

Г. Г. БАТИКЯН, Е. Г. СИМОНЯН, Д. С. БАЛАСАНЯН

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КИНЕТИНА С ДРУГИМИ ХИМИЧЕСКИМИ ФАКТОРАМИ

Изучение взаимодействия кинетина с другими химическими факторами (ИУК, актиномицин, сахароза) показало, что прямым конкурентом его является актиномицин D. При последовательном действии актиномицина (250 γ /50 мл) и кинетина (1.10^{-6} мг/мл) последний ослабляет подавляющий эффект актиномицина на активность клеточного деления. Одновременно нами установлено, что комбинированное воздействие кинетина с ИУК в концентрации 1.10^{-6} мг/мл вызывает стимуляцию активности клеточного деления. Результаты активности клеточного деления, а также изменения процента роста корешков при обработке кинетином (10, 25, 50 мг%) и сахарозой (3, 6, 9%) показали, что ингибирующее действие, вызываемое максимальными концентрациями кинетина, значительно снимается при последовательном воздействии кинетина и сахарозы.

Свойства кинетина, актиномицина и ИУК и подобных им веществ в последнее время изучены достаточно [3—5, 8, 9, 13, 19]. Работ по анализу взаимодействия этих веществ (кининов, антибиотиков и ауксинов) — незначительно [7, 12, 14, 21].

В настоящей работе мы рассматриваем взаимодействие кинетина, актиномицина, ИУК, их отдельное и комбинированное воздействие на митотический индекс клеток корешков и рост корней лука.

Реакции роста растений, обработанных параллельно ИУК и кинетином, рассматриваются в небольшом количестве работ [11, 12, 20, 22]. Некоторые авторы считают, что ИУК тормозит рост почек, но это торможение может быть устранено присоединением кинетина. По данным Ронсо-Жан [18], актиномицин и хлорамфеникол заметно угнетают рост почек уже при дозе 0,1 γ на почку, а кинетин при совместном действии с 6-бензиламинопурином в концентрации 100 мг/л стимулирует прорастание семян 4-х сортов салата-латука и вызывает снижение содержания хлорофилла в проростках [6]. При действии гиббереллина в изолированных эндоспермах и целых семенах активность фермента повышалась. Кинетин ингибировал активность после 3-го дня. При одновременной обработке обоими веществами гиббереллин стимулировал активность фермента в первые три дня [23].

Чтобы изучить связь между кинетином и актиномицином в стимуляции и блокировании клеточного деления, мы исследовали эффект последовательного и комбинированного действия этих двух химических препаратов, применив указанные вещества в наиболее эффективной дозе (1.10^{-6} мг/мл, 100 γ /мл и 250 γ /50 мл).

Материал и методика. Методика проведения опытов подробно была описана ранее [2]; в настоящей работе мы опишем лишь основные пункты. Семена *Allium* сера проращивались в чашках Петри, корешки длиной 8—10 мм переносились в растворы кинетина и актиномицина соответствующих концентраций. Через 4 час. в одной серии опытов действие кинетина снималось, и корешки переносились на фильтровальную бумагу, увлажненную, в одном случае, растворами сахарозы в концентрациях 3,6, и 9%, в другом—растворами кинетина в концентрации $1 \cdot 10^{-6}$ мг/мл. Обработка корешков в варианте кинетин-сахароза проводилась в присутствии сахарозы в среде и фиксировалась через 4 и 24 час., в варианте актиномицин-кинетин обработка кинетином продолжалась в течение 8 час., а фиксация проводилась через 1, 2, 4, 6, 8 час. Кинетин использовался в концентрациях 10, 25 и 50 мг%, а актиномицин—в концентрации 250 γ /50 мл.

В варианте кинетин-актиномицин корешки сначала выдерживались в течение 2-х час. в растворе кинетина в концентрации $1 \cdot 10^{-6}$ мг/мл, после чего переносились на фильтровальную бумагу, увлажненную раствором актиномицина в концентрации 100 γ /мл. Фиксация проводилась с различными интервалами продолжительностью экспозиции от одного до 48 час. Для изучения митотического индекса были приготовлены ацето-карминовые временные препараты.

С целью нахождения связи между длиной корешка и интенсивностью деления клеток при последовательной обработке кинетином и сахарозой нами был проведен дополнительный опыт. Двухдневные проростки длиной $5 \text{ мм} \pm 1,5$, выращенные в больших кюветах, в количестве 10 штук переносились в чашки Петри на фильтровальную бумагу, увлажненную растворами кинетина и сахарозы вышеуказанных концентраций. Определялся процент прироста проростков при раздельном и последовательном действии кинетина и сахарозы и наоборот. Измерение проростков проводилось через 4 и 24 час.

