

Биология

УДК 576.35

Е. Г. СИМОНЯН, Г. Г. ОГАНЕСЯН

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ДИПИНА НА КЛЕТКИ
СЕМЯН И ПРОРОСТКОВ *GREPIS CAPILLARIS*

Изучение влияния дипина на семена и проростки *Crepis capillaris* показало, что дипин по отношению к указанному объекту обладает высокой мутагенной активностью, вызывая различные аберрации хромосом, а также влияет на митотическую активность клеток, повышая ее при обработке проростков и понижая при обработке дипином семян.

Алкилирующие соединения привлекают особое внимание исследователей химического мутагенеза, ибо они, наряду с ионизирующими излучениями, наиболее широко используются в мутационной селекции растений и микроорганизмов. Существует ряд исследований, посвященных механизму влияния алкилирующих веществ на ДНК [1—3], а также характеру вызываемых алкилирующими соединениями повреждений на уровне дезоксирибонуклеотидов [4].

Мутагенный эффект многофункциональных алкилирующих веществ и в частности дипина изучен преимущественно на животных и на человеке [5—9] и практически не затронут на растительных объектах. В связи с этим мы задались целью изучить эффект влияния дипина на *Crepis capillaris*, а также параллельно проанализировать, как он действует на активность клеточного деления.

Материал и методика. Дипином двух концентраций 740 и 970 μ /мл в течение 2, 6, 12 и 24 часов обрабатывались в одной серии опытов семена, а в другой—проростки *Crepis capillaris*. Мутагенный эффект оценивался путем анализа цитогенетических повреждений, отражающихся на структуре хромосом и регистрируемых в анафазах и метафазах клеточного деления. Митотическая активность определялась в результате подсчета митозов с регистрацией фаз клеточного деления (профаз, метафаз, анафаз, телофаз). Исследования проводились на давленных ацетокарминовых препаратах.

Результаты и обсуждение. Для составления наиболее полного представления о мутагенном эффекте дипина нами был проведен и метафазный и анафазный анализ хромосомных аберраций, результаты которого изложены в табл. 1 и 2. Процент аберрантных клеток во всех опытных вариантах выше, чем в контроле. Статистический анализ полученных данных с применением метода χ^2 показал достоверное отличие всех опытных данных от контрольных ($p < 0,05$; $p < 0,001$).

В анафазах были обнаружены одиночные и парные фрагменты, одиночные и двойные мосты с фрагментами и без них. При метафазном анализе наблюдались делеции, инверсии, симметричные и асимметричные транслокации. Наиболее часто оказывалась поврежденной А-хромосома, что, вероятно, можно объяснить ее крупными размерами.

При анафазном анализе чаще, чем в контроле, встречались отстающие и опережающие хромосомы, клетки, в которых не происходило

Таблица 1

Частота встречаемости aberrантных клеток в семенах и проростках
Speris carillaris, обработанных дипином при анафазном анализе

концентрация	время обработки	общее кол-во клеток	Проростки				Семена			
			всего ана-телофаз	число aberrантных	число кк с отстающими и опереж. хром-ми	кол-во многополюсных анафаз	всего ана-телофаз	число aberrантных	число кк с отстающими и опереж. хром-ми	кол-во много-полюсных анафаз
740 γ/мл	2	1000	48	8	8	9	122	15	9	12
	6	«	59	5	5	2	133	18	6	8
	12	«	48	6	7	7	97	22	11	9
	24	«	55	17	6	5	104	28	6	5
970 γ/мл	8	1000	73	14	5	4	107	18	8	10
	6	«	92	14	6	8	64	11	3	6
	12	«	108	14	6	9	73	13	7	8
	24	«	87	18	7	4	79	16	6	5
К	2	1000	104	3	—	3	234	5	3	3
	6	«	104	3	—	2	139	5	2	1
	12	«	123	3	1	2	202	3	4	2
	24	«	132	2	1	1	162	3	2	3

Таблица 2

Частота встречаемости aberrантных кк в семенах и проростках
Speris carillaris, обработанных дипином при метафазном анализе.
Результаты обработки проростков

