

Г. Г. БАТИКЯН, А. Х. ДАНИЕЛЯН, А. С. КАРАГЕЗЯН

ВЛИЯНИЕ ХРАНЕНИЯ ОБЛУЧЕННЫХ СЕМЯН ТОМАТА НА МИТОТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ И ЧАСТОТУ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ

Разработка вопроса о специфичности действия ионизирующих излучений началась с сопоставления частот мутирования под действием различных видов радиации.

При изучении различных сторон влияния ионизирующей радиации на растительные и животные клетки видное место занимает анализ результатов воздействия этих излучений на митоз. Совершенно естественно то большое внимание, которое уделяется изучению действия ионизирующих излучений собственно на митоз в целом или его отдельные стороны. Имеющаяся большая литература по этим вопросам обобщена в нескольких источниках [3, 29, 40, 41].

Известно, что интенсивность размножения клеток в организме в течение суток закономерно изменяется. Суточный ритм митозов детально изучен на растительных объектах [8, 26, 35, 38, 42], на простейших [37], различных органах животных и человека [1, 6, 10, 11, 18]. Несмотря на большое количество исследований, посвященных этому вопросу, механизм суточного режима до сих пор остается недостаточно выясненным.

Одной из задач, стоящих перед нами, было изучение митотической активности меристематических клеток кончиков корешков томата сорта Маяк, подвергнутых облучению.

Различные организмы обладают разной радиочувствительностью. Одним из критериев радиочувствительности является количество возникающих под действием излучений перестроек хромосом, по которому можно судить о степени повреждающего действия излучения.

В наших исследованиях процент клеток с хромосомными мостами и фрагментами служил показателем эффективности облучения в условиях экспериментирования. Была выяснена также количественная зависимость в выходе хромосомных аберраций от дозы облучения.

В многочисленных исследованиях [15, 16, 21, 25, 31, 33, 36] показано, что хранение семян после облучения оказывает существенное влияние на выход хромосомных аберраций. При хранении облученных воздушно-сухих семян в них идут пострадиационные процессы, меняющие результат воздействия ионизирующих излучений.

В настоящей работе сообщается также о результатах эффекта хранения воздушно-сухих семян томата, облученных гамма-лучами.

Методика работы. Облучение воздушно-сухих семян томата произведено однократно источником Co^{60} на установке ТУТ Co-400-1 следующими дозами: 5000, 10 000, 15 000 и 20 000 р.

Облученные и контрольные семена томата были разделены на две части, каждая из которых была поставлена на проращивание как самостоятельная серия в следующие сроки:

I серия—сразу после облучения;

II серия—через год после облучения (семена хранились в обычных условиях при комнатной температуре).

В тех же условиях в качестве контроля одновременно проращивали и фиксировали необлученные семена (в чашках Петри при температуре 25°).

Корешки размером около 5—6 мм фиксировались в жидкости Навашина и после заливки в парафин разлагались на продольные серийные срезы толщиной в 14 μ с последующей окраской гематоксилином Гейденгайна.

В клетках меристемы корешков подсчитывались митотическая активность первых делений (у 625 корешков) и количество аномальных анафаз и телофаз (на 300 просмотренных клеток по каждому варианту). Полученные данные выражались в процентах от общего числа клеток с анафазами и телофазами. Результаты подсчетов подвергались статистической обработке.

Обсуждение данных. Многими исследователями было проверено действие ионизирующих излучений на энергию прорастания и всхожесть семян [12, 20, 23, 34], а также зависимость всхожести семян от хранения [4, 24, 32]. В результате анализа количества проросших семян по двум сериям опыта мы пришли к аналогичным данным, что повышение дозы облучения и хранение как облученных, так и необлученных семян томата уменьшают прорастание (табл. 1).

Т а б л и ц а 1
Зависимость всхожести семян от дозы облучения и срока хранения

Варианты	Всхожесть семян томата в %	
	в год облучения	через год после облучения
Контроль	94	92,8
5 000 р.	92	87,2
10 000 р.	90	86
15 000 р.	91	83
20 000 р.	86	80,9

Показателем для количественной оценки клеточного деления служит митотический индекс, т. е. число клеток, находящихся в фазе собственно-го митоза.

Нами высчитывался митотический индекс при четырех вариантах гамма-облучения в сопоставлении с контролем, а также выяснялось, в какое время дня отмечается наиболее интенсивное деление клеток. Ис-

следования показали, что у томата, как и у других культур [26, 35, 38, 42], интенсивность размножения клеток в течение суток изменяется.

Кривые, отражающие характер суточного ритма митозов в меристематических клетках кончиков корешков томата как у контроля, так и у подопытных вариантов, носят четко выраженный двухвершинный характер (рис. 1).

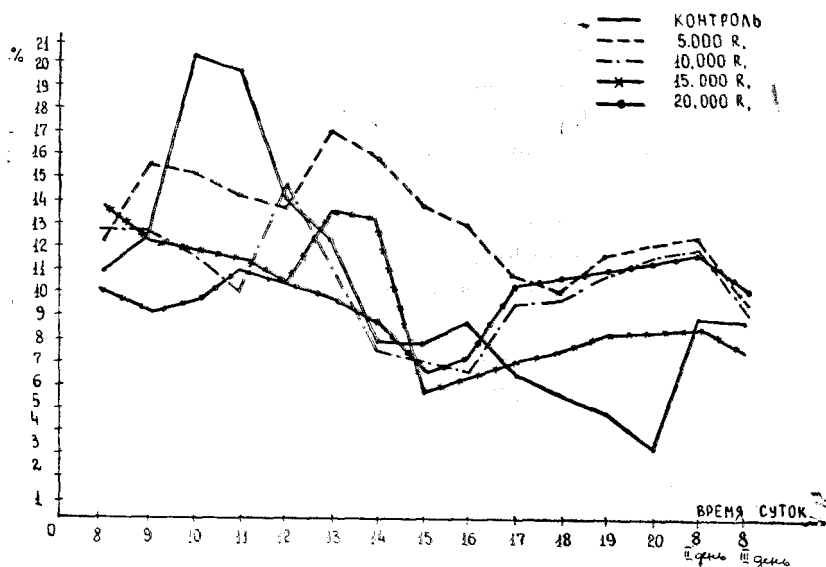


Рис. 1. Воздействие гамма-лучей на изменение митотического индекса клеток корешков томата.

Максимум митотической активности отмечается в утренние часы: 8—10 час.—первый пик. Второй пик у подопытных вариантов, за исключением контрольного, отмечается в 12—13 час.

За изменением митотического индекса мы проследили в течение трех суток. Анализ клеток корешков последующих дней по всем вариантам опыта показал, что подъем митотической активности (третий пик) отмечается через 24 часа, т. е. в 8 час. утра на второй день. Однако во всех рассмотренных случаях на вторые сутки пик митотической активности ниже первых двух пиков. Исключение составляют клетки корешков семян, облученных 20 000 р., где митотический индекс через 24 ч. незначительно выше первых двух пиков (табл. 2).

Таблица 2

Максимум митотической активности клеток корешков томата на протяжении 48 часов

Вариант	I пик (8—10 час.)	II пик (12—13 час.)	III пик (8 ч. на II день)
Контроль	$20,3 \pm 0,235$	$18,6 \pm 0,01414$	$8,8 \pm 0,7$
5 000 р.	$15,68 \pm 0,8155$	$17,05 \pm 0,05$	$12,1 \pm 0,041$
10 000 р.	$12,75 \pm 0,5495$	$14,8 \pm 0,04$	$11,45 \pm 1,649$
15 000 р.	$13,71 \pm 0,7057$	$13,49 \pm 0,9317$	$8,5 \pm 0,1$
20 000 р.	$10,00 \pm 1,212$	$10,9 \pm 0,3021$	$11,13 \pm 1,020$

В первую серию опытов входило также изучение состояния митотической активности клеток корешков томата через 48 часов (т. е. в 8 ч. утра на третий день). Результаты подсчета клеток, находящихся в различных фазах митотического деления, по всем вариантам опыта показали, что митотическая активность к этому времени падает, хотя в большинстве случаев она выше, чем во время минимума (контроль $7,86 \pm 0,6819$; 5000 р $8,05 \pm 1,249$; 10 000 р $9,5 \pm 0,025$; 15 000 р $7,8 \pm 0,3536$; 20 000 р $9,7 \pm 0,6671$ (рис. 1).

Цитологический анализ митотической активности в первой серии опытов велся на корешках, фиксированных в течение суток с часовым интервалом (от 8 ч. утра до 8 ч. вечера) и в 8 ч. утра на второй и третий день. Вторая серия опытов была поставлена по пикам, выявленным в первой серии опытов.

Кривые суточного ритма митозов в меристематических клетках кончиков корешков томата по второй серии опытов показывают, что максимум деления клеток отмечается в утренние часы, а минимум—в вечернее время.

Интенсивность деления клеток, далее увеличиваясь к 24 час., незначительно падает к 48 час. (рис. 2).

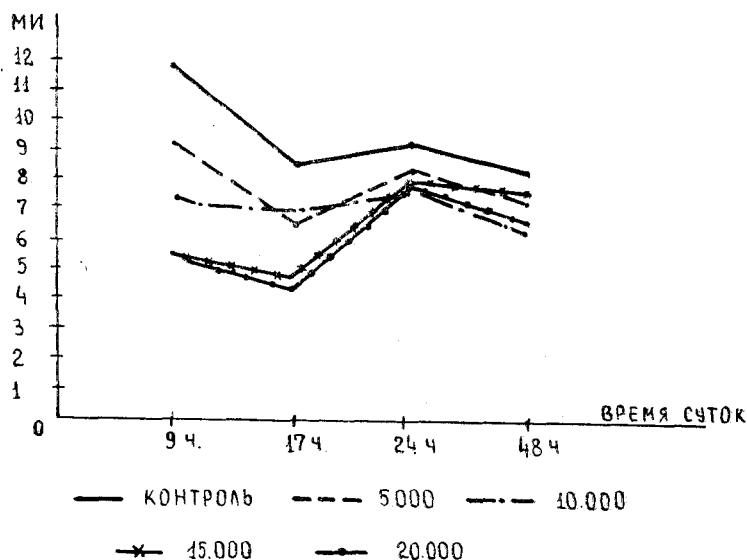


Рис. 2. Митотический индекс клеток корешков томата, полученных из семян, хранившихся год после гамма-облучения.

Таким образом, суточный ритм митотической активности клеток корешков томата, подвергнутых облучению в дозе 5000, 10 000, 15 000 и 20 000 р, оказался близким к кривым I серии опытов. Перечисленные выше данные во всех сериях опытов статистически достоверны (рис. 2).

Из литературных данных известно, что хранение облученных семян изменяет эффект их облучения. Он может нарастать или ослабевать.

Отсутствие влияния хранения семян на цитологический эффект облучения отмечала А. С. Афанасьева [2]. В ее опытах сравнивались

проростки из семян пшеницы свежееоблученных и хранившихся после облучения в течение 1, 3, 6 и 12 мес. Никаких дополнительных изменений в клетках проростков из семян, хранившихся в облученном состоянии, обнаружено не было. Подобные же результаты были получены и Бильке [28] при сравнении частоты хромосомных aberrаций у скерды из свежееоблученных семян и хранившихся в облученном состоянии 15 мес.

Имеются данные и о снижении эффекта облучения во время хранения облученных семян. Такие данные отражены в исследованиях Солсера [39], Васильева, Жукова и Спасской [5], Дишлера В. Н. [9] и др. Другая группа авторов [12, 14, 17, 19, 22, 30] придерживается такого мнения, что при хранении воздушно-сухих семян происходит увеличение клеток с aberrациями.

Анализируя результаты полученных данных, можно заключить, что в опытах с облучением семян томата гамма-лучами по мере увеличения срока хранения обнаружено статистически достоверное снижение числа клеток с перестройками. Кривые выхода хромосомных aberrаций идут параллельно при двух сроках хранения семян, что еще раз подтверждает установленную многими исследователями [7, 27] прямую пропорциональную зависимость между дозой облучения ионизирующих излучений и частотой хромосомных aberrаций.

При этом видно, что как при высоких, так и при малых дозах облучения происходит частичное снятие действия радиации (рис. 3).

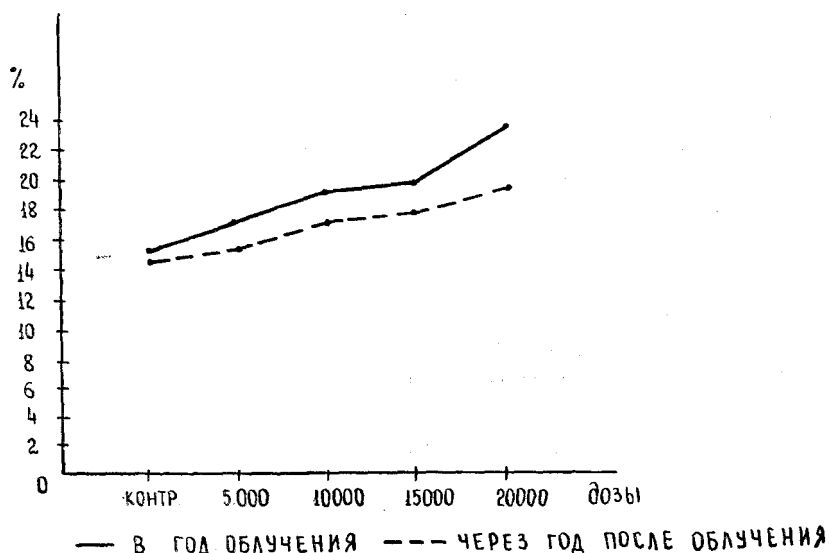


Рис. 3. Результаты анафазного анализа во время облучения гамма-лучами и через год после хранения.

Параллельно высчитывалось также количество находящихся в собственно митозе клеток как у семян в год облучения, так и в корешках, выращенных из хранившихся год после облучения семян. Кривые, отражающие количество делящихся клеток, показывают, что с увеличением дозы облучения при двух сроках хранения семян интенсивность деления клеток падает. Необходимо также отметить, что в год облучения в ко-

решках томата отмечается больше делящихся клеток, чем через год после облучения (рис. 4).

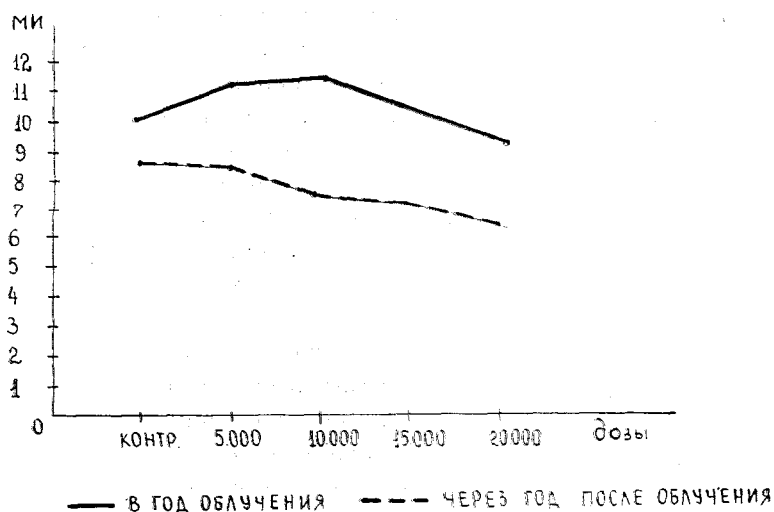


Рис. 4. Количество делящихся клеток в корешках томата при облучении семян гамма-лучами и после хранения их в течение года.

Одновременно нами, как и другими авторами [13, 22], было отмечено линейное нарастание процента абберраций с увеличением дозы облучения при всех сроках пострадикационного хранения семян томата.

В ы в о д ы

1. После воздействия гамма-лучами наблюдалась четкая закономерность—чем выше доза облучения, тем ниже всхожесть.

2. Интенсивность деления меристематических клеток кончиков корешков томата в течение суток закономерно изменяется. Кривые, отражающие суточную митотическую активность, носят четко выраженный двухвершинный характер.

3. С увеличением дозы облучения общий процент наблюдаемых хромосомных абберраций в клетках корешков томата, индуцированных гамма-лучами, повышается.

4. Различия эффекта величины дозы облучения сохраняются при всех сроках хранения семян томата.

