

Է. Ա. ԱՂԱՋԱՆՅԱՆ

ՅՈՐԵՆԻ ՄԻՏՈՏԻԿ ՑԻԿԼԻ ՏԵՎՈՂՈՒԹՅԱՆ ՀԱՄԵՄԱՏԱԿԱՆ
ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ, ԿԱԽՎԱԾ ՆՐԱ ՊԼՈՒԴՈՒԹՅԱՆ ՀԵՏ

Միտոտիկ ցիկլի տեղումնությունը որոշում են ինչպես ուղղակի, այնպես էլ անուղղակի մեթոդներով: Անուղղակի մեթոդներից ամենալայն տարածում է ստացել, հատկապես արտասահմանում, կոլխիցինային մեթոդը: Վերջինիս հիմքում ընկած է այն, որ կոլխիցին արկալոիդը սպեցիֆիկ ձևով է ազդում բջիջների բաժանման վրա, կանգնեցնելով այն միտոզի որոշակի ֆազում՝ մետաֆազում: Մետաֆազերի կուտակումը տանում է դեպի միտոտիկ ինդեքսի մեծացումը ի հաշիվ մետաֆազի տեղումնության ավելացման:

Լեբլոնդն և Ալլեն [12] առաջին անգամ ուշադրություն դարձրին կոլխիցինի ազդեցությունից հետո հյուսվածքներում միտոտիկ ինդեքսի մեծացման վրա: Նրանք հաստատեցին, որ գոյություն ունի ուղիղ համեմատականություն կոլխիցինի ազդեցությունից հետո եղած միտոտիկ ինդեքսի և այդ ազդեցությունից առաջ եղած միտոզի տեղումնության միջև:

Կոլխիցինի և ճառագայթման օգնությամբ Զոսիմովսկայան և Լյապունովան [3] որոշել են մարդու սաղմնային ֆիբրոբլաստների նախնական կուտուրայում միտոտիկ ցիկլի տեղումնությունը և միտոզի ժամանակը: Ըստ նրանց տվյալների, կոլխիցինի մեջ 3 ժամ մշակելուց հետո մետաֆազային ինդեքսը մեծանում է 3 անգամ, 6 ժամից հետո՝ 6 անգամ, միտոզի տեղումնությունը հավասար է 1,8 ժամի, իսկ ամբողջ միտոտիկ ցիկլի տեղումնությունը՝ 47,8 ժամի:

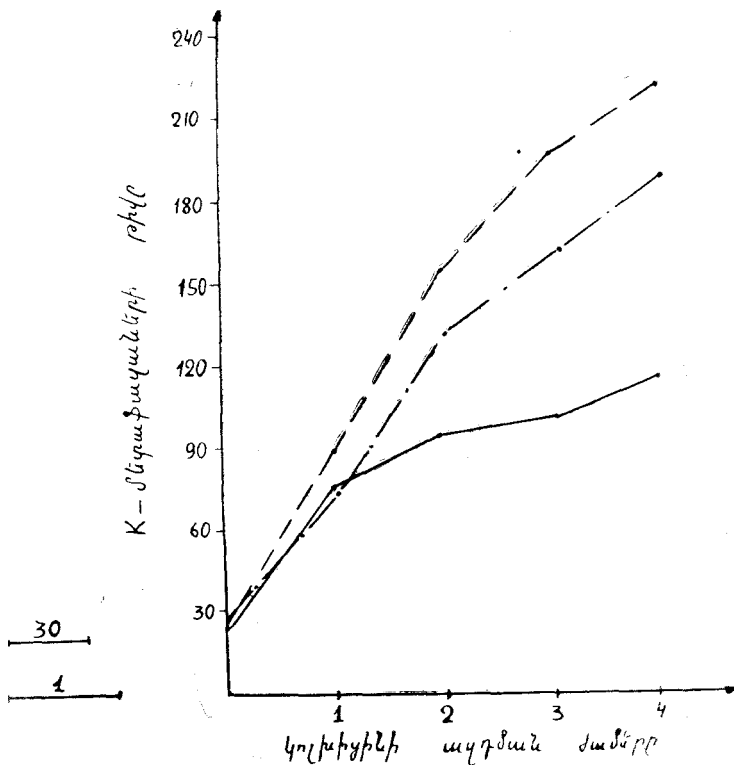
Կոլխիցինային մեթոդի օգնությամբ շատ հետաքրքրական տվյալներ է ստացել Կլովիսը [8] եգիպտացորենի մոտ միտոտիկ ցիկլի տեղումնության որոշման ժամանակ: Նա առաջինը հաստատեց, որ արմատի մերիստեմայի տարբեր մասերն ունեն միտոտիկ ցիկլի ոչ միանման տեղումնություն: Այսպես՝ պատյանի ինիցիալ բջիջներում այն հավասար է 12 ժամի, որից 2,7 ժամը կազմում է միտոզը, իսկ էնդոդերմի բջիջներում՝ 35 ժամը, որից 8,9 ժամը կազմում է միտոզը:

