

Л. А. АРАРАТЯН

## ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ИНДОЛИЛУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ (ГЕТЕРОАУКСИНА) ПРИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЯХ КЛЕТОК, ВЫЗВАННЫХ РЕНТГЕНООБЛУЧЕНИЕМ

В процессе эволюции у растений вырабатываются защитные свойства от вредных воздействий среды. Одним из агентов такого воздействия следует считать увеличение дозы ионизирующей радиации, вследствие загрязнения земной атмосферы, почвы и воды радиоактивными веществами, что в значительной степени отражается на живом. Клетки растений имеют естественные защитные приспособления от такого действия, но они играют роль лишь при малых дозах радиации.

С этой точки зрения интересны исследования последних лет по изучению снижения уровня спонтанных и индуцированных мутаций под воздействием веществ, имеющих в растительных клетках—естественных защитных веществ. Известны работы по защитной роли витамина С [15], хлорофилла [8], цистеина [4, 16, 24], цистеамина [2], АТФ [9], колхицина [14], кинетина [17] и др.

Противоречивые данные имеются в литературе относительно радиозащитного действия индолилуксусной кислоты (ИУК, или гетероауксина). Терман и Сеппала [25] исследовали защитные свойства 0,001—0,007% растворов ИУК на корешки *Narcissus tazetta* при последующем рентгенооблучении (доза облучения 200 р) и пришли к выводу о слабом защитном действии этого вещества. Гутман и Браун [17] также исследовали действие ИУК при рентгенооблучении и не получили никакого радиозащитного эффекта.

Большой интерес к этому веществу объясняется тем, что индолилуксусная кислота широко распространена в растительном мире, она присуща всем высшим растениям и играет определенную роль в регуляции движения частей растения, в формировании клеточных стенок, в усилении процессов дыхания, в белковом обмене и др. [6, 10]. Влияние индолилуксусной кислоты на механизм деления клеток было изучено Леваном, отметившим полиплоидогенные свойства этого вещества [20, 21]. Изучена роль индолилуксусной кислоты в различных морфогенетических изменениях стеблей, листьев [1, 11], имеется несколько работ по изучению ее воздействия на митотическую активность и рост клеток.

Настоящая работа посвящена выявлению радиозащитных свойств индолилуксусной кислоты.

**Материал и методика.** В качестве объекта исследования служили корешки *Allium fistulosum* L. с уровнем спонтанного мутирования 2,3%. Семена репродукции 1965 г. замачивались в растворах калиевой соли

индолилуксусной кислоты следующих концентраций: 0,1, 0,05, 0,01, 0,005%, в качестве контроля была взята вода. Через 24 часа с момента замачивания семена промывались в проточной воде в течение 10—15 мин., затем просушивались на воздухе до исчезновения внешних следов воды и сразу же облучались рентгенаппаратом РУМ-11 при силе тока 15 мА, фокусном расстоянии 18 см, без фильтра, в течение 4 мин. (500 р/мин.), что составляет 2000 р. Выбор дозы был продиктован целью опыта — иметь сравнительно большой выход повреждений, что четче выявит уровень защитных свойств взятого вещества.

После облучения семена были помещены в чашки Петри на фильтровальную бумагу, смоченную водой, и проращивались в термостате при 25°C. Фиксировались корешки длиной 5—7 мм через 65 час. с момента облучения, т. е. в момент наибольшей активности в первом митозе [6].

Опыт был повторен в трех сериях с варьированием дозы облучения—1 кр и 2 кр. Так как по предварительным данным выявилась одинаковая закономерность, в настоящей работе приводятся результаты лишь одной серии, обработанные наиболее детально.

В настоящее время считают, что действие радиации вызывает два основных типа изменений генетических структур клетки: генные (точковые) мутации и структурные перестройки хромосом; поражение же веретена приводит к отставанию хромосом, что ведет к анеуплоидии [3].

Анализ фактического материала проводился на клеточном уровне с учетом структурных изменений хромосом по схеме анафазного метода [3, 7, 12]. Учитывались также отстающие хромосомы. В большинстве случаев они сопровождают мутации хромосом, но встречались клетки, в которых имелся лишь этот тип отклонения, и они учитывались как поврежденные, т. к. в конечном счете приводят к нарушению баланса наследственного вещества в потомстве клеток.

