в 11 мк, окрашивание препаратов производилось железным гематаксилином по Гейденгайну, а также применялась реакция Фёльгена. Фиксация корешков производилась после каждого очередного температурного шока с промежутком в 1 ч.

Полученные данные показывают, что наивысшая митотическая активность меристематических клеток корешков лука в контрольном варианте наблюдается в 12 ч. утра, в последующие часы активность постепенно понижается, вновь поднимаясь в 19 ч. и в 21 ч. вечера. В опыте с

температурным шоком, в начальный период воздействия клетки продолжают делиться, однако темп их деления по сравнению с контролем намного понижается, а уже через 6 ч. после последнего шока они перестают делиться (рис. 1). Это состояние продолжается и в последующие не-

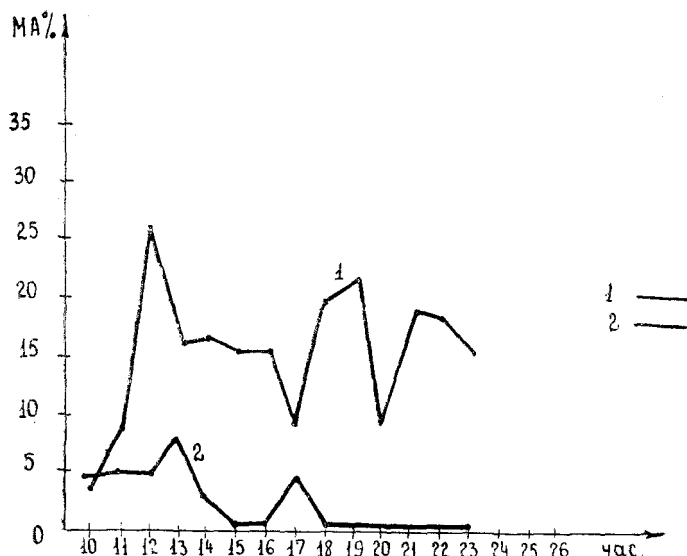


Рис. 1. Митотическая активность клеток корешков лука. 1 — контроль; 2 — температурный шок. По оси абсцисс—время суток (часы); по оси ординат — митотическая активность в %.

сколько часов. Во время тепловых шоков клетки не только продолжают делиться, но они синтезируют также несколько замедленной скоростью ДНК. Об этом свидетельствует также заметное увеличение размеров клеток и их ядер, застигнутых воздействием температурного шока. Одновременно в ходе опыта нами наблюдалось увеличение длины подопытных корешков. Так, если в контроле средний суточный прирост корешков составлял 16,4 мм, то при тепловом шоке он равен 12,4 мм. Эти данные свидетельствуют о том, что в первом случае рост корешков наблюдается за счет деления клеток, а во 2-ом случае за счет роста и увеличения размеров клетки.

Параллельно нами был поставлен опыт, состоящий в одновременном воздействии температурного шока в течение 2, 3 и 4-х ч. При этом оказалось, что митотическая активность клеток соответственно составляет 9,4, 5,5, 5,5% (рис. 2 (1)).

После указанных сроков выдерживания клетки помещались в оптимальные для их роста условия (23—25°). Наблюдения при этом проводились в течение 3-х ч. после снятия температурного воздействия.

Полученные в этом опыте данные показывают, что через 1 ч. после снятия температурного шока клетки перестают делиться (митотическая активность равна нулю), через 2 ч. делятся на 10,1%, а через 3 ч. деле-

ние снова прекращается (рис. 2 (2)). При температурном шоке в 40° , данном в один прием, в течение 3 ч. митотическая активность клеток соответственно составляет 6,4%, через 2 ч.—0,4%, через 3 ч.—0% (рис. 2 (3)). После 4-х ч. одновременного температурного воздействия в первый час после снятия воздействия температурного шока активность клеток равна через 1 ч. нулю, через 2 ч. 4,5%, через 3 ч.—0 (рис. 2 (4)).

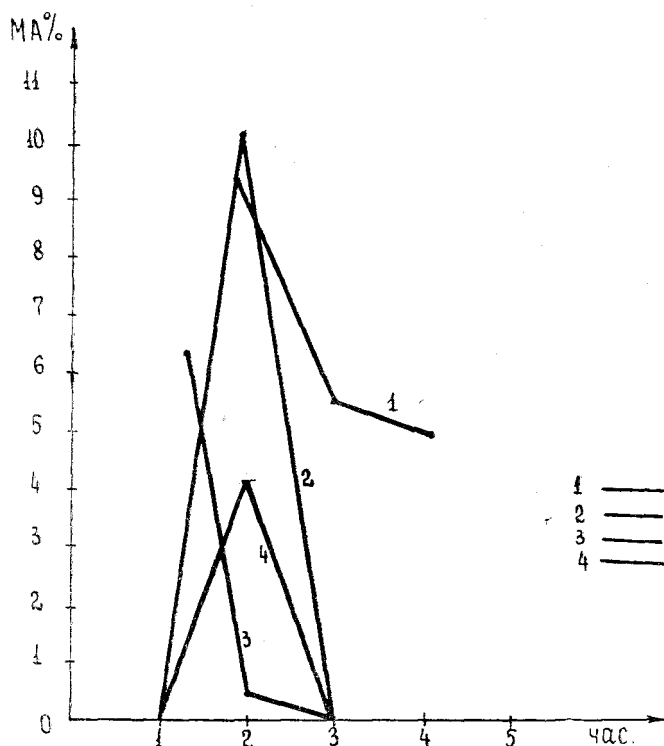


Рис. 2. Митотическая активность клеток корешков лука в зависимости от продолжительности воздействия температурного шока. По оси абсцисс — время суток (часы). По оси ординат — митотическая активность в %.

Анализ полученных данных показывает (рис. 2), что чем больше времени клетки подвергаются температурному шоку, тем ниже их митотическая активность, кроме того клетки вступившие во время температурного шока в деление, завершают его, однако при увеличении экспозиции количество вступающих в деление клеток соответственно уменьшается.

Определенный процент делящихся клеток после соответствующего шока свидетельствует о том, что клетки, миновавшие чувствительную стадию, вступали в деление (рис. 2).

Полученные данные позволяют заключить, что под действием примененного воздействия клетки попадают в длительное шоковое состояние (в течение 6—7 ч.).

Выведение клеток из указанного состояния и синхронизация клеточного деления является темой нашего следующего сообщения.

Научно-исследовательская лаборатория
цитологии
Ереванского государственного университета

Поступило 3.VII 1967 г.

Հ. Գ. ՌԱՏԻԿՅԱՆ, Ե. Հ. ՍԻՄՈՆՅԱՆ, Գ. Ե. ՍԱՄՎԵԼՅԱՆ

ՍՈՒԽ ԱՐՄԱՍԱԾԱՅՐԵՐԻ ՄԻԹՈՏԻԿ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆԸ ՋԵՐՄԱՅԻՆ ՖԱԿՏՈՐԻ ԱԶԴԵՅՈՒԹՅԱՆ ՏԱԿ

Ա մ փ ո փ ու մ

Մեր նպատակն է եղել պարզել ջերմային հարվածի ազդեցությունը սոխի արմատածայրերի բջջային բաժանման բնական ուղիքի վրա: Հայտնի է, որ ոչ բոլոր բջիջներն են տարբեր հասակում ջերմային հարվածի նկատմամբ ցուցաբերում միատեսակ զգայունություն:

Մեր կողմից տրված վեց ջերմային հարվածը ընդգրկել է բջիջների ամբողջ պոպուլյացիան զգայուն ստադիայում և արգելակել նրանց բաժանումը: Փորձի արդյունքները ցույց են տվել, որ երկրորդ հարվածից հետո դիտվում է միթոզի կասեցում, օրինակ՝ եթե ցերեկվա ժամը երկուսին ստուգիչի մոտ բջիջների բաժանման ինդեքսը կազմում է 17,5%, ապա նույն ժամին փորձնական տարբերակում երեք ջերմային հարվածներից հետո այն հասնում է 3,2%: Վերոհիշյալ աշխատանքից բացի փորձնական նյութը ենթարկվել է նաև տարբեր տևողություն ունեցող (2 ժ., 3 ժ., 4 ժ.) ջերմային հարվածների: Այս դեպքում հնարավոր է եղել ընդգրկել բջիջների ամբողջ պոպուլյացիան նրանց զգայուն շրջանում և երկրորդ հարվածից հետո կասեցնել միթոզը:

Ուսումնասիրվել է նաև ջերմային հարվածի ենթարկված բջիջների և նրանց կորիզների փոփոխությունները: Ստացված տվյալները թույլ են տալիս եզրակացնելու, որ ջերմային հարվածը վերացնելուց հետո բջիջները որոշ ժամանակաշրջան դադարում են բաժանվելուց, այսինքն ընկնում են 6—7 ժամ տևողություն ունեցող շոկային վիճակի մեջ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алов И. А. и Краси́льникова Н. В. ДАН, 142, 1962.
2. Гололобова М. Т. Бюлл. exper. биол. и мед., 47, 1958.
3. Гололобова М. Т. Бюлл. exper. биол. и мед., 50, 1960.
4. Доброхотов В. Н. Вестн. АМН СССР, 7, 1960.
5. Косиченко Л. П. ДАН СССР, 138, 1961.
6. Косиченко Л. П. ДАН СССР, 147, 1962.
7. Brown R. Y. Exptl. Botany, 2, 1951.
8. Cooper R. K., Franklin H. C. Anat. Record., 7, 8, 1, 1940.
9. Scherbaum O., Zeuthen E. Exptl. Cell. Research, 6, 1954.
10. Tischler G. Allgemeine Pflanzenkaryologie Bornträger, Berlin, 1922, 1951.