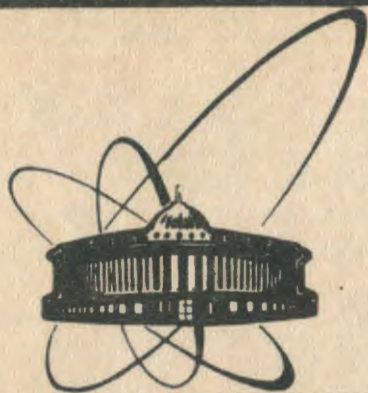


91-40



**СООБЩЕНИЯ
ОБЪЕДИНЕННОГО
ИНСТИТУТА
ЯДЕРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ
ДУБНА**

P19-91-40

В.М.Фомичева*, Р.Д.Говорун, В.И.Данилов

**ВЛИЯНИЕ ЭКРАНИРОВАНИЯ ГЕОМАГНИТНОГО
ПОЛЯ НА НЕКОТОРЫЕ
СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ
У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ.**

**Пролиферативная активность и клеточная
репродукция в корневых меристемах гороха,
чечевицы и льна**

*Институт ботаники им.Н.Г.Холодного АН УССР, Киев

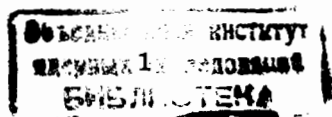
В предыдущем сообщении^{1/1} приведены данные, свидетельствующие о преимущественной реакции торможения прорастания семян и роста проростков гороха, чечевицы и льна в условиях экранирования геомагнитного поля (ГМП). Вместе с тем отмечены некоторые отличия в их индивидуальной чувствительности к этим условиям. Полученные результаты поставили вопрос о состоянии пролиферации меристематических клеток корней этих растений и послужили основанием для проведения серии экспериментов по изучению хронологии их пролиферативной активности в естественных условиях ГМП и при его экранировании по постоянной составляющей (снижение его напряженности) примерно в $10^5 - 10^6$ раз.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для экспериментов использовали семена гороха (Рамонский 77), чечевицы (Днепровская) и льна (Киевский). В качестве специфического предшественника ДНК применяли тимидин-³H (удельная активность 12,3 Ки/ммоль). Использовали рабочие растворы изотопа в концентрации 1-2 мкКи/мл воды.

При изучении пролиферативной активности клеток корневой меристемы проростков гороха, чечевицы и льна сухие семена заливали водным раствором тимидина-³H в концентрации 1 мкКи/мл и помещали в камеры установки "Магнитный экран" (МЭ)^{1-2/}. Через каждые три часа на протяжении 3,5 суток часть проростков фиксировали по Карнуа.

При определении хронологии клеточного цикла использовали водный раствор тимидина-³H в концентрации 2 мкКи/мл. Семена гороха, чечевицы и льна замачивали в этом растворе и сразу же помещали в камеры экспериментальной установки. Через 1 час, не извлекая из камер, тщательно отмывали от тимидина-³H и затем добавляли чистую воду, в которой семена находились на протяжении 3 суток. Каждые два часа часть проростков семян фиксировали по Карнуа. Проводку фиксированного материала и заключение его в парафин проводили по общепринятой методике. Продольные серийные срезы корней толщиной 6 мкм окрашивали гематоксилином с докраской зозином. Использовали жидкую ядерную эмульсию типа "P" в разведении 1:1. Экспонирование автографов



продолжалось 14 дней при 4° С. На радиоавтографах подсчитывали общее количество клеток, число меченых клеток (индекс меток в процентах), а также общее количество митозов и число меченых митозов. Определение индекса метки для каждого срока исследования производили при подсчете 5000 клеток. В качестве меченых клеток учитывали те, над ядрами которых располагались не менее четырех зерен восстановленного серебра фотозмульсии. Поскольку при выбранной нами толщине среза фрагменты одного и того же ядра могут располагаться на двух следующих друг за другом срезах, все количественные определения проводили только на нечетных срезах.

Определение длительности цикла репродукции и его отдельных фаз проводили по кривым изменения индексов меченых митозов. При этом общую длительность цикла определяли по времени между появлением пиков двух, следующих друг за другом, волн меченых митозов. Длительность митоза вычисляли по формуле $t_M = MT/P$, где M — митотический индекс, T — длительность цикла репродукции, P — пролиферативный пул. Продолжительность фазы синтеза ДНК вычисляли как разность между значениями продолжительности синтетического периода, определяемого графически по 50%-ному уровню от максимального значения индекса меченых митозов, и длительностью экспозиции корней в растворе изотопа. Продолжительность фазы G_2 определяли по времени появления первых меченых митозов. Полученные данные обсчитывали методами математической статистики с учетом их трехкратной повторности.