5. Существует экспотенциальная зависимость выхода хромосомных абберраций от сроков хранения семян. С увеличением срока хранения семян наблюдается достоверное снижение процента хромосомных нарушений.

Հ. Գ. ՔԱՏԻԿՅԱՆ, Ա. Խ. ԴԱՆԻԷԼՅԱՆ, Ա. Ս. ԿՐԱՊՅԱՆ

ՊՈՄԻԴՈՐԻ ՀԱՌԱԳԱՅԹԱՀԱՐՎԱԾ ՍԵՐՄԵՐԻ ՊԱՀՊԱՆՄԱՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՔՐՈՄՈՍՈՄԱՅԻՆ ԱՔԵՐԱՅԻԱՆԵՐԻ ՄԻՏՈՏԻԿ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ԵՎ
ՀԱՃԱՆԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Իոնացնող ճառագայթման ազդեցության տարբեր կողմերի ուսումնասիրության գործում կարևոր տեղ է զբաղում միտոզի վրա նշված ճառագայթումների ազդեցության անալիզը: Շատ բնական է այն մեծ ուշադրությունը, որը դարձվում է ընդհանրապես միտոզի և նրա առանձին կողմերի վրա իոնացնող ճառագայթների ազդեցության ուսումնասիրությանը:

Հայտնի է, որ բջիջների բազմացման ինտենսիվությունը օրգանիզմում օրինաչափորեն փոփոխվում է օրվա ընթացքում: Միտոզների օրական ռիթմը քաղաքական մանրամասն ուսումնասիրված է բուսական օբյեկտների, ստորակարգների վրա, ինչպես նաև մարդու և կենդանիների տարբեր օրգաններում: Չնայած այդ հարցին նվիրված մեծ թվով ուսումնասիրություններին, այնուամենայնիվ միտոզների օրական ռեթմի մեխանիզմը դեռևս լրիվ պարզաբանված չէ:

Մեր նպատակն է եղել ուսումնասիրել զամմա-ճառագայթմանը ենթարկված պոմիդորի Մայակ սորտի սերմերից ստացված արմատածայրերի մերիսթեմատիկ բջիջների միտոտիկ ակտիվությունը և քրոմոսոմային խախտումների հաճախականությունը, կախված ճառագայթման դոզայից: Նպատակ ենք ունեցել նաև ուսումնասիրել պահպանման տարբեր ժամկետների ազդեցությունը պոմիդորի ճառագայթահարված սերմերի վրա:

Պոմիդորի օդաչոր սերմերը TYT-Co-400-1 սարքի օգնությամբ զամմա-ճառագայթներով ճառագայթահարվել են 5000, 10 000, 15 000, 20 000 ռ դոզաներով: Սերմերը ծլեցվել են Պետրիի թասերում 25° ջերմության պայմաններում: Պատրաստվել են հեմատոքսիլինով ներկված մշտական պրեպարատներ:

Ուսումնասիրություններից պարզվեց, որ ցամմա-ճառագայթներով ազդելուց հետո նկատվում է պարզ օրինաչափություն՝ որքան բարձր է ճառագայթման դոզան, այնքան ցածր է սերմերի ծլունակությունը:

Պոմիդորի արմատածայրերի մերիսթեմատիկ բջիջների բաժանման ինտենսիվությունը փոխվում է օրվա ընթացքում: Փորձարկվող բոլոր տարբերակներում միտոտիկ ինդեքսը պատկերող կորագծերը երկզագաթնաձևի են:

Քրոմոսոմային խախտումների ընդհանուր տոկոսը արմատածայրերի բջիջներում ավելանում է ճառագայթահարման դոզայի բարձրացման հետ մեկտեղ:

Ճառագայթահարման դոզայի մեծության տարբերությունները պահպանվում են սերմերի պահպանման բոլոր ժամկետներում:

Կապ գոյություն ունի քրոմոսոմային խախտումների և սերմերի պահպանման ժամկետների միջև: Պահպանման ժամկետի ավելացման հետ մեկտեղ նկատվում է քրոմոսոմային աբերացիաների տոկոսի հավաստի իջեցում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алов И. А. Цитология, 4, 297—305, 1962.
2. Афанасьева А. С. Бюлл. Моск. об-ва испыт. природы, отд. биол., 45, 433, 1936.
3. Бреславец Л. П. В книге: Очерки по радиобиологии, стр. 233, Изд-во АН СССР, 1956.
4. Бакар А. Б., Калошина З. М., Архипова Е. И. и Толчинская Е. С. Тр. Ин-та зерна и продуктов его переработки, 35, 43, 1957.
5. Васильева И. М., Жукова Б. Г., Спасская Т. С. Биофизика, 5, 570, 1960.
6. Гололобова М. Т. Бюлл. эксп. биол. и мед., 46, 9, 118—121, 1958.
7. Горин В. Е. Изв. СО АН СССР, Сер. биол.-мед. наук, вып. 3, 117, 1964.
8. Гриф В. Г. Цитология, т. 1, 2, 1959.
9. Дишлер В. Я. Генетика, 4, 1965.
10. Косиченко Л. Н. Бюлл. эксп. биол. и мед., 55, 1, 114—117, 1963.
11. Красильникова Н. В. Бюлл. эксп. биол. и мед., 56, 8, 93—97, 1962.
12. Лаура М. П. Цитология, 8, 4, 1966.
13. Манойлов С. Е., Никогосян И. Х., Яценко-Хмелевский А. А. Цитология, 5, 1965.
14. Немцева Л. С. Радиобиология, т. 5, 1965.
15. Нуждин Н. И., Дозорцева Р. Л. Журнал общей биологии, 23, 1, 12, 1962.
16. Нуждин Н. И., Дозорцева Р. Л., Самохвалова Н. С. Журнал общей биологии, 24, 4, 261, 1963.
17. Сидоров Б. Н., Хвостова В. В. Итоги науки. Биол. науки, 3, М., 176, 1960.
18. Тимашкевич Т. Б. Бюлл. эксп. биол. и мед., 55, 1, 100, 1960.
19. Филев А. К. ДАН СССР, т. 169, 3, 1966.
20. Хвостова В. В., Можаяева В. С. Радиобиология, 5, 3, 440, 1965.
21. Хвостова В. В., Невзгодина Л. В. Цитология, 1 (4), 1959.
22. Шапиро И. М., Ярмоненко С. М., Палыга Г. Ф. Радиобиология, Информ. бюлл., 7, 1965.
23. Щибря А. А., Терещенко Н. М. Тез. симпозиума по эксп. мутагенезу животных, раст. и микроорг., вып. 2, Моск. об-во исп. пр., 1965.
24. Abrams J. D. and Nilan R. A. Radiation Res., 8, 2, 111, 1958.
25. Adams J. D., Nilan R. A., Gunthardt H. M. Norwest Sci., 29, 101, 1955.
26. Bevilacqua B. Silva genet., 14, 3, 81—87, 1965.
27. Bhaskaran M. S. Swaminathan Genetics, 32, 200, 1961.
28. Bilguez A. C. R. Acad. Sci. 241, 3, 327, 1955.
29. Carlson J. G. In: Radiation Biology (Ed. A. Hollaender), 1, 763, Mc Graw-Hill, 4, 1954.
30. Curtis H. J. et al. Radiation Res., 8, 526, 1958.
31. Ehrenberg L. Radiobiolog Sympos. Proc. Liege, 825, 1954.
32. Ehrenberg L. Bot. notiser, 108, 2, 184, 1955.
33. Gichner T., Ehrenberg L. Biol. plant, 8, 3, 1966.
34. Gottshalk N., Jmam M. z. Pflanzenzücht, 53, 4, 344, 1965.
35. Manabe Cuntio. Bull. Expte. Biol., 10, 4, 416—421, 1965.
36. Nilan R. A. Genetics, 40, 588, 1955.
37. Robinow C. F. J. Biophys. and Biochem. cytology, 9, 4, 879—892, 1961.
38. Sacherer Frauз Adolf. Deutsch Nationalbiolog, 23, 2245, 1961.
39. Salser W. A. Frans, Kansas Acad. Sci., 59, 4, 412, 1956.
40. Tahmisian T. N. Academic Press N. J., 335—352, 1961.
41. Whitting A. R. A. Hollaender, 117—157, Pergamon Press, N. Y.
42. Vant Hof F. Jing Huei-Kuen, Cytologia, 29, 4, 399—406, 1964.