Была определена также митотическая активность с 5000 клеток, на каждый вариант по формуле:

$$\text{Митотическая активность в \%} = \frac{\text{Число делящихся клеток}}{\text{Общее число клеток (5000)}} \cdot 100.$$

Анализ уровня мутирования клеток велся с учетом анафаз, нормальных и с перестройками хромосом, а также с отстающими хромосомами. Их соотношение выведено по формуле:

$$\text{Уровень мутирования в \%} = \frac{\text{Число измененных анафаз}}{\text{Общее число анафаз}} \cdot 100.$$

Радиозащитный эффект представлен показателем защиты, что выведено в процентах.

$$\text{Показатель защиты в \%} = \frac{\text{Величина защиты}}{\text{Число измененных анафаз}} \cdot 100.$$

Величина защиты — это разность между процентом измененных анафаз в контроле и той же величины в данном варианте.

Спектр структурных перестроек хромосом составлен по схеме, отмеченной выше [12]. Для облегчения сравнения типов перестроек хромосом в работе дана таблица с суммированием одинаковых типов перестроек.

**Результаты и обсуждение.** Полученные данные по уровню мутирования клеток при обработке семян *A. fistulosum* L. гетероауксином до рентгенооблучения с варьированием концентраций при прочих равных условиях опыта позволяют судить о значительной радиозащитной роли изучаемого вещества (табл. 1). Причем замечается следующая закономерность: разные концентрации изменяют этот уровень по-разному. Защитными оказались 0,01 и 0,05% растворы ИУК, что подтверждается снижением уровня мутирования клеток с  $47,36 \pm 1,45\%$  в контроле до  $38,74 \pm 1,31\%$  при 0,01% ИУК и до  $27,86 \pm 1,39\%$  при 0,05% ИУК. Величины разниц этих двух вариантов с контролем достоверны.

Таблица 1  
Частота появления структурных мутаций хромосом при рентгенооблучении и действии ИУК на *Allium fistulosum* L.

Вариант	Число			Измененные анафазы в %	Достоверность разницы (контроль—опыт)	Показатель уровня защиты в %
	корешков	анафаз	измененных анафаз			
H <sub>2</sub> O+облучение	35	1186	563	$47,36 \pm 1,45$	—	—
0,005% ИУК +облучение	26	1030	519	$50,38 \pm 1,55$	1,6	сохраняет уровень мутирования
0,01 % ИУК +облучение	26	1373	532	$38,74 \pm 1,31$	4,41	18
0,05% ИУК +облучение	26	1299	362	$27,86 \pm 1,39$	10,04	41
0,1% ИУК +облучение	27	1147	548	$47,77 \pm 1,47$	0,2	сохраняет уровень мутирования
Естественная мутабельность	42	1237	26	$2,10 \pm 0,44$	—	—

Радиозащитный эффект в варианте с 0,01% ИУК составляет 18%, а с 0,05% ИУК—41%. Другие две концентрации (0,005 и 0,1% ИУК) не показали радиозащитного эффекта, и клетки мутировали на уровне контроля.

0,005% раствор гетероауксина оказался недействительным в интересующем нас отношении, по-видимому, из-за недостаточного для изменения радиозащитных функций клеток содержания вещества в растворе.

К уровню контроля возвращается кривая выхода аберраций при

действии 0,1% раствора ИУК (рис. 1). Думается, что данная концентрация столь велика, что подавляет защитные функции клеток.