Определение величины пролиферативного пула производили по данным периодической фиксации при непрерывной инкубации проростков на среде с изотопом в течение 60 часов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке приведены результаты определения величины пролиферативного пула посредством периодической фиксации проростков в ходе их непрерывной инкубации в среде с тимидином-³Н в течение 60 час. Видно, что даже при таких сроках инкубации в среде с тимидином-³Н у проростков исследованных видов растений, находящихся в условиях ГМП, метятся не все клетки меристемы. Величина пролиферативного пула при этом колебалась на уровне 90-96%. Оставшиеся немечеными клетки можно отнести либо к группе клеток с очень длительным митотическим циклом, либо к группе покоящихся. Максимальные значения индекса метки в обоих вариантах эксперимента у всех исследованных объектов регистрируются к концу суток наблюдения, и в дальнейшем кривые накопления меченых клеток выходят на плато. Дальнейшее

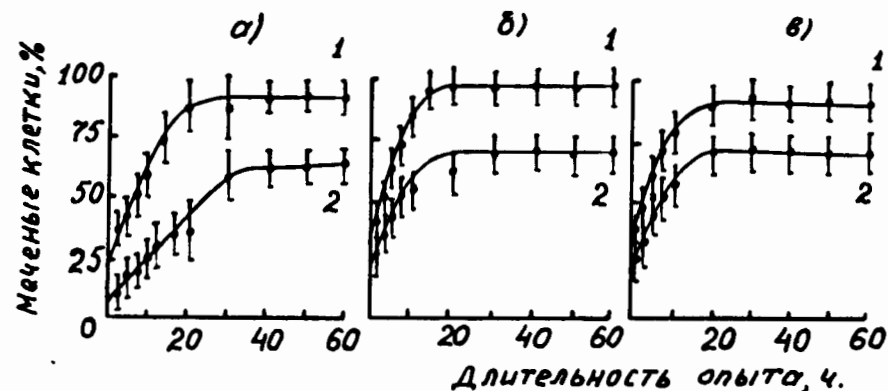


Рис. Изменение количества меченых клеток в условиях насыщения их тимидином-³Н. 1 — ГМП, 2 — МЭ. а) — горох, б) — чечевица, в) — лен.

увеличение срока наблюдения, наряду с теоретически ожидаемой возможностью регистрации медленно делящихся клеток, могло бы привести к тому, что клетки с более коротким митотическим циклом разделились бы дважды, увеличивая таким образом общую величину пролиферативного пула, что в итоге привело бы к завышенным результатам. Исходя из этих соображений, общая продолжительность эксперимента была ограничена 60 часами. В условиях экранирования ГМП в меристеме гороха, чечевицы и льна в этот период их онтогенеза количество меченых клеток оказалось существенно сниженным. Кривые насыщения выходят на плато примерно на уровне 68-75%.

Определение продолжительности клеточного цикла и отдельных его фаз показало, что время репродукции клеток корневой меристемы гороха, чечевицы и льна, находящихся в магнитном экране, существенно отличается от такового в естественных условиях ГМП (см. таблицу).

Обращает на себя внимание факт специфичности ответной реакции клеточных систем в различные периоды генерационного цикла. При однозначной реакции всех исследованных клеток — увеличении общей длительности цикла репродукции — каждый из исследованных видов имеет свою специфику. Так, в меристеме корня гороха изменение продолжительности времени генерации связано в основном с замедлением пресинтетической фазы цикла при относительной стабильности временных параметров всех остальных фаз. В меристематических клетках льна в условиях экранирования геомагнитного поля наряду с увеличением продолжительности пресинтетической фазы отмечается некоторое изменение длительности и постсинтетической фазы — увеличение ее почти на 33%. В клетках чечевицы эта тенденция проявляется наиболее четко — увели-

Таблица

Временные параметры цикла репродукции клеток корневой меристемы

Биологические объекты	Условия опыта	Длительность фаз клеточного цикла, ч				Длительность цикла, Т
		G ₁	S	G ₂	M	
Горох	ГМП	6,3±0,8	7,5±0,4	2,0±0,2	1,5±0,1	17,3±1,5
Горох	МЭ	12,8±1,1	8,0±0,5	2,0±0,1	1,5±0,1	24,3±1,8
Чечевица	ГМП	5,6±0,5	6,5±0,5	1,8±0,2	1,2±0,2	15,1±1,4
Чечевица	МЭ	8,9±0,7	6,8±0,4	3,2±0,2	1,3±0,1	20,2±1,6
Лен	ГМП	4,5±0,6	3,2±0,4	4,5±0,4	0,6±0,1	12,8±1,1
Лен	МЭ	6,8±0,7	3,0±0,3	6,0±0,5	0,8±0,1	16,6±1,4

чение общей продолжительности цикла репродукции обусловлено удлинением как пресинтетической, так и постсинтетической фаз цикла в среднем на 60-70%. Вместе с тем, у каждого исследованного растения не изменяется длительность фаз синтеза ДНК и митоза, что свидетельствует, очевидно, о независимости процессов, происходящих в этот период, в частности, от состояния окружающего геомагнитного поля.

Необходимо также отметить, что при трехкратном повторении экспериментов на каждом виде семян с максимально возможной стандартизацией условий их прорастания наблюдалась при одинаковой направленности изменений в хронологии клеточного цикла некоторая нестабильность величин наблюдаемых изменений в отдельных опытах (в одном из опытов с горохом отличия были не достоверны).

В предыдущем нашем исследовании¹¹ было показано наличие минимального значения поглощенной электромагнитной энергии $W^{эм}$, при превышении которого возможно ускорение роста проростков в условиях ГМП по сравнению с МЭ. Оно было с точностью до константы ~13-14 нТл²/сут. Из анализа геомагнитной обстановки, проведенного аналогично¹¹, следует, что величины поглощенной проростками $W^{эм}$ в период проведения отдельных опытов изменялись от единицы до ~150 нТл²/сут. Исходя из этого, мы полагаем, что некоторая нестабильность величин, наблюдаемых изменений в опытах могла определяться этими колебаниями.

Проведенные исследования могут свидетельствовать о том, что уровень естественного геомагнитного поля может оказывать существенное влияние на результаты магнитобиологических экспериментов. Поэтому

недоучет этого фактора при проведении исследований может служить одной из причин нестабильности получаемых результатов в однотипных магнитобиологических экспериментах.

Анализируя данные, полученные в этой серии опытов, отметим, что, несмотря на детально изученную природу биохимических процессов, происходящих на отдельных этапах клеточного цикла, пока окончательно не выяснено, какие конкретно причины обуславливают переход клетки из одной фазы в другую, какие обстоятельства побуждают ее изменить тип метаболизма при этом и какие процессы корректируют нормальную динамику клеточного цикла. Учитывая тот факт, что при экранировании геомагнитного поля у растений с различной чувствительностью к нему отмечается общая неспецифическая реакция — увеличение продолжительности пресинтетической фазы цикла, можно предположить, что пролиферативная активность растительных клеток является, с одной стороны, чувствительным звеном в сложной цепи структурно-метаболических перестроек, изменяющихся под действием данного фактора; с другой — что у исследуемых растительных организмов на уровне пролиферативной активности отсутствует специфический механизм восприятия изменений магнитного поля Земли. В пользу этого предположения свидетельствует тот факт, что при действии всех описанных в настоящее время в литературе физических и химических факторов (гамма-радиация, низкие и высокие температуры, ингибиторы роста, радиопротекторы и др.) в наибольшей степени изменяется продолжительность именно G₁ и частично G₂ — фаз цикла¹³. Вместе с тем, необходимо отметить, что увеличение продолжительности G₁-фазы цикла, наряду с вероятным изменением динамики процессов, происходящих непосредственно в этой фазе (преимущественно синтезов РНК и белков), может являться следствием определенных нарушений и в предыдущих фазах цикла. Вполне допустимо также предположение, что увеличением длительности данного периода цикла обеспечивается задержка вступления клеток в последующие, более ответственные фазы цикла, в данном случае в фазу синтеза ДНК. В любом случае, каковы бы ни были истинные причины увеличения продолжительности пресинтетической фазы цикла при экранировании геомагнитного поля, ясно, что поиски возможных внутриклеточных ответных реакций все же логично сосредоточить на динамике процессов, доминирующих именно в этой фазе — на синтезе РНК и белков. Исходя из этих предположений, логическим продолжением данных экспериментов явилось изучение динамики содержания суммарного количества РНК и белков в клетках различных участков корней гороха, чечевицы и льна на ранних этапах онтогенеза (3-72 ч) в условиях ГМП и при его экранировании. Результаты этих экспериментов будут представлены в следующем сообщении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Говорун Р.Д. и др. — ОИЯИ, Р19-90-333, Дубна, 1990.
2. Давидков Д.С. и др. — ОИЯИ, Р13-81-586, Дубна, 1981.
3. Гудков И.Н. — Клеточные механизмы пострadiационного восстановления растений. Киев: Наукова думка, 1985.

Рукопись поступила в издательский отдел
23 января 1991 года.