

Д. С. БАЛАСАНИАН

РОЛЬ КИНЕТИНА (6-ФУРФУРИЛАМИНОПУРИНА) В СТИМУЛЯЦИИ ДЕЛЕНИЯ КЛЕТОК (*ALLIUM SERA* L.)

Результаты исследований показали, что минимальные дозы кинетина могут оказывать как ингибирующее, так и стимулирующее действие на митотическую активность клеток в зависимости от продолжительности воздействия при проращивании семян лука (*Allium sera* L.) в испытуемых растворах. Те же дозы кинетина при обработке выращенных на воде корешков оказывают стимулирующее воздействие во все сроки анализа материала.

В цитогенетической литературе имеются данные относительно действия кинетина на митоз и рост клеток как отдельно, так и в сочетании с другими физиологически активными веществами. Общий вывод из всех этих исследований заключается в том, что кинетин в зависимости от концентрации стимулирует или ингибирует деление клеток. Интересно отметить, что стимуляцию кинетином активности клеточного деления разные авторы объясняют по-разному [1, 3—15].

Изучение действия максимальных доз кинетина на митоз меристематических клеток *Allium sera* L., что было предметом нашего предыдущего сообщения, показало, что испытуемые дозы его оказывают ингибирующее действие на митотическую активность клеток при их обработке соответствующими растворами, и это действие тем сильнее, чем концентрированнее раствор. Одновременно выяснилось, что те же дозы кинетина обладают слабым мутагенным действием. Попытка проращивать семена лука в исследуемых растворах показала, что максимальные дозы кинетина оказывают ингибирующее действие и на начальный рост корешков, а дозы 25 мг/100 мл и 50 мг/100 мл дают летальный эффект.

Настоящая работа посвящена изучению характера воздействия минимальных доз кинетина (1 мг/5000 мл, 1 мг/10000 мл, 1 мг/500000 мл, 1 мг/1000000 мл) на митоз клеток лука.

Материал и методика. Опыты проводились в 2-х сериях.

В I серии семена лука проращивались в чашках Петри на фильтровальной бумаге, увлажненной соответствующими растворами кинетина разной концентрации. Во II серии корешки, выращенные на воде, обрабатывались вышеуказанными растворами. Материал контрольной группы проращивался на фильтровальной бумаге, смоченной водопроводной водой. Семена проращивались в комнатных условиях при температуре 22—25°.

В I серии опыта материал опытных и контрольных групп фиксировался параллельно в течение 48 час., фиксацию производили через 1, 2, 4, 6, 12, 48 час., что соответству-

ет 50, 51, 53, 55, 57, 61, 97 час. от начала замачивания семян в растворах кинетина (49 час — нулевая экспозиция). Во II серии во всех лэтых вариантах (за вариант в опыте принималась взятая доза кинетина) материал фиксировался через 1, 2, 4, 6, 8 час. Методика выполнения работы описана в предыдущей статье. Всего по всем вариантам и комбинациям опыта было подсчитано около полмиллиона клеток. Полученные данные статистически достоверны.

Результаты и обсуждение. Анализ данных, полученных в I серии опыта, показывает, что из всех исследуемых минимальных доз кинетина наиболее эффективное воздействие на МА (митотическую активность) клеток лука оказывает доза 1 мг/1000000 мл к 50 часам выдерживания клеток в растворе, т. е. высокая МА приходится на первые сроки анализа материала. Процент делящихся клеток в указанном часу составляет $4,80 \pm 0,67$. При других исследуемых концентрациях (1 мг/5000 мл, 1 мг/10000 мл, 1 мг/500000 мл) также высокая митотическая активность приходится на первые сроки фиксации—50, 51, 53 час., т. е. на первые сроки вступления клеток в митоз. Более длительное воздействие кинети-

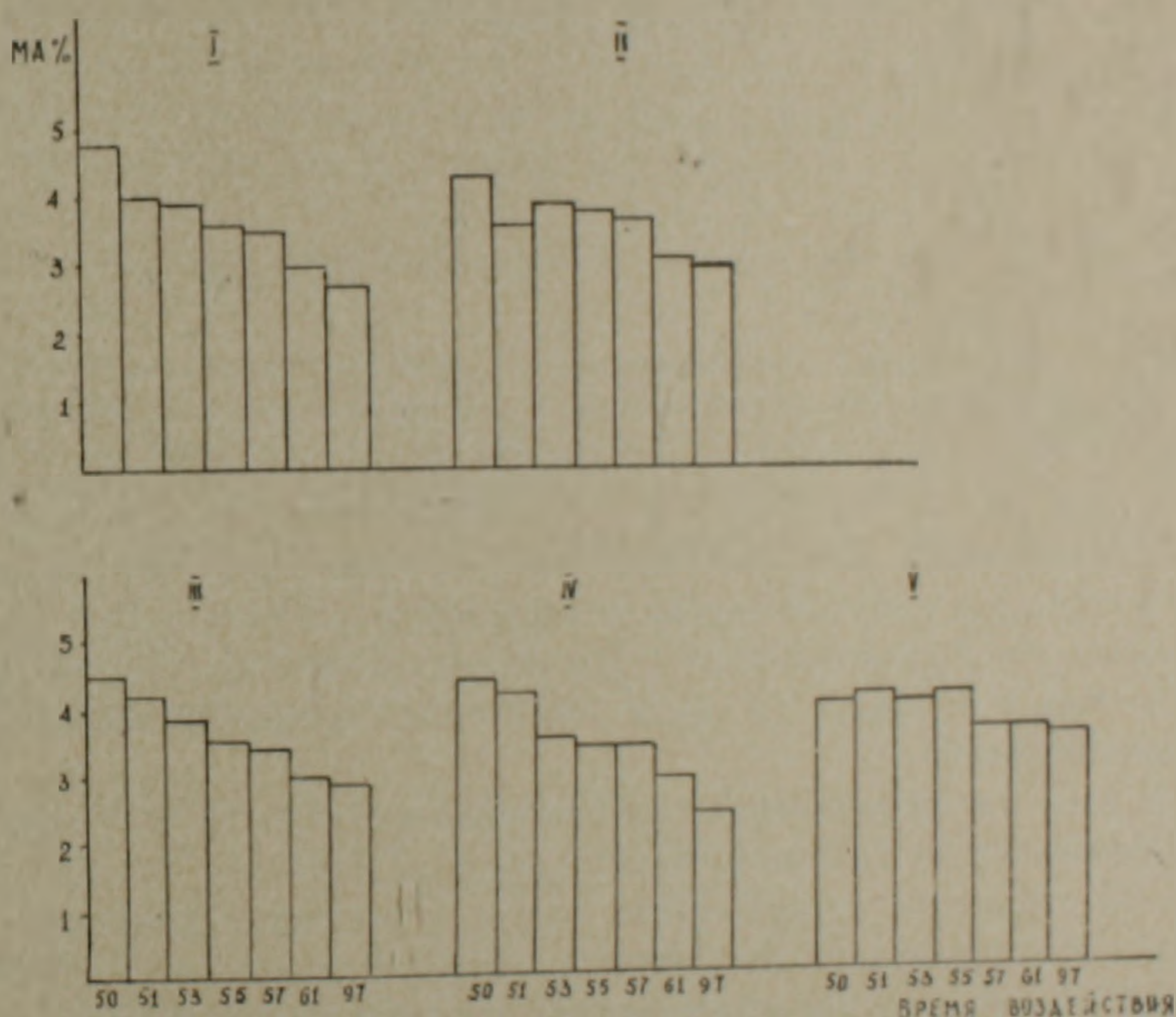


Рис. 1. МА клеток корешков лука при проращивании их в растворах кинетина: I—1 мг/1000000 мл, II—1 мг/500000 мл, III—1 мг/10000 мл, IV—1 мг/5000 мл, V—вода

на приводит к закономерному понижению МА. Во всех испытываемых вариантах МА, как правило, понижается в зависимости от продолжительности воздействия; чем длительнее воздействие кинетина, тем ниже МА клеток (рис. 1). Так, если в варианте 1 мг/1000000 мл при 50 час. экспозиции процент делящихся клеток составляет $4,80 \pm 0,67$, то при 97 час. экспозиции МИ (митотический индекс) падает до $2,74 \pm 0,51\%$. В ва-

рианте 1 мг/5000 мл отмечается спад МИ от $4,48 \pm 0,64\%$ до $2,48 \pm 0,48\%$. Аналогичные примеры можно привести и по остальным вариантам. Во всех исследуемых вариантах отмечается понижение митотического индекса в пределах 1—1,5%. Это свидетельствует о том, что длительное выдерживание клеток лука в растворах кинетина приводит к ингибированию митоза. Полученные результаты показывают, что в данном случае концентрация раствора не оказывает столь значительного влияния на митотическую активность, как в случае максимальных доз, т. е. нет зависимости митотической активности клеток от концентрации. Суммарно за весь проанализированный период во всех испытываемых вариантах поделилось одинаковое количество клеток (рис. 2).

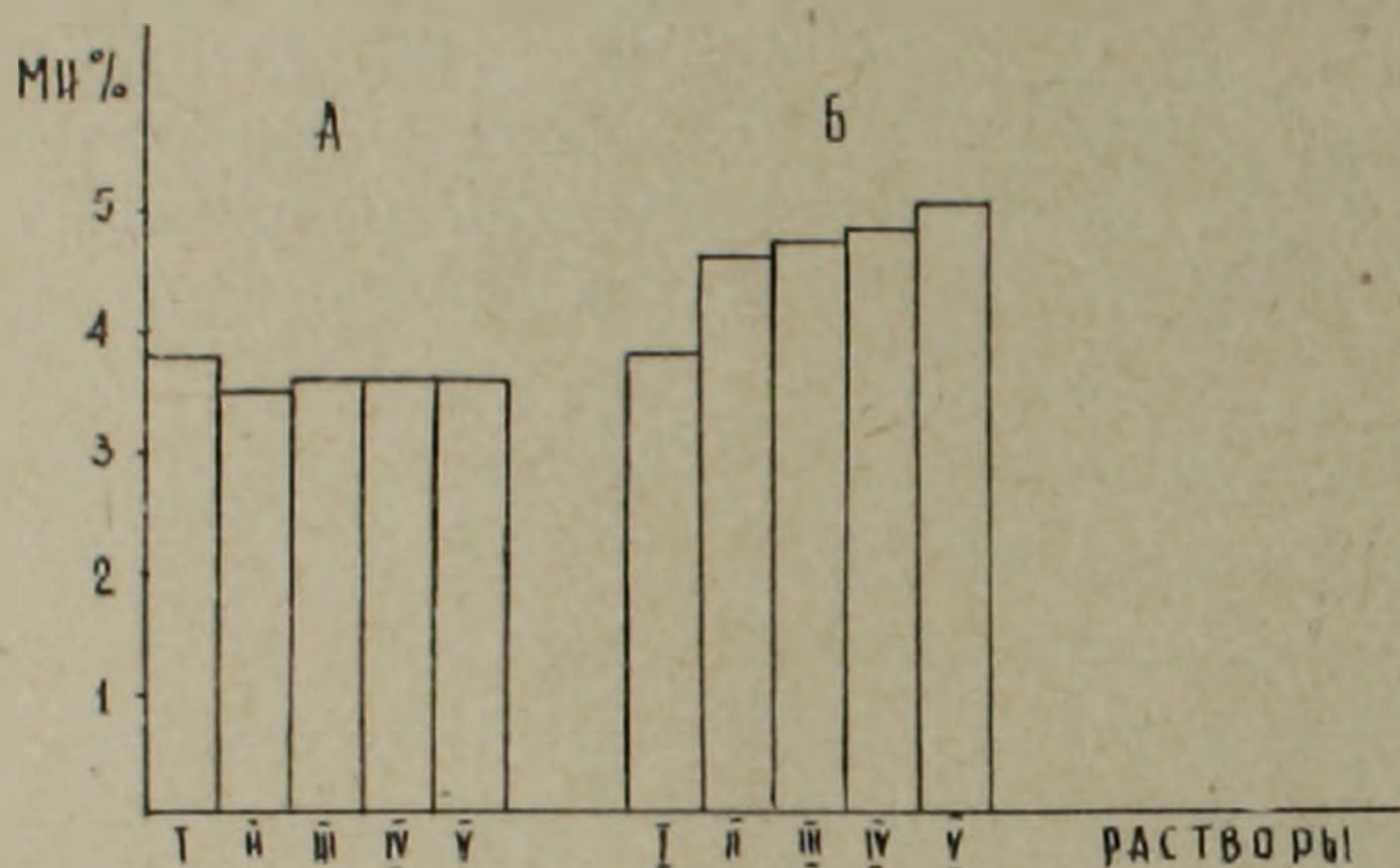


Рис. 2. МИ по всем экспозициям данного варианта при проращивании корешков лука в растворах кинетина—А и при обработке их соответствующими растворами—Б: I—вода, II—1 мг/5000 мл, III—1 мг/10000 мл, IV—1 мг/500000 мл, V—1 мг/1000000 мл.

Для выявления действия испытываемых доз кинетина на отдельные фазы митоза мы проанализировали активность по фазам. При анализе отдельных фаз прежде всего замечается уменьшение количества клеток, вступающих в профазу по мере увеличения продолжительности воздействия кинетина.

Во всех изученных вариантах наибольшее число профаз приходится на первые сроки фиксации материала. В дальнейшем по мере увеличения длительности выдерживания клеток в растворе кинетина постепенно число профаз уменьшается. Так, при дозах 1 мг/5000 мл, 1 мг/1000000 мл количество профаз уменьшается соответственно от 17,5 до 8,7 и от 20,3 до 7,2. Аналогичная картина наблюдается при дозах 1 мг/10000 мл, 1 мг/500000 мл. Очевидно, понижение митотической активности в зависимости от длительности воздействия кинетина объясняется прежде всего уменьшением количества профаз, т. е. числа клеток, вступающих в деление и соответственно числа делящихся клеток в метафазе, анафазе, телофазе.

Полученные данные свидетельствуют о том, что одни и те же дозы кинетина в первые сроки фиксации материала несколько стимулируют деление, обеспечивая вхождение в митоз большего числа клеток, а в бо-

более поздние сроки фиксации те же дозы оказывают блокирующее действие на МА клеток корешков лука, т. е. подавляют вступление новых клеток в митоз. При 50-часовой экспозиции МИ во всех вариантах выше контрольного показателя, а при 55-часовой экспозиции во всех вариантах он ниже контроля (рис. 1).

В случае обработки корешков, выращенных на воде, исследуемыми растворами во все сроки фиксации материала МИ выше контрольного показателя. Так, процент делящихся клеток при дозе 1 мг/5000 мл составляет $5,06 \pm 0,76$ при 2-часовой экспозиции, в это же время в контроле МИ равен $4,11 \pm 0,62\%$. При 8-часовой экспозиции того же варианта этот показатель составляет $4,26 \pm 0,63$, а в контроле— $3,69 \pm 0,58\%$.

Аналогичные примеры можно привести по всем вариантам и комбинациям опыта.

Из всех взятых вариантов наиболее эффективен, как и в предыдущей серии, вариант 1 мг/1000000 мл при 2- и 4-часовых экспозициях ($5,76 \pm 0,76\%$; $5,05 \pm 0,71\%$). Остальные взятые концентрации через те же интервалы оказывают почти сходное действие (рис. 3). Следует отметить, что для всех взятых концентраций характерна более высокая митотическая активность при малых экспозициях.

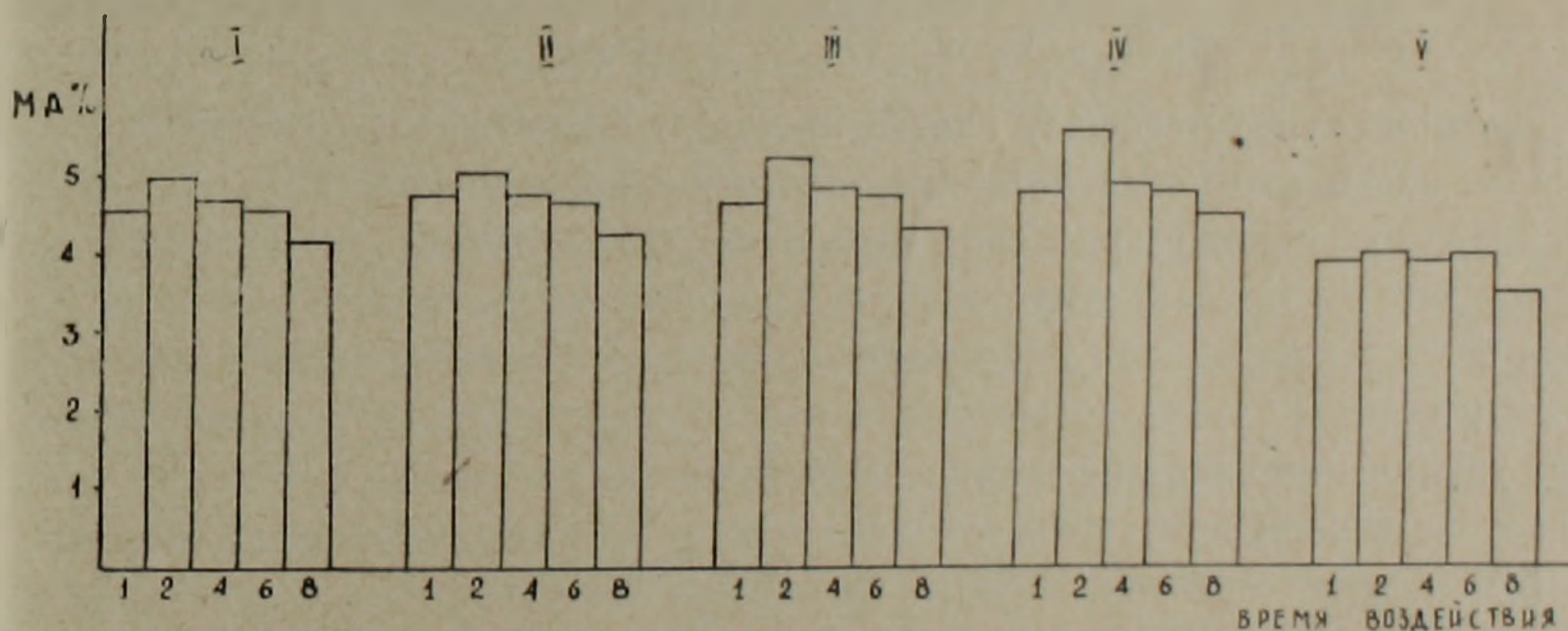


Рис. 3. МА клеток корешков лука, обработанных различными концентрациями кинетина: I—1 мг/5000 мл, II—1 мг/10000 мл, III—1 мг/500000 мл, IV—1 мг/1000000 мл, V—вода.

Наблюдаемое во всех вариантах повышение числа делящихся клеток через 2 часа с начала опыта и уменьшение его через 6 час. указывает на ритмическое течение процессов жизнедеятельности. При обработке корешков указанными растворами митотическая активность клеток при различных экспозициях колеблется в пределах 0,5--1%.

Данные, полученные по II серии, показывают, что чем разбавленнее раствор, тем выше МИ, т. е. в отличие от предыдущего случая имеется зависимость активности клеточного деления от концентрированности раствора (рис. 2). Кинетин наиболее эффективен в разведении 10^{-6} . Это положение согласуется с наблюдениями других авторов [3, 4, 11]. При анализе отдельных фаз митоза во всех вариантах отмечается увеличение числа профаз по сравнению с контролем. Это обстоятельство

свидетельствует о том, что в митоз вступает больше клеток, чем в контроле. Однако, согласно Щербакову [2], увеличение МИ только за счет большого числа профаз не может являться показателем повышения МА, так как увеличение только профаз может свидетельствовать о поражении или замедлении построения митотического аппарата, при котором клетки не вступают в метафазу, и в результате происходит накопление профаз. Увеличение МИ за счет большого числа метафаз и телофаз может являться показателем повышения МА. Во всех взятых вариантах отмечается значительное увеличение числа метафаз и телофаз (рис. 4).

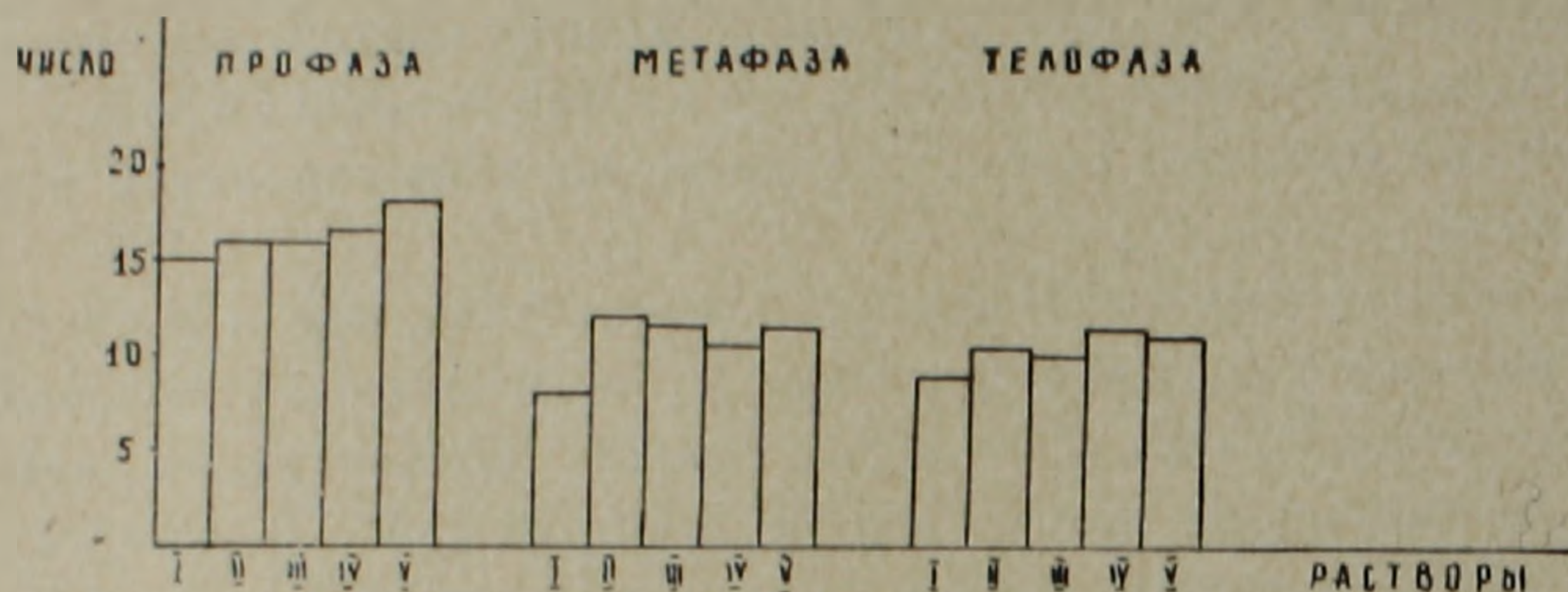


Рис. 4. Частота встречаемости профаз, метафаз и телофаз по всем экспозициям данного варианта: I—вода, II—1 мг/5000 мл, III—1 мг/10000 мл, IV—1 мг/500000 мл, V—1 мг/1000000 мл.

Обычно через метафазу клетки проходят сравнительно быстро, а телофаза несколько более растянута во времени, чем анафаза и метафаза. Поэтому закономерно частичное накопление клеток в телофазе к концу первого митоза, а превышение количества телофаз и метафаз в вариантах с кинетином следует отнести за счет стимулирования митоза. В исследуемом случае повышение митотического индекса происходит за счет увеличения числа не только профаз, но также мета- и телофаз, поэтому мы можем допустить, что испытываемые минимальные дозы кинетина при обработке корешков лука вызывают стимуляцию клеточного деления. Поскольку проращивание семян лука в растворах кинетина, а также обработка максимальными дозами приводят к блокированию активности клеточного деления, то мы можем сделать определенный вывод о том, что стимуляция клеточного деления имеет место не за счет уменьшения продолжительности интерфазы, а за счет увеличения продолжительности отдельных фаз митоза. Обобщая данные двух серий опыта, можно заключить, что одни и те же минимальные дозы кинетина могут оказывать как ингибирующее, так и стимулирующее действие на митотическую активность клеток в зависимости от продолжительности воздействия при проращивании семян лука в испытываемых растворах. Те же дозы кинетина при обработке выращенных на воде корешков оказывают только стимулирующее действие во все сроки анализа материала.

Դ. Ս. ԲԱԼԱՍԱՆՅԱՆ

ԿԻՆԵՏԻՆԻ (6-ՖՈՐՖՈՐԻԼԱՄԻՆԱՊՈՐԻՆ) ԽԹԱՆՈՂ ԴԵՐՐԸ
ALLIUM CERA-Ի ԲՋԻՋՆԵՐԻ ԲԱԺԱՆՄԱՆ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Կինետինի մինիմալ դոզաները ($1 \text{ մգ}/5000 \text{ մլ}$, $1 \text{ մգ}/10000 \text{ մլ}$, $1 \text{ մգ}/50000 \text{ մլ}$, $1 \text{ մգ}/100000 \text{ մլ}$) տարբեր ազդեցություն են ունենում սոխի արմատածայրերի մերիստեմատիկ բջիջների միտոտիկ ակտիվության վրա: Սոխի սերմերը նշված լուծույթներում աճեցնելիս կինետինի երկարատև ազդեցությունը հանգեցնում է միտոտիկ ակտիվության նվազման, որը տեղի է ունենում պրոֆազաների կրճատման հաշվին, այսինքն՝ բաժանմանը մասնակցվող բջիջների թվի պակասման հետևանքով: Օրինակ՝ $1 \text{ մգ}/5000 \text{ մլ}$ տարբերակում պրոֆազաների թիվը պակասում է $17,5-8,7$: Ուսումնասիրություններից պարզվել է նաև, որ կինետինի նշված դոզաները ֆիքսացիայի սկզբնական շրջանում որոշ չափով խթանում են բաժանումը:

Ջրում ծլած և կինետինի փորձարկվող լուծույթներով մշակված արմատածայրերում պատկերը այլ է: Այս դեպքում միտոտիկ ակտիվությունը ֆիքսացիայի բոլոր ժամկետներում գերազանցում է ստուգիչ միտոտիկ ակտիվությունը: Միտոտիկ ակտիվության բարձրացումը տեղի է ունենում ոչ միայն պրոֆազաների քանակի մեծացման, այլ նաև մետա- և տելոֆազաների հաշվին, որը, հավանաբար, կինետինի խթանիչ հատկության հետևանքն է:

Կատարված ուսումնասիրությունները հանգեցնում են այն եզրակացության, որ խթանումը տեղի է ունենում ոչ թե ինտերֆազաների տևողության կրճատման, այլ միտոզի առանձին ֆազաների տևողության երկարացման հաշվին:

Մեր կարծիքով կինետինի ամենաէֆեկտիվ դոզան է $1 \cdot 10^{-6} \text{ մգ}/\text{մլ}$:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ткаленко Л. В. Сельскохозяйственная биология, 14, 1966.
2. Щербакон В. К. Радиобиология, 7, 1965.
3. Dmochowski A., Maciejewska-Potapczykowa W., Sempinska E. Acta Soc. Bot. Polon., 26, 2, 1965.
4. Guttman R. Chromosoma, 8, 1956.
5. Guttman R. Biophys. & Biochem. Cytol., 3, 1957.
6. Kohlenbach Hans Willy. Z. Pflanzenphysiol, 64, 4, 1970.
7. Macleod R. Chromosoma, 24, 1968.
8. Miller O., Skoog F., Okumura F., Saltza M., Strong F. J. Amer. Chem. Soc., 78, 1956.
9. Olchewska M., Maciejewska-Potapczykowa W., Sempinska E. Acta Soc. Bot. Polon., 26, 3, 1957.
10. Osborne D. Plant. Physiol., 37, 5, 1962.
11. Pilet P. Rev. General de Botanique, 805, 1961.
12. Supniewski J., Marczynsky T. Bull. Acad. Polon. Sci., 2, 5, 12, 1957.
13. Torrey J. Exptl. Cell Res., 23, 1961.
14. Van'T Hof. Exptl. Cell Res., 51, 1968.
15. Van'T Hof. Cytologia, 28, 30, 1963.