Ներկայումս, բազմաթիվ բուսական ու կենդանական օրգանիզմների համար որոշված է միտոտիկ ցիկլի և նրա առանձին ֆազերի տեղումնությունը [2, 4, 5, 7 և այլն]:

Սակայն, որքան մեզ հայտնի է, գրականության մեջ շատ քիչ աշխատություններ կան՝ նվիրված պոլիպլոիդ ձևերի միտոտիկ ցիկլի տեղումնության համեմատական ուսումնասիրությանը: Այսպես՝ Խ. Տիցուի [6] աշխատության մեջ կոլխիցինային և ավտոուղիորդաֆիտայի մեթոդներով ցույց է տրված, որ տետրապլոիդ տարեկանի մոտ միտոզի և միտոտիկ ցիկլի տեղումնությունն ավելի երկար է, քան դիպլոիդների մոտ:

Այդ տեսակետից որոշ հետաքրքրություն է ներկայացնում մեր կատարած աշխատանքը, որը նվիրված է ցորենի դիպլոիդ, տետրապլոիդ և հեքսապլոիդ ձևերի արմատների մերիստեմատիկ բջիջների միտոտիկ ցիկլի տեղումնության

Համեմատական ուսումնասիրությանը կոլխիցինային մեթոդով: Որպես ցորենի դիպլոիդ Δ և վերցվել է *Tr. monococcum*-ը (14 քրոմոսոմանոց), որպես տետրապլոիդ՝ *Tr. timopheevi*-ն (28 քրոմոսոմանոց), որպես հեքսապլոիդ *Tr. delfi*-ն (42 քրոմոսոմանոց): Այդ սորտերի սերմերը ցանվել են Պետրիի թասերում, խոնավ ծծողական թղթի վրա, մթության պայմաններում, $22 \pm 1^\circ\text{C}$ -ում: Արմատների երկարությունը 5—6 մմ-ի հասնելուց հետո, նրանց մի մասը ֆիքսվել է առավոտյան ժամը 8-ին՝ միտոտիկ ակտիվությունը նորմալում որոշելու համար, մյուսը տեղավորվել է կոլխիցինի 0,05% լուծույթով լցված Պետրիի թասերի մեջ և ֆիքսվել 1, 2, 3, 4 ժամերի ընթացքում: Արմատները ենթարկվել են մացերացիայի 4 N կոնցենտրիկ HCl -ի լուծույթով 30 րոպե, ներկվել ացետոկարմինով և պատրաստվել ժամանակավոր պրեպարատներ: Յուրաքանչյուր տարբերակում վերցվել է 10 արմատածայր և ամեն մի արմատածայրում հաշվի է առնվել 1000 բջիջ:



Նկ. 1. Մետաֆազի կուտակման պրոցեսը ցորենի 2n (....), 4n (— . — .), 6n (—) արմատածայրերի մերիստեմայում:

Ուսումնասիրությունները պարզեցին, որ ցորենի դիպլոիդ, տետրապլոիդ և հեքսապլոիդ Δ ևերի արմատների մերիստեմայում բաժանվող բջիջների թիվը նորմալում և կոլխիցինով մշակելուց հետո տարբեր է, որ կոլխիցինի 0,05% լուծույթը շատ էֆեկտիվ է և նրա մեջ 1 ժամ մնալուց հետո միտոզի նորմալ պատկերը փոխվում է: Մետաֆազում քրոմոսոմները երևում են սեղմված և ցրված ութաձև ու խաչաձև տեսքով: Տեսադաշտում մետաֆազերի թիվը, հա-

մեմատած նորմայի հետ, ավելացած է: Երևում է, որ կոլիտիցինի 0,05% լուծույթը զգալի չափով ազդել է աբրոմատինային ապարատի վրա, բաժանումը կանգնեցնելով մետաֆազի ստադիայում: Նրա մեջ 3—4 ժամ մնալուց հետո անաֆազերն ու տելոֆազերը համարյա լրիվ բացակայում են: Պետք է նշել, որ որքան արմատածայրերը երկար են մնում կոլիտիցինի լուծույթի մեջ, այնքան ավելի է մեծանում կոլիտիցինային մետաֆազերի թիվը, մինչդեռ պրոֆազի ին-

Աղյուսակ 1

կոլիտիցինի 0,05 % լուծույթի ազդեցությունը ցորենի 2_n, 4_n և 6_n ձևերի միտոտիկ ինդեքսի վրա

Պլոիդու- թյուն	կոլիտիցինի ազդման ժամերը	արմատ- ածայրի թիվը	1000 բջջի միջինը					Միտոտիկ ինդեքս %
			ինտեր- ֆազ	պրոֆազ	Մետաֆազ	անա- ֆազ	տելո- ֆազ	
2 _n	0	10	909,5	19	25,4±1,94	22	24,1	9,05±0,28
	1	10	890,5	17,6	91,3±2,86	0,2	0,6	10,97±0,3
	2	10	827	17,1	155,8±6,33	0	0,2	17,31±1,19
	3	10	777,7	15,3	196,9±6,49	0	0,1	21,23±1,29
	4	10	765,5	12,5	223±5,20	0	0	23,55±1,34
4 _n	0	10	911,8	20,2	26±0,80	20,6	21,4	8,82±0,28
	1	10	898	25,4	75,4±1,24	0,4	0,8	10,2±0,34
	2	10	847	20,9	131,4±1,11	0,2	0,5	15,3±1,13
	3	10	822,4	17,9	159,6±1,33	0	0,1	17,76±1,63
	4	10	7921	17	190,2±0,7	0	0	20,72±1,8
6 _n	0	10	916,5	19,3	23,3±1,14	19,5	21,4	8,35±0,27
	1	10	900	21,9	76,9±3,63	0,5	0,7	10,0±0,3
	2	10	887,1	15,3	97,1±6,31	0,2	0,3	11,2±1
	3	10	882,2	17,7	100,1±6,69	0	0,1	11,79±1,01
	4	10	862,1	22,1	115,8±5,32	0	0	13,79±1,09

դեքսը շատ քիչ է փոփոխություն ենթարկվում: Եթե համեմատենք ցորենի այդ 3 ձևերի միտոտիկ ակտիվության ցուցանիշները, ապա տեսնում ենք, որ քրոմոսոմների թվի մեծացման հետ միասին, իջնում է միտոտիկ ակտիվությունը, այսինքն միտոզի հաճախականությունը փոքրանում է (աղ. 1, նկ. 1), որը հաստատված է նաև գրականության մեջ [6, 10, 11]:

Հայտնի է Կոստովի [11] աշխատությունը, որտեղ նա նշում է, որ *Nicotiana* ցեղի պոլիպլոիդ ձևի մոտ միտոտիկ ակտիվությունը փոքր է, համեմատած դիպլոիդ ձևի հետ: Էյգստին [10] նույնպես դիպլոիդ ձևերի մոտ հայտնաբերեց միտոզի մեծ հաճախականություն, քան համապատասխան ավտոտետրապլոիդների մոտ:

Սակայն, միայն միտոտիկ ինդեքսը որոշելով դժվար է վերջնականապես դատել բջջային բաժանման արագության մասին, քանի որ միտոզի քանակու-

թյան ավելացումը (բարձր միտոտիկ ինդեքսը) կարող է հետևանք լինել ոչ միայն բջջային բաժանման արագացման, այլև միտոտիկ ցիկլի ընթացքի դանդաղեցման: Որպեսզի հնարավոր լինի ստույգ որոշել հյուսվածքների միտոտիկ ակտիվությունը, անհրաժեշտ է հաշվի առնել ոչ միայն տվյալ պահին տեսանելի միտոզների քանակությունը, այլև միտոտիկ ցիկլի տեղումնությունը:

Միտոզի տեղումնությունը (m) որոշվել է Դյուսթենի [9] բանաձևով՝

$$m = \frac{ixt}{It^s}, \text{ որտեղ}$$

i -ն տվյալ հյուսվածքի միտոտիկ ակտիվությունն է: It^s -ը կոլիցինի ազդեցությունից որոշ ժամ հետո եղած միտոտիկ ակտիվությունն է:

Իմանալով միտոզի միջին տեղումնությունն (m) և բաժանվող (i) ու չբաժանվող (N) բջիջների հարաբերությունը, որոշվել է նաև ինտերֆազի միջին տեղումնությունը (T):

$$T = \frac{Nxm}{i}$$

Աղյուսակ 2

Միտոտիկ ցիկլի ֆազերի տեղումնությունը կոլիցինային մեթոդով (րոպեներ)

Ֆազ	$2n$	$4n$	$6n$	tdif		
				$2n/4n$	$2n/6n$	$4n/6n$
Միտոզ	$91,91 \pm 2,24$	$102,2 \pm 2,37$	$148,37 \pm 27,7$	3,16	16,4	12,6
Ինտերֆազ	$923,66 \pm 34,48$	$1056,27 \pm 5,17$	$1628,63 \pm 392$	3,8	13,5	14,4
Ամբողջ միտոտիկ ցիկլ	$1015,57 \pm 36,02$	$1158,47 \pm 6,01$	$1777,00 \pm 42,14$	3,9	13,7	14,5

Ինչպես երևում է աղյուսակ 2-ից, ցորենի $2n$, $4n$ և $6n$ ձևերի մերիստեմատիկ բջիջների միտոտիկ ցիկլի տեղումնության տարբերությունները վիճակագրորեն ստույգ են: Հեքսապլոիդ ձևի մոտ բջիջների միտոտիկ ցիկլը (միտոզ + ինտերֆազ) ավելի երկար է տևում, քան դիպլոիդ և տետրապլոիդ ձևերի բջիջների մոտ:

Յորենի դիպլոիդ ձևի միտոտիկ ցիկլի տեղումնությունը հավասար է $1015,57 \pm 36,02$ րոպեի՝ միտոզի տեղումնության $91,91 \pm 2,24$ րոպեի դեպքում, տետրապլոիդի մոտ միտոտիկ ցիկլի տեղումնությունը հավասար է $1158,47 \pm 6,01$ րոպեի՝ միտոզի տեղումնության $102,2 \pm 2,37$ րոպեի դեպքում, հեքսապլոիդ ձևի միտոտիկ ցիկլի տեղումնությունը հավասար է $1777,0 \pm 42,14$ րոպեի՝ միտոզի տեղումնության $148,37 \pm 2,77$ րոպեի դեպքում:

Այսպիսով, կոլիցինային մեթոդով ցորենի տարբեր պլոիդության ձևերի միտոտիկ ցիկլի ֆազերի տեղումնության որոշմամբ մի անգամ ևս հաստատվեց, որ բրոմոսոմների թվի և միտոտիկ ցիկլի տեղումնության միջև գոյություն ունի ուղղակի կախում:

Երևանի պետական համալսարան, գենետիկայի
և բջջաբանության ամբիոն

Ստացվել է 16.X 1967 թ.

Э. А. АГАДЖАНИЯ

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ МИТОТИЧЕСКОГО ЦИКЛА У ПШЕНИЦ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИХ ПЛОИДНОСТИ

Р е з ю м е

Продолжительность митотического цикла определяется с помощью прямых и косвенных методов. Одним из указанных методов является колхициновый метод, который широко применяется для определения продолжительности митоза. Известно, что колхицин специфично действует на деление клетки, останавливая его на стадии метафазы.

Настоящая работа посвящена изучению продолжительности митотического цикла у диплоидной (*Tr. monocossum*), тетраплоидной (*Tr. timopheevi*) и гексаплоидной (*Tr. delfi*) пшениц.

Для проведения опытов семена проращивали в чашках Петри при температуре $22 \pm 1^\circ\text{C}$ в условиях темноты. После появления корешков длиной 5—6 мм, часть из них фиксировалась в 8 час. утра для определения митотической активности в норме. Остальные переносились в раствор 0,05% колхицина и фиксировались после 1-, 2-, 3-, 4-часовой экспозиции.

Продолжительность митоза (m) определялась по формуле Дюстена

$$m = \frac{ixt}{its}$$

Исследования показали, что продолжительность митотического цикла, установленная колхициновым методом, у диплоидной пшеницы равна $1015,57 \pm 36,02$ мин. (при продолжительности митоза $91,91 \pm 2,24$ мин.), у тетраплоидной— $1158,47 \pm 6,01$ мин. (при продолжительности митоза $102,2 \pm 2,37$ мин.), а гексаплоидной— $1777,00 \pm 42,14$ мин. (при продолжительности митоза $148,37 \pm 2,77$ мин.).

На основании полученных данных можно заключить, что между числом хромосом и продолжительностью митотического цикла существует прямая зависимость.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бреславец Л. П. Полиплоидия в природе и опыте. Изд. АН СССР, М., 1963.
2. Епифанова О. Г. и др. Бюлл. эксп. биол. и мед., 45, 96, 1963.
3. Зосимовская А. И. и Ляпунова Н. А. Цитология, 8, 2, 1966.
4. Терских В. В. Цитология, 6, 352, 1964.
5. Уткин И. А. Автореф. докт. диссертации. Сухуми, 1958.
6. Хараламбие Тицу. Автореф. диссертации. М., 1965.
7. Чумак М. Г. Радиобиология, 3, 666, 1963.
8. Clowes F. A. R. J. Exp. Bot. 12, 283, 1961.
9. Dustin P. In: Kinetics of cellular proliferation, p. 50, N. Y. (ed. F. Stohlman), 1959.
10. Eigsti O. Y. Genetics, 32, 1937.
11. Kostoff D. Current Science, 9, 217, 1940.
12. Leblond C. P. and Allen E. Endocrinology, 21, 1937.