концентрация	время обработки	общее кол-во клеток	ядро анафаз		число aberrантн. клеток		процент aberrантных клеток		χ²	P
			О	К	О	К	О	К		
740 γ/мл	2	1000	246	473	18	7	73,17	1,48	16,43	<0,001
	6	«	198	382	20	6	10,10	1,57	22,16	<0,001
	12	«	206	444	31	3	15,04	0,67	58,64	<0,001
	24	«	241	445	26	5	10,87	1,12	33,84	<0,001
970 γ/мл	2	1000	217	473	22	7	10,14	1,48	27,70	<0,001
	6	«	145	382	18	6	12,41	1,57	28,43	<0,001
	12	«	291	444	21	3	7,25	0,67	23,81	<0,001
	24	«	259	445	22	5	8,73	1,12	24,25	<0,001

Результаты обработки семян

740 γ/мл	2	1000	303	314	16	6	5,28	1,91	5,09	<0,05
	6	«	188	435	23	8	12,23	1,86	29,99	<0,001
	12	«	222	321	24	7	10,81	2,18	18,16	<0,001
	24	«	172	635	26	7	15,11	1,10	67,77	<0,001
970 γ/мл	2	«	293	314	26	6	8,87	1,91	14,71	<0,001
	6	«	196	435	23	8	11,74	1,86	28,32	<0,001
	12	«	286	321	40	7	13,98	2,18	29,50	<0,001
	24	«	176	635	18	7	10,22	1,10	88,41	<0,001

формирование либо только одного, либо обоих анафазных полюсов (это явление называется асинхронностью или многополюсностью). Такие данные позволяют предположить, что дипин вносит какие-то нарушения в процесс формирования ахроматинового веретена, либо в процесс прикрепления хромосом к ахроматиновому веретену. Возможно также, что отставание хромосом связано с изменением ультраструктурной организации кинетохоров. По той же самой причине нами наблюдались клетки с микроядрами, которые представляют собой отстающие или опережающие хромосомы. Такие клетки либо несут избыток генетического материала, либо микроядро в точности дополняет недостаток генетического материала в ядре, либо ядро имеет нехватку генетического материала, а микроядро несет не недостающую ядру информацию, а иную.

При обработке дипином проростков и при анафазном и при метафазном анализе почти во всех опытных вариантах встречалось множество клеток с пробелами в хромосомах.

В отличие от истинных разрывов гены не приводят к потере участков хромосом, поэтому их не относят к перестройкам, однако есть основания думать, что они являются повреждениями.

Перед нами стояла еще одна цель—выяснить, как воздействует дипин на интенсивность клеточного деления в меристеме корешков *Crepis capillaris*. В литературе имеются сведения о влиянии алкилирующих веществ на митотическую активность. Выявлено ингибирующее влияние на митотический цикл у ячменя метилэтансульфоната и этиленмина [10], отмечено торможение митотической активности в печени крыс под воздействием дипина [11]. Если при анализе мутагенного эффекта существенной разницы между обработкой дипином семян и проростков не наблюдалось, то здесь были получены своеобразные данные: при обработке семян дипин выступил в роли ингибитора клеточного деления, а при обработке проростков теми же концентрациями и в течение того же времени—в роли стимулятора (табл. 3). Во всех опытных вариантах при обработке дипином семян митотическая активность ниже, чем в контроле, причем она закономерно понижается с увеличением экспозиции. При обработке проростков во всех опытных вариантах митотическая активность выше, чем в контроле. Особо резкий подъем митотической активности наблюдался при 6-часовой обработке дипином 970 $\gamma/мл$.

Таблица 3
Изменение митотической активности и частоты встречаемости фаз митоза при обработке дипином в клетках семян и проростков *Crepis capillaris*

Вариант опыта	Время	Кол-во клеток	Семена МИ, %	Проростки МИ, %
970 $\gamma/мл$	2	1000	9,67±0,93	7,26±0,82
	6	«	5,78±0,73	8,33±0,87
	12	«	5,64±0,72	7,89±0,85
	24	«	5,76±0,73	7,57±0,83
740 $\gamma/мл$	2	1000	7,28±0,82	6,97±0,80
	6	«	6,21±0,76	4,49±0,83
	12	«	6,04±0,75	7,62±0,83
	24	«	5,76±0,73	7,98±0,85
К	2	1000	9,77±0,93	6,45±0,77
	6	«	9,29±0,91	5,67±0,73
	12	«	10,00±0,30	6,70±0,79
	24	«	9,43±0,92	6,78±0,79

Все вышеизложенное мы попытались объяснить так. Само влияющие дипина на скорость клеточного деления вероятно объясняется тем, что алкилированию, помимо ДНК, могут подвергаться и другие молекулы—аминокислоты, белки, РНК. Алкилирование белков влияет на работу ферментов, алкилирование РНК—на белковый синтез. Возможно, таким путем дипин воздействует на биохимические процессы, идущие в период клеточного деления или в период подготовки к нему. Известно, что все клетки сухих семян *Speris capillaris* естественно синхронизированы и находятся в предсинтетическом периоде, а клетки проростков—это асинхронная популяция. Таким образом, клетки семян и клетки проростков находятся на разных этапах своей жизни, поэтому в первом случае дипин подавляет митотическую активность клеток, а во втором—стимулирует ее.