Результаты и обсуждение. Результаты опыта учитывались следующим образом: абсолютное среднее удлинение $\Delta L = L_t - L_0$, относительное среднее удлинение $\Delta L^1 = \frac{L_t - L_0}{L_0} \cdot 10^2$.

Эти величины включают в себя как контрольный (TE), так и опытный варианты (TR).

$$\Delta L_{(TE)} = L_{(TE)}^t - L_{(TE)}^0; \quad \Delta L_{(TR)} = L_{(TR)}^t - L_{(TR)}^0.$$

Относительное удлинение опытных корешков по сравнению с контролем определялось по формуле $\Delta L_2 = \frac{\Delta L_{TR} - \Delta L_{TE}}{\Delta L_{TE}} \cdot 100$, которая позволяет определять изменение процента роста при разных концентрациях и сроках воздействия. Процент ошибки вычислялся по формуле:

$$\lambda = \pm \sqrt{\frac{(x - A)^2 - nb^2}{n-1}},$$

где λ — процент ошибки, A —наиболее часто встречающийся показатель в определенном ряду чисел, $x - A$ —среднее число между числом « A » и остальными числами в указанном ряду, n —число проростков, $b = \frac{x - A}{n}$.

При последовательном введении актиномицина и кинетина стимулирующий эффект кинетина изучался в течение 8 час. после снятия действия актиномицина с 4-х час. экспозицией. После 4 час. большой раз-

ницы между эффектами отдельного и последовательного введения препаратов, как показано на рис. 1, не наблюдалось, что свидетельствует о том, что эффект актиномицина, который появляется через 12, 24 и 48 час. обусловлен не тем механизмом, который действует через 2—4 час. (кинетин). Эти два химических препарата не содействуют друг другу в стимулировании клеточного деления при взятых концентрациях, потому они являются антагонистами. Актиномицин подавляет синтез РНК [3, 5] и является прямым конкурентом кинетина. Для этого достаточно сравнить данные, приведенные на рис. 1, 2, где ясно видна картина их действия.

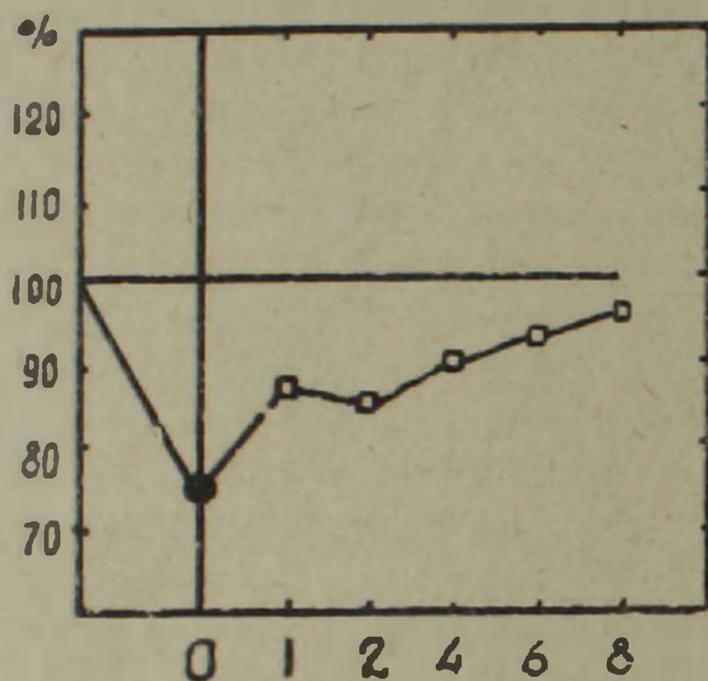


Рис. 1. Последовательное действие актиномицина и кинетина на митотический индекс клеток: по оси ординат—процент делящихся клеток по отношению к контролю; на оси абсцисс—время после снятия действия актиномицина и кинетина (соответственно), □—□ — введение кинетина через 4 час. после снятия действия актиномицина, «О» — момент снятия действия актиномицина.

При комбинированном действии кинетина с ИУК на митоз клеток корешков лука установлено, что митотическая активность значительно возрастает (табл. 1). Если при действии кинетина дозой $1 \cdot 10^{-6}$ мг/мл при час. экспозиции МИ клеток равен $4,92 \pm 0,69\%$, то при той же экспозиции, но при совместном действии кинетина и ИУК в той же дозе митотическая активность соответственно повышается и становится равной $7,81 \pm 0,85\%$, а при 2-х час. экспозиции— $8,64 \pm 0,71\%$ и т. д. После выдерживания корешков в воде в течение 2-х час. индекс делящихся клеток понижается, доходя до уровня контроля. Иначе говоря, действие этих двух факторов является обратимым. Таким образом, мы можем отметить, что минимальные концентрации кинетина и ИУК вызывают стимуляцию клеток, выражающуюся не в сокращении продолжительности интерфазы, а в растяжении отдельных фаз митоза [1].

Помимо активности клеточного деления, нами изучалось изменение процента роста корешков в зависимости от концентрации кинетина и сахарозы. Максимальные дозы кинетина (10, 25, 50 мг%) тормозят рост корней от—38,4 до—91,7% при продолжительности экспозиции 4, 24 и 44 час., причем в дозе 50 мг% он намного сильнее тормозит рост кор-

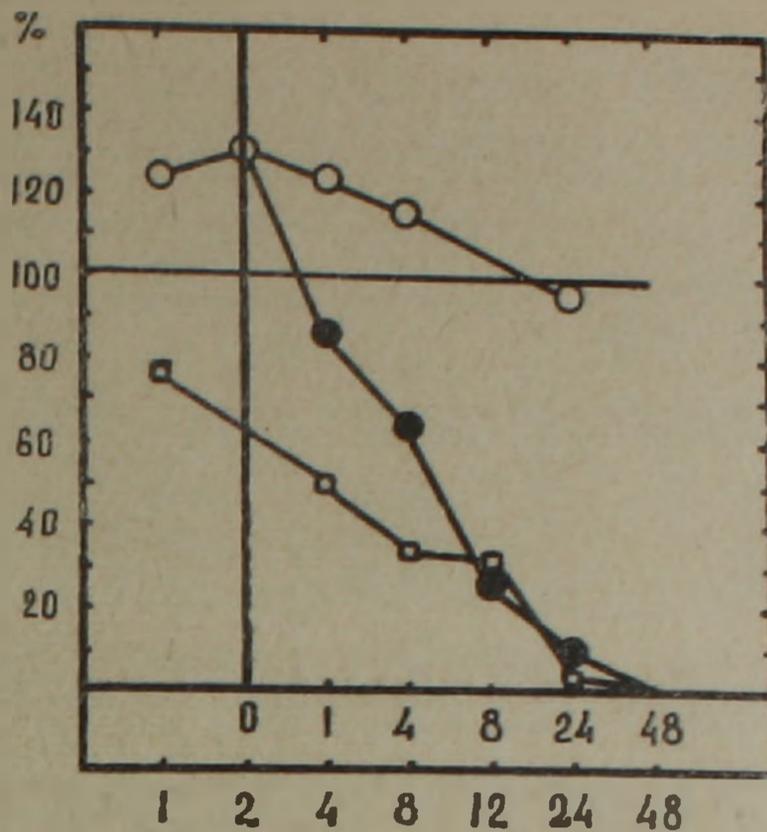


Рис. 2. Последовательное действие кинетина и актиномицина на митотический индекс клеток: по оси ординат — процент делящихся клеток по отношению к контролю; на оси абсцисс: верхняя шкала — время после снятия действия кинетина, нижняя — продолжительность инкубации клеток, «О» — момент снятия действия кинетина, ● — ● — введение актиномицина после снятия действия кинетина; о—о—действие кинетина на индекс делящихся клеток; □—□ — действие актиномицина на индекс делящихся клеток.

Таблица 1

Частота митозов в клетках корешков лука при комбинированном действии кинетина и ИУК ($1 \cdot 10^{-6}$ мг/мл)

Продолжительность воздействия, час.	Вариант опыта						МИ %	
	продолжительность выдержки на воде, час	количество клеток	Средняя на 1000 клеток					
			И	П	М	А		Т
Кинетин + ИУК	1	10000	921,9	29,8	18,3	16,8	11,9	$7,81 \pm 0,85$
			913,6	30,3	29,6	16,4	10,1	$8,64 \pm 0,71$
			933,3	22,4	20,4	12,8	11,1	$6,67 \pm 0,79$
	1	10000	950,4	16,8	15,0	11,1	6,7	$4,96 \pm 0,68$
			945,3	20,3	15,6	11,1	7,7	$5,47 \pm 0,72$
			962,6	14,9	14,9	6,2	1,4	$3,74 \pm 0,60$
Контроль (вода)	10000	959,0	16,1	8,2	8,9	8,8	$4,10 \pm 0,61$	
		957,6	15,8	9,9	9,5	7,1	$4,24 \pm 0,53$	
		965,1	14,7	11,4	8,2	6,4	$4,06 \pm 0,62$	

ней, чем в дозах 25 и 10 мг%. Это торможение находится в прямой зависимости также и от продолжительности экспозиции (табл. 2).

Растворы сахарозы в 3,6 и 9% продолжительностью экспозиции в 4 час. стимулируют рост корешков от +38,4 до 46,1%, через 24 час. эта стимуляция понижается, а через 44 час. становится еще слабее.

Таблица 2

Торможение роста корешков лука при действии различных доз кинетина по отношению к контролю (— торможение)

Концентрация растворов кинетина, мг %	Продолжительность воздействия, час.		
	4	24	44
15	-38,4	-59,1	-66,6
25	-65,3	-83,7	-85,6
50	-73,0	-87,0	-91,7

ние концентрации сахарозы (9%) повышает стимуляцию клеточного деления (табл. 3).

Таблица 3

Стимуляция роста корешков лука при действии различных концентраций сахарозы по отношению к контролю (— стимуляция)

Концентрация растворов сахарозы, %	Продолжительность воздействия, час.		
	4	24	44
3	+38,4	+ 4,3	+ 4,1
6	+26,9	+13,8	+11,2
9	+46,1	+37,6	+20,5

При последовательном действии кинетина и сахарозы процент торможения во взятых дозах несколько снижается (табл. 4).

Таблица 4

Изменение % роста корешков лука, обработанных при последовательном действии кинетина и сахарозы

Концентрация растворов кинетина, мг %	Продолжительность обработки кинетином, час.	Продолжительность обработки сахарозой, час.	Сахароза, %		
			3	6	9
10	4	24	-24,7	-13,2	-11,7
25			-61,8	-55,6	-57,0
50			-80,4	-73,5	-72,6
10	24	24	-58,7	-53,7	-41,4
25			-76,2	-69,8	-66,4
50			-84,5	-79,2	-77,3

В том случае, когда меняется последовательность действия этих двух веществ, т. е. в начале, корешки подвергаются действию сахарозы (9%), а затем соответствующих концентраций кинетина, тормозящее действие последнего значительно снимается, и наступает стимуляция роста (табл. 5).

Таблица 5
Изменение % роста при последовательном действии сахарозы и кинетина на рост корешков лука

Концентрация растворов сахарозы, %	Продолжительность обработки сахарозой, час.	Продолжительность обработки кинетином, час.	Кинетин, мг%		
			10	25	50
9	24	24	+13,9	+8,5	+2,3

Таким образом, мы можем заключить, что сахароза может влиять на рост корней лука, обработанных кинетином до его воздействия и может снять тормозящий эффект максимальных доз при воздействии сахарозы до введения кинетина. Наши исследования совпадают с исследованиями Ли [10], который установил, что добавление глюкозы заметно сокращает торможение роста корней томата и сходны с данными Поль-Эмиль-Пиле [17], исследовавшего изменение роста корней, обработанных сахарозой (при различных концентрациях) с кинетином и без него, с той только разницей, что указанным автором были взяты стимулирующие концентрации, а нами исследованы тормозящие (блокирующие).

Одновременно нами изучалась и митотическая активность клеток при тех же концентрациях и экспозициях. Анализ полученных данных показал, что митотическая активность клеток корешков лука при после-

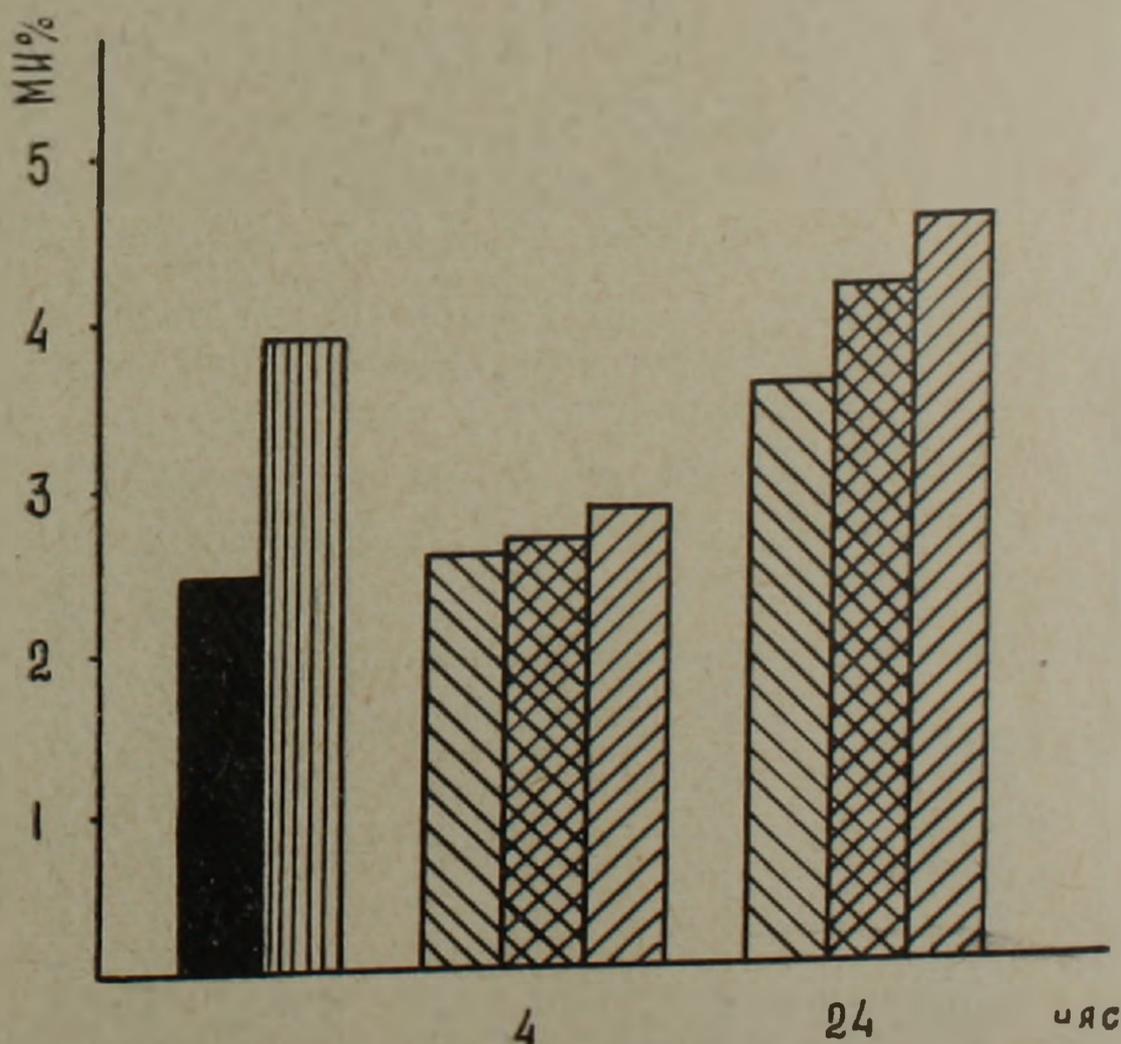


Рис. 3. Частота митозов в клетках корешков лука при последовательном действии кинетина (10 мг/100 мл) и сахарозы в зависимости от концентрации и продолжительности экспозиции: ■ — кинетин, ▤ — контроль, ▨ — 3% сахароза; ▩ — 6% сахароза, ▧ — 9% сахароза.

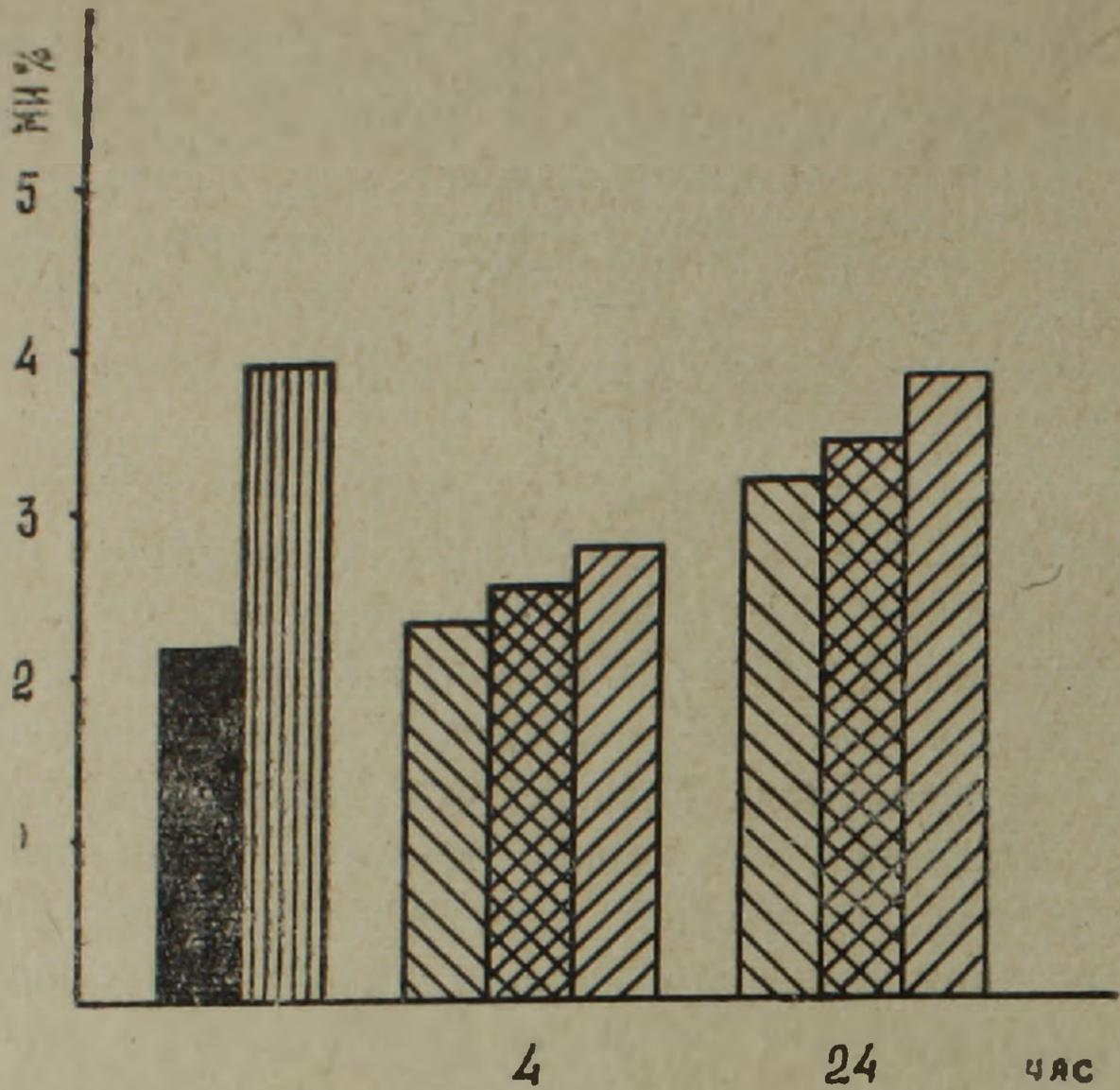


Рис. 4. Частота митозов в клетках корешков лука при последовательном действии кинетина (25 мг/100 мл) и сахарозы в зависимости от концентрации и продолжительности экспозиции. Условные обозначения те же, что на рис. 3.

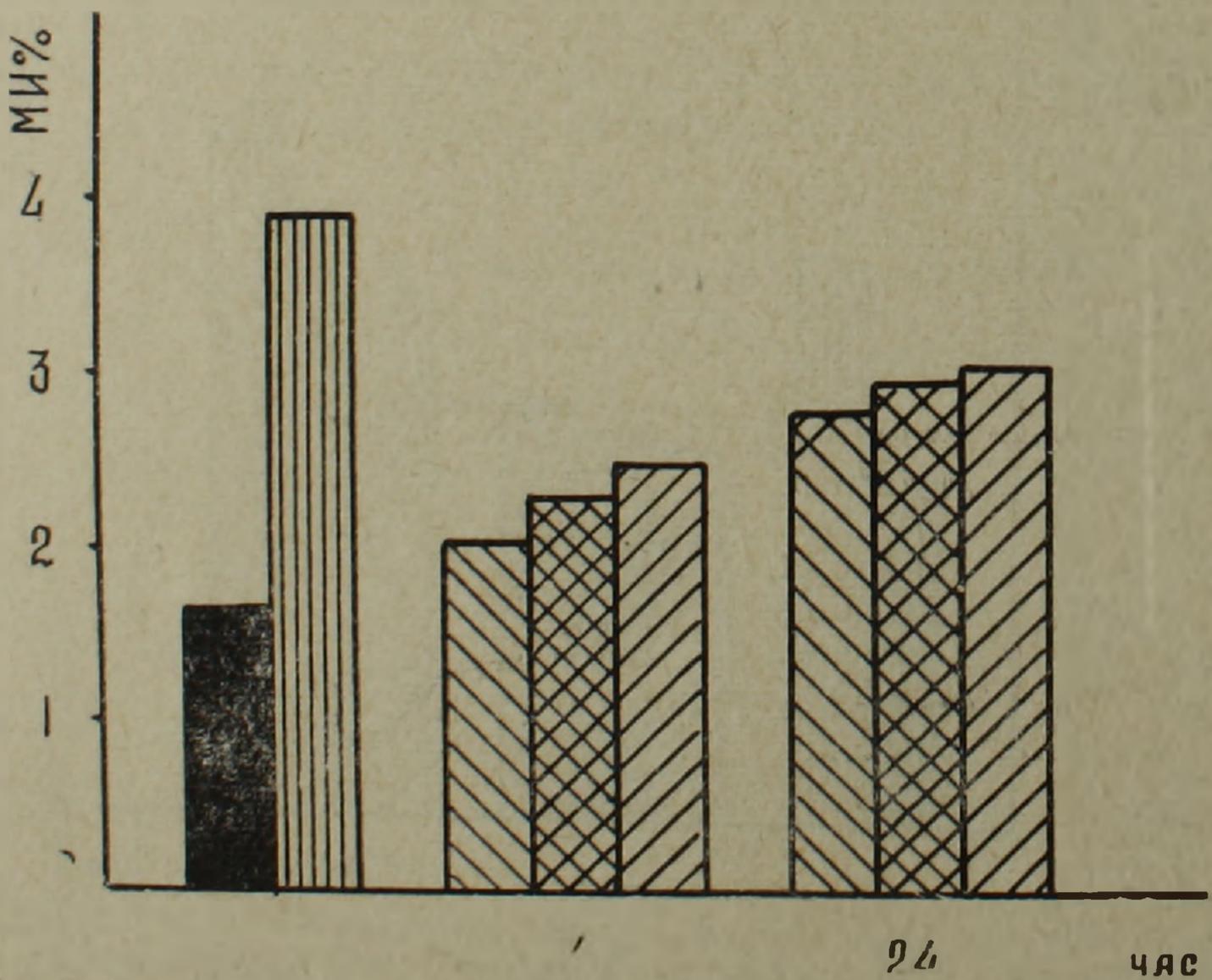


Рис. 5. Частота митозов в клетках корешков лука при последовательном воздействии кинетина (50 мг/100 мл) и сахарозы в зависимости от концентрации и продолжительности воздействия. Условные обозначения те же, что на рис. 3.

довательном действии кинетина в дозе 10 мг% и сахарозы соответствующих концентраций постепенно повышается от $2,6 \pm 0,50\%$ (4 час. экспозиция) до $4,66 \pm 0,66\%$ при 24-х час. экспозиции (рис. 3); при действии кинетина в дозе 25 мг% прирост МИ ниже (от $2,34 \pm 0,48$ до $3,83 \pm 0,60\%$) (рис. 4), а при наиболее высокой концентрации (50 мг%) эффект почти сходен с предыдущей концентрацией (рис. 5). Эти данные полностью согласуются с процентом прироста корешков при тех же концентрациях сахарозы и кинетина.

Ереванский государственный университет,
кафедра генетики и цитологии

Поступило 10.VII 1973 г.

Հ. Գ. ԲԱՏԻՎՅԱՆ, Ե. Գ. ՍԻՄՈՆՅԱՆ, Գ. Ս. ԲԱՎԱՍԱՆՅԱՆ

ԿԻՆԵՏԻՆԻ ՓՈԽԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՐՈՇ ՔԻՄԻԱԿԱՆ ԱԶԴԱԿՆԵՐԻ ՀԵՏ

Ա մ փ ո փ ու մ

Կատարվել է կինետինի, ալտինոմիցինի, հետերոաուքսինի, սախարոզայի և նրանց համատեղ ազդեցության ուսումնասիրություն՝ սոխի արմատածայրերում միթոտիկ ալտիվության և արմատածայրերի աճի վրա: Արմատածայրերի երկարության աճի տոկոսը որոշվել է հետևյալ բանաձևով՝

$$\Delta L = \frac{\Delta L_{TR} - \Delta L_{TE}}{\Delta L_{TE}} \cdot 100,$$

որտեղ ΔL_{TR} — փորձարկվող տարբերակի աճն է:

ΔL_{TE} — ստույգի տարբերակի աճն է:

Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ ալտինոմիցինը հանդիսանում է կինետինի հակազդողը: Ալտինոմիցինի հաջորդական ազդեցությունը ($250 \gamma / 50 \text{ մլ}$) կինետինի ($1 \cdot 10^{-6} \text{ մգ/մլ}$) հետ ցույց է տվել, որ այդ երկու քիմիական ազդակները մեկը մյուսին չեն օգնում խթանելու բջջային բաժանումը: Պարզվել է, որ կինետինի և հետերոաուքսինի համատեղ ազդեցության դեպքում ($1 \cdot 10^{-6} \text{ մգ/մլ}$) տեղի է ունենում սոխի արմատածայրերի միթոտիկ ալտիվության զգալի աճ: Եթե կինետինի առանձին ազդեցության դեպքում միթոտիկ ինդեքսը 1 ժամ մշակման տևողության դեպքում հավասար է $4,92 \pm 0,69\%$, ապա նույն պայմաններում նշված միացությունների համատեղ ազդեցության ժամանակ միթոտիկ ալտիվությունը բարձրանում է և հավասարվում է $7,81 \pm 0,85\%$: Արմատածայրերի աճի և բջիջների բաժանման ալտիվության տոկոսները, երբ արմատածայրերն մշակվում են կինետինի (10 մգ/100 մլ , 25 մգ/100 մլ , 50 մգ/100 մլ) և սախարոզայի 9% խտություններով ցույց են տվել, որ կասեցնող ազդեցությունը, որը ցուցաբերում է կինետինը բարձր խտությունների ժամանակ վերանում է կինետինի և սախարոզայի հաջորդական ազդեցությունից: Նման երևույթներ նկատվում է նաև այն դեպքում, երբ նշված ազդակների հաջորդականությունը փոխվում է:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Батикян Г. Г., Симонян Е. Г. Биологический журнал Армении, 23, 11, 1970.
2. Батикян Г. Г., Симонян Е. Г., Баласанян Д. С. Биологический журнал Армении, 25, 10, 1972.
3. Кожыбски Т., Ковшик-Гиндифор З., Курылович В. В кн. Антибиотики, I, 784—814, 1969.
4. Леопольд А. В кн. Рост и развитие растений, 6, 1968.
5. Bal Arya K. L. Pflanzenphysiol, 63, 3, 261—268, 1970.
5. Chowdhuri Bithika, Chatterjee S. K. Sci. and Cult., 37, 1, 34—35, 1971.
7. Das Nirmal, Patau K., Skoog F. Physiol. plantarum, 9, 4, 640—651, 1956.
8. Deysson Guy. Bull. Soc. bot. France, 106, 7—8, 1959.
9. Elkind M. M. and Kano E. J. Cell. Biol., 42, 2, 366, 1969.
10. Lee A. E. Ann. Journ. Bot., 46, 16, 1959.
11. Mc. Manus Nature, 185, 44, 1960.
12. Mc Manus Jowa. Acad. of science des Moines, 66, 74—80, 1959.
13. Nagl Walter L. Pflanzenphysiol, 63, 4, 316, 1970.
14. Nitsch Jean P., Bui Dang Ha D. C. r. Acad. Sci., D264, 2, 268, 1967.
15. Olceroska M., Maciejewska-Potapczykowa W., Sempinska E. Acta Soc. bot. Polon. 26, 3, 1957.
16. Ogawa J. Exptl. Cell. Res., 15, 2, 1958.
17. Paul Emile Pilet. Rev. Générale de Bot., 805, 1961.
18. Ronssaux Jean C. r. Acad. Sci., D272, 26, 1971.
19. Sister Petra Kevin, Witkus E., Berger G. Nature, 202, 4930, 1964.
20. Thimann K. et Wiskson M. Colloque Int. sur le Photoperiodism. 34, B, 1959.
21. J. Van'T Hof. Exptl. Cell. Res., 51, 1, 167, 1968.
22. Verbeek Rita, Onckelen Henrivan, Gaspar Thomas. Physiol. plantarum, 22, 6, 1192, 1969.
23. Wiskon M. et Thimann K. Physiol. plant., 11, 62, 1958.