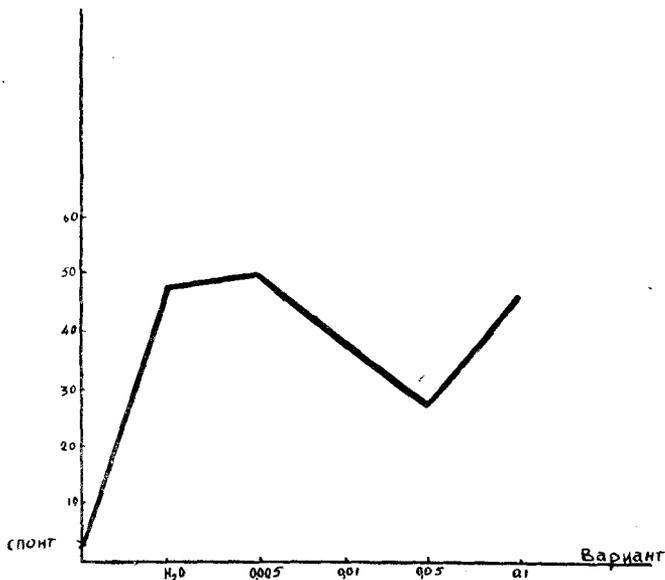


Рис. 1. Частота появления структурных мутаций хромосом при рентгенооблучении и действии ИУК на *Allium fitulosum* L. По оси абсцисс — вариант опыта (концентрация ИУК); по оси ординат — процент измененных анафаз.

Значительный уровень защиты, полученный при воздействии определенными концентрациями ИУК, заставляет обратиться к вопросу — за счет каких механизмов достигается противолучевой эффект.

Известно, что рентгенооблучение вызывает все типы структурных изменений хромосом путем разрыва хромосомной нити. В последующем разорванные нити хромосом могут соединиться, восстановив прежнюю структуру или образовать иные сочетания, давая разные структурные нарушения, выявляющиеся при делении клеток, или же вовсе не соединиться. Защитные вещества содействуют восстановлению разорванных нитей хромосом.

Являясь протектором, гетероауксин не проявляет избирательной способности по отношению к полному подавлению какого-либо определенного типа перестроек хромосом (табл. 2). Однако воздействие ИУК приводит к смещению процентных соотношений разных типов мутаций хромосом по сравнению с контрольным вариантом, о чем позволяют судить суммарные данные (табл. 3).

Прежде всего замечается тот факт, что разные концентрации ИУК по-разному меняют процентное соотношение типов перестроек. Концентрации, сохраняющие уровень мутирования (0,1 и 0,005%), в этом отношении почти не отличаются друг от друга, и наблюдаемая разница находится в пределах ошибки. По сравнению с контролем имеется некое различие в данных по хроматидным дицентрикам.

Таблица 2

Спектр структурных мутаций хромосом при рентгенооблучении и действии ИУК на *Allium fistulosum* L.

Вариант	Число мутаций хромосом	Из них следующих типов (в % от суммы)								
		—	=	I	I—	I=	X	X—	X=	X==
H <sub>2</sub> O+облучение	1025	41,85±1,55	13,07±1,04	9,17±0,85	4,69±0,66	2,83±0,51	13,95±1,08	5,75±0,72	7,03±0,79	1,66±0,39
0,005% ИУК+облучение	867	35,56±1,62	20,88±1,37	7,61±0,89	2,77±0,55	3,32±0,60	15,10±1,19	6,70±0,89	6,11±0,80	1,95±0,83
0,01% ИУК+облучение	954	44,86±1,60	13,42±1,10	6,28±0,78	2,62±0,51	1,78±0,42	16,37±1,23	7,34±0,83	6,49±0,79	0,84±0,29
0,05% ИУК+облучение	508	26,56±1,95	15,75±1,61	15,36±1,59	2,96±0,73	1,78±0,58	24,40±1,90	5,71±1,02	6,69±1,10	0,78±0,38
0,1% ИУК+облучение	910	39,78±1,61	19,88±1,32	8,25±0,91	3,07±0,56	2,75±0,54	12,75±1,10	6,48±0,81	5,17±0,73	1,87±0,45
Естественная мутабельность	35	80,00±6,76	2,86±2,81	14,28±5,81	—	—	—	—	2,86±2,81	—

Таблица 3  
Спектр типов структурных мутаций хромосом при рентгенооблучении  
и действии ИУК на *Allium fistulosum* L.

Вариант	Число мутаций хромосом	Из них следующих типов (в % от суммы)					
		— =	I I— I=	X X— X= X =	—	—	
Контроль	H <sub>2</sub> O + облучение	1025	54,92±1,55	16,69±1,16	28,39±1,40		
При сохранении уровня мутирования	0,1% ИУК + облучение	867	56,44±1,64	13,70±1,16	29,86±1,55		
	0,005% ИУК + облучение	910	59,66±1,62	14,07±1,11	26,27±1,45		
При снижении уровня мутирования	0,01% ИУК + облучение	954	58,28±1,56	10,68±0,99	31,04±1,49		
	0,05% ИУК + облучение	508	42,31±2,19	20,10±1,77	37,58±2,14		

Наиболее интересным является вариант с 0,05% ИУК. Здесь имеется возрастание процента хроматидных и хромосомных дицентриков за счет снижения процента фрагментов. Это указывает на то, что данный раствор ИУК активизирует процессы, способствующие соединению нитей хромосом во всех сочетаниях. Если имеет место истинное воссоединение, то хромосомы восстанавливаются в своем первоначальном состоянии, что уменьшает число ацентрических фрагментов. Если же идет соединение разорванных концов центрических фрагментов, то при образовании изохроматидных мостов и хроматидной транслокации в анафазе видимыми являются одиночные (хроматидные) дицентрики. Парные дицентрики же являются результатом транслокации двух хромосом, разорванных в фазе G<sub>1</sub>. Вследствие этих «ненормальных» соединений повышается процент видимых в анафазе парных и одиночных дицентриков.

Совершенно иной характер имеет действие другой защитной концентрации—0,01% ИУК. Здесь соотношение типов перестроек отличается как от контроля, так и от варианта с 0,05% ИУК. Замечается значительное снижение процента хроматидных дицентриков и в некоторой степени повышение процента хромосомных дицентриков. Делать вывод о том, что в данном случае защита идет тем же путем, что и при 0,05% ИУК, нам не позволяют также данные по выходу процента ацентрических фрагментов, т. к. если при 0,05% ИУК имеется понижение процента ацентрических фрагментов, то при 0,01% ИУК их даже несколько больше, чем в контрольном варианте (58,28±1,56 при 0,01% ИУК и 54,92±1,55 в контроле).

Следует учесть тот факт, что доза 0,01% является стимулирующей рост и деление клеток и к моменту облучения происходят изменения в популяции клеток семени. Из данных табл. 4, представляющей среднее число выхода мутаций хромосом на поврежденную клетку, ясно, что обсуждаемый вариант по этой величине повторяет контроль.

Следовательно, защита здесь осуществляется благодаря изменению радиочувствительности клеток в популяции при воздействии данной концентрации ИУК.

Таблица 4

Среднее число перестроек хромосом на поврежденную клетку при рентгенооблучении и действии ИУК на *Allium fistulosum* L.

Вариант	Число перестроек хромосом	Число анафаз с перестройками	Среднее число перестроек на клетку
H <sub>2</sub> O+облучение . . . . .	1025	557	1,84
0,005% ИУК+облучение . . . . .	967	514	1,78
0,01% ИУК+облучение . . . . .	954	531	1,79
0,05% ИУК+облучение . . . . .	508	361	1,40
0,1% ИУК+облучение . . . . .	910	543	1,67
Естественная мутабельность . . . . .	35	25	1,40

Данные табл. 4 показывают, что все опытные варианты по данному тесту приближаются к контрольному, кроме варианта с 0,05% ИУК, где данная величина показывает естественный уровень, что осуществляется за счет уменьшения числа фрагментов. На это указывает анализ данных по среднему выходу одиночных (хроматидных) и парных (хромосомных) дицентриков на клетку с мостами. В этом отношении вариант с 0,05% ИУК почти не отличается от контрольного. Так, в первом случае имеем 293 дицентрика на 234 клетки с дицентриками, отношение этих величин дает 1,25. В контрольном варианте соответственно имелось 462 и 345, отношение которых составляет 1,33.

Так как физиологическое действие ИУК обратимо, процессы отклонения роста и клеточного деления от нормы восстанавливаются при перенесении проростков в воду. Поэтому тормозящие митоз концентрации ИУК (0,05 и 0,1%) в условиях нашего опыта к моменту фиксации дают аналогичную с контролем картину, что видно из следующей таблицы.

Таблица 5

Митотическая активность клеток *Allium fistulosum* L. при рентгенооблучении и действии ИУК на семена

Вариант	Митотическая активность	Достоверность разницы (естественная—опыт)
H <sub>2</sub> O+облучение . . . . .	13,2±0,4	3,2
0,005% ИУК+облучение . . . . .	14,0±0,4	3,4
0,01% ИУК+облучение . . . . .	12,8±0,4	3,0
0,05% ИУК+облучение . . . . .	13,0±0,4	3,1
0,1% ИУК+облучение . . . . .	15,3±0,5	3,8
Естественная активность . . . . .	9,3±0,4	—

Данные таблицы показывают значительное возрастание числа делящихся клеток во всех опытных вариантах по сравнению с естественной митотической активностью (без облучения и гетероауксина). Они статистически достоверны. Полученная разница не может быть отнесена за счет действия гетероауксина.

Как было отмечено, одним из результатов облучения является нарушение процесса расхождения хромосом к полюсам в анафазе. Нами было замечено, что в этом отношении варианты опыта отличаются друг от друга. Учет отстающих хромосом, приведенный в табл. 6, выявил определенную закономерность в зависимости данного теста от концентрации гетероауксина.

Таблица 6  
Частота появления отстающих хромосом при рентгенооблучении и действии ИУК на *Allium fistulosum* L.

Вариант	Число анафаз с перестройками хромосом	Число клеток с отстающими хромосомами	Процент клеток с отстающими хромосомами
H <sub>2</sub> O+облучение . . . . .	563	35	6,21±1,01
0,005% ИУК+облучение . . . . .	519	17	3,27±0,77
0,01% ИУК+облучение . . . . .	532	14	2,63±0,68
0,05% ИУК+облучение . . . . .	362	6	1,65±0,66
0,1% ИУК+облучение . . . . .	548	30	5,47±0,95
Спонтан. . . . .	26	0	0

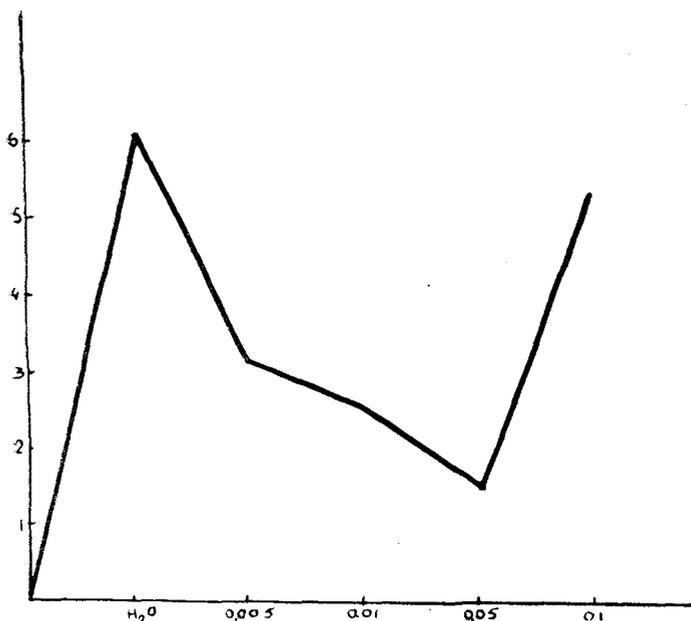


Рис. 2. Частота появления отстающих хромосом при рентгенооблучении и действии ИУК на *Allium fistulosum* L. По оси абсцисс — вариант опыта (концентрация ИУК); по оси ординат — процент отстающих хромосом.

По данным табл. 6 можно судить о регулирующей ход митоза роли гетероауксина при рентгенооблучении. Здесь даже самый слабый из взятых нами растворов—0,005%, не действующий на радиозащитные функции клеток, оказывает на механизм митоза упорядочивающее действие, на что указывает снижение процента отстающих хромосом с 6,21% в контроле до 3,27 в данном варианте. Кривая на рис. 2 также показывает, что некоторые концентрации гетероауксина и в этом отношении помогают клетке в восстановлении нормального состояния, нарушенного рентгенооблучением.

### В ы в о д ы

1. Замачивание семян *Allium fistulosum* L. в растворах разной концентрации калиевой соли индолилуксусной кислоты до рентгенооблучения оказывает значительный защитный эффект на генетические структуры клеток. Радиозащитный эффект зависит от концентрации гетероауксина.

2. При разных концентрациях механизм защиты различен. 0,01% раствор гетероауксина изменяет радиочувствительность клеток в популяции, что при облучении сказывается как защита. 0,05% раствор гетероауксина активизирует восстановительные функции клеток, способствуя воссоединению разорванных ионизирующей радиацией нитей хромосом.

3. Как физиологически активное вещество гетероауксин также упорядочивающе действует на процесс расхождения хромосом в анафазе, вследствие чего снижается во всех вариантах число отстающих хромосом, возникающих при облучении.

Лаборатория радиационной генетики  
АН АрмССР

Поступило 21.IV 1967 г.

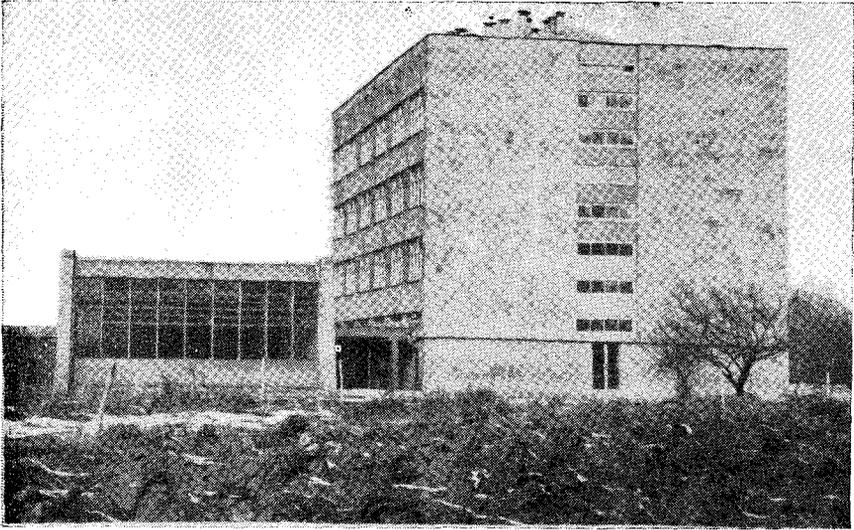
### Լ. Ա. ԱՐԱՐԱՏՅԱՆ

ԻՆԴՈՒԼԻ-ՔԱՅԱԽԱԹՔԻ (ՀԵՏԵՐՈԱՌԻՔՍԻՆԻ) ՊԱՇՏՊԱՆԱԿԱՆ  
ԳՈՐԾՈՂՈՒԹՅՈՒՆԸ՝ ՌԵՆՏԳԵՆՅԱՆ ՃԱՌԱԳԱՅԹՆԵՐԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅԱՆ  
ՏԱԿ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ՄԵՋ ԱՌԱՋԱՑՈՂ ԳԵՆԵՏԻԿԱԿԱՆ ՎՆԱՍՈՒՄՆԵՐԻ ԴԵՊՔՈՒՄ

### Ա մ փ ո փ ո լ մ

Որպես օրյեկտ օգտագործված է *Allium fistulosum* L. տեսակը, որի բնական մուտացիոն պրոցեսի մակարդակն է  $2,10 \pm 0,44\%$ ։ Ռենտգենյան ճառագայթների ներգործմանը ենթարկելուց առաջ սերմերը մեկ օր պահվում էին ինդոլիլ-ֆացախաթթվի կալիումական աղի զանազան կոնցենտրացիայի լուծույթներում։ Այնուհետև նրանք լվացվում էին ջրով և ճառագայթվում 2000 ռենտգեն զոզայով։

Փորձերում նկատվել է, որ ճառագայթումից առաջ հետերոաուքսինի լուծույթներում պահելը պաշտպանում է օրգանիզմի գենետիկական ստրուկտու-



*Հայկական ՍՍՀ գիտությունների ակադեմիայի ագրոքիմիական պրոբլեմների և հիդրոպո-  
նիկայի ինստիտուտի նոր լաբորատոր շենքը:*

Новое лабораторное здание Института агрохимических проблем и гидропонии  
Академии наук Армянской ССР.

րաները վնասվելուց: Այս առումով առավել ուժեղ ներգործություն են ցույց տալիս 0,01% և 0,05% լուծույթները:

Հետերոաուրսինի 0,005% լուծույթը շատ թույլ է և պաշտպանական էֆեկտ չի տալիս: 0,1% լուծույթը, ընդհակառակը, չափազանց ուժեղ է և փորձի պայմաններում արգելակում է բջիջների պաշտպանողական հատկությունները:

Նայած լուծույթի կոնցենտրացիային, տարբեր է նաև պաշտպանություն մեխանիզմը: Ինդոլիլ-քացախաթթվի 0,01%-ը փոփոխում է բջիջների ռադիոզգայնությունը, որը ճառագայթման ժամանակ պաշտպանական էֆեկտ է առաջացնում: 0,05%-ը ակտիվացնում է բջիջների վերականգնման ընդունակությունը՝ նպաստելով քրոմոսոմների կարտված թելերի վերամիացմանը:

Միաժամանակ հետերոաուրսինը, որպես ֆրիդիոլոգիապես ակտիվ նյութ, վերականգնում է միտոզի նորմալ մեխանիզմը՝ ստուգիչի համեմատությամբ պակասեցնելով ետ մնացող քրոմոսոմների թիվը:

### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Араратян Л. А. Получение асцидий при действии индолилуксусной кислоты. В печати.
2. Гродзенский Д. Э. Радиобиология. Атомиздат, М., 1966.
3. Дубинин Н. П. Эволюция популяций и радиация. Атомиздат, М., 1966.
4. Дубинин Н. П., Щербаков В. К. Радиобиол., т. 4, вып. 6, 862—865, 1964.
5. Дубинин Н. П., Щербаков В. К., Шавельзон Р. А. Генетика, 3, 27—34, 1965.
6. Зёдинг Г. Ростовые вещества растений. М., 1965.
7. Ивенс Х. Повреждения хромосом ионизирующими излучениями. Атомиздат, 1966.
8. Касинова Г. В. Радиобиол., т. 4, вып. 4, 603—606, 1964.
9. Протопопова Е. М., Кублик Л. Н. Радиобиол., т. 4, вып. 6, 878—881, 1964.
10. Полевой В. В., Леонова Л. А. В сб.: Регуляторы роста и рост растений, 101—131, Наука, 1964.
11. Синнот Э. Морфогенез растений. Изд. ИЛ, М., 1963.
12. Щербаков В. К. Радиобиол. (Информ. бюл.), 7, 42—53, 1965.
13. Adamson D. Canad. J. Bot. 40, 719—744, 1962.
14. Brumfield R. T. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. 29, 190—193, 1943.
15. Cooke A. R. Science, 117, 3048, 588, 1953.
16. Forssberg A. a. Nybom N. Physiolog. plantarum, 6, 1, 78, 1953.
17. Guttman R. a. Brown S. W. Nucleus, 2, 111, 1959.
18. Haber A. H. Plant physiology, v. 37, 1, 18—26, 1962.
19. Haber A. H. a. Luippold H. G. Physiol. Plant. 13, 486—494, 1960.
20. Levan A. Hereditas, 25, 87—96, 1939.
21. Levan A. Hereditas, 28, 244—257, 1942.
22. Leivonen N. Physiol. Plant. 11, 4, 838—844, 1958.
23. McManus M. A. Proc. Cowa Acad. Sci. 66, 74—79, 1959.
24. Mikaelson K. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S., 40, 171, 1954.
25. Therman E. a. Seppälä M. Phys. Plant., 12, 4, 716—719, 1959.
26. Thimann K. In „Plant Growth Subst“. Univ. of Wisconsin Press, 21—36, 1951.