Таким образом, дипин, помимо мутагенного воздействия и нарушения анафазного расхождения хромосом к полюсам у *Speris capillaris*, способен вмешиваться в процессы клеточного деления, ускоряя или замедляя их в зависимости от того, на какой период в жизни клетки приходится его воздействие.

Кафедра генетики и цитологии

Поступила 4.10.1983

ЛИТЕРАТУРА

1. Ауэрбах Ш. Проблемы мутагенеза. М.: Мир, 1978.
2. Соффер В. Н. Молекулярные механизмы мутагенеза. М.: Наука, 1969.
3. Шальнов М. И., Крушинская Н. П. Возможная роль межглеродных разрывов ДНК в механизме хромосомных aberrаций:—В сб.: III Всесоюзный симпозиум «Молекул. мех-мы ген. процессов». Москва: 1976.
4. Цейтлин П. И., Горин А. И., Челяпов Н. В., Пикер Е. Г., Соколов Н. А., Миронов Н. М., Адлер В. В. Макромолекулярные нарушения в генетических молекулах—«мишенях» после воздействия на них алкилирующих мутагенов.—В сб.: Молекулярные механизмы генетических процессов. Мутагенез и репарация. М.: Наука, 1976.
5. Залинян Г. Г., Батикян Г. Г., Микаелян С. Г. Действие модификаторов на цитогенетические повреждения, вызванные дипином в культуре лимфоцитов человека.—Бюл. ж. Армении, 1979, т. 32, № 10.
6. Кириченко О. П., Чеботарев А. Н. Зависимость цитогенетического эффекта различных концентраций дипина и фотрина от времени их контакта с лимфоцитами человека.— Генетика, 1976, т. 12, № 10.
7. Урывасва И. В., Фактор В. М. Образование aberrантных полиплоидных гепатоцитов при действии алкилирующего агента дипина и стимуляции полиферации.—Цитология, 1982, т. 24, № 8.
8. Яковенко К. Н., Ажаев С. А., Бочков Н. П. Цитогенетический эффект производных этиленмина в культуре лимфоцитов человека. Сообщение I. Экспериментальные данные и математическая проверка количественных закономерностей.—Генетика, 1977, т. 10, с. 135.
9. Яковенко К. Н., Назаренко С. А. Комбинированное действие тиофосамида и дипина на хромосомы лимфоцитов человека.—Цитология и генетика, 1977, т. 9, № 14, с. 347—350.
10. Jagtap J. K., Das R. Effect of methyl ethane sulfonate and ethylene imine on mitotic cells of root-tips in barley.—Indian J. Agr. Sci., 1977, № 6.
11. Муговин Г. Р. Исследование торможения митотической активности в печени крыс.—Цитология и генетика, 1975, т. 9, № 4.

Ե. Գ. ՍԻՄՈՆՅԱՆ, Գ. Գ. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ

ԴԻՊԻՆԻ ԲՋՋԱԳԵՆԵՏԻԿԱԿԱՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ CREPIS CAPILLARIS-Ի ՍԵՐՄԵՐԻ ԵՎ ԱՐՄԱՏԱԾԱՅՐԵՐԻ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ուսումնասիրվել է դիպլինի երկու տարբեր խտովությունների ազդեցությունը *Cr. capillaris*-ի աերմերի և ծխերի վրա: Քրոմոսոմային արերացիանների մետա-անաֆազային անալիզի մեթոդով բացահայտվել է դիպլինի արերացիանների քանակը բարձրացնելու ընդունակությունը ստոսզիչի համեմատությամբ: Հետ և առաջ ընկնող քրոմոսոմների և ախնխրոն միտոզների քանակի ավելացումը վկայում է այն մասին, որ քրոմոսոմների առաջացման անաֆազայի փուլում տեղի են ունեցել խախտումներ: Դիպլինի խթանիչ կամ կասեցնող հատկությունը կախված է այն բանից, թե բջջային զարգացման որ փուլում է տեղի ունեցել ազդեցությունը: