

ЦИТОГЕНЕТИКА

М. В. ФАВОРСКИЙ

НОВЫЕ ВЕЩЕСТВА, ВЫЗЫВАЮЩИЕ ПОЛИПЛОИДИЮ

(Представлено академиком Н. И. Вавиловым 19 VII 1939)

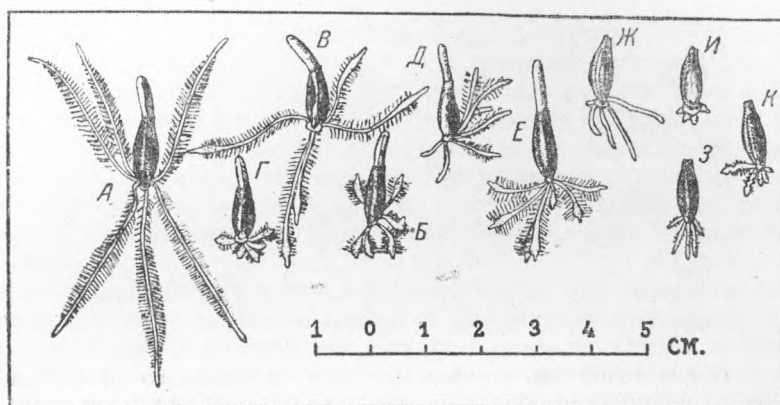
Все авторы^(1—10), изучавшие влияние на клеточное деление веществ, вызывающих полиплоидию, объясняют механизм их действия нарушением ахроматинового веретена. Вещества эти принадлежат к самым различным классам углеродистых соединений. Поэтому я, не стараясь всецело приписать специфичность действия колхицина полициклическому строению его молекулы, первым веществом для своих опытов избрал краситель ауранцию—производное дифениламина—которая, как известно, попадая на кожу, у многих людей вызывает экзему, что и сближает ее с колхицином. Первые же опыты дали положительный результат.

В дальнейшем я пошел по пути применения веществ с молекулой сходного, но все более и более простого строения, стремясь по возможности уяснить роль боковых групп. Для сравнения были поставлены опыты также с колхицином и аценафеном. Сейчас уже испытано влияние на митоз 12 веществ (ауранция, дифениламин, триброманилин, α - и β -нафтиламин, нитробензол, тринитрофенол, трибромфенол, фенол, иодоформ и дихлордиэтилсульфид), 3 из которых {ауранция— $\text{NH}_4\text{N}[\text{C}_6\text{H}_2(\text{NO}_2)_3]_2$, дифениламин— $\text{NH}(\text{C}_6\text{H}_5)_2$ и триброманилин— $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_2\text{Br}_3$ } вызывали массовое появление полиплоидных клеток в корнях опытных растений.

Объектом исследования во всех случаях служил ячмень *Hordeum distichum* var. *nutans* Schübl., сорт «Винер». Воздействие производилось или с самого начала проращивания, или на уже проросшие зерна с корешками длиной до 1 см и продолжалось от 1 до 6 суток. 9 четырехдневных проростков ячменя, подвергавшихся воздействию различных веществ, в сравнении с контрольным растением изображены на фиг. 1. Сравнительно легко растворимые вещества применялись в виде слабых водных растворов (колхицин—0.25 и 0.025%, ауранция—0.01 и 0.001%, анилин—0.1, 0.05 и 0.01%, тринитрофенол—0.1 и 0.01%, фенол—0.01%), почти нерастворимый и нелетучий триброманилин—в виде обильной присыпки, едва растворимые и малолетучие (дифениламин, α - и β -нафтиламин, трибромфенол)—как аценафтен, довольно легко летучие в состоянии паров—непосредственно (иодоформ 0.01 г на 200 см³ воздуха) или из 1%-го раствора в вазелине (нитробензол и дихлордиэтилсульфид 1—2 г раствора на 200 см³ воздуха). Подбирая дозировку, я стремился, не убивая еще растения, вызвать хотя бы заметную задержку роста. Материал для цитологического исследования фиксировался чаще всего хром-формол-уксусной смесью С. Навашина, постоянные препараты окрашивались фуксин-сер-

нистой кислотой по Фёльгену и железным гематоксилином по М. Гейденгайну.

В моих опытах ауранция, дифениламин, триброманилин, нитробензол и иодоформ вызывали распухания корешков в зоне вытягивания, напоминающие утолщения, возникающие под влиянием колхицина и аценафтена (фиг. 1). Если воздействовать 0.001%-м раствором ауранции или триброманилином на проросшие уже семена, то небольшие вздутия становятся отчетливо заметными обычно через сутки. Затем они постепенно разрастаются и через 2—3 суток при 22° достигают максимума. Наиболее опухший участок в 2—3 раза шире нормального корешка. Рост корешков с развитием опухоли тормозится, а затем останавливается. Корневые волоски на утолщении продолжают развиваться и достигают своей нормальной длины. Вздутие постепенно ближе и ближе подходит к чехлику.

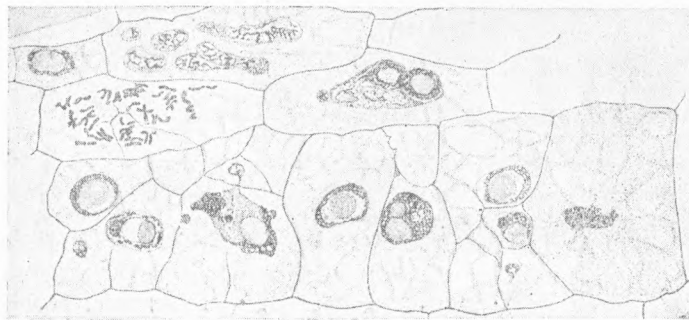


Фиг. 1. Четырехдневные проростки ячменя: А—контрольное растение; В—растение, выращенное в присутствии аценафтена; В—на 0.025%-м растворе колхицина; Г—на 0.001%-м растворе ауранции; Д—в присутствии дифениламина, Е—триброманилина; Ж—на 0.04%-м анилине; З—в присутствии нафтиламина; И—паров нитробензола; К—паров иодоформа

Меристематическая зона, на вторые сутки очень резко отделенная опухолью, понемногу укорачивается, сливается с утолщением и на пятые—шестые сутки обычно исчезает. На опухоли иногда появляются трещины, она немного спадает, а еще через несколько дней корешок окончательно погибает. Если утолщение достигло уже значительных размеров, то даже обмывка растений и перенесение в обычные условия существования не возвращает корешки к нормальной жизни. Опухоль продолжает разрастаться, корни гибнут, вместо них образуются новые—нормального вида. Ростки опытных растений отставали в развитии и больше ничем не отличались от контрольных. Впрочем при воздействии аценафтенном и даже слабым 0.025%-м раствором колхицина распухание колоэптиля небольшое и замечается только после выхода ростка из-под пленок. Такой раствор колхицина, непосредственно действуя на корешки, вызывает опухоли позже, чем 0.001%-я ауранция, аценафтен и триброманилин (фиг. 1). Дифениламин действует подобно ауранции и триброманилину. Рост сильно тормозится, но опухоль начинает разрастаться позже—обычно после 2—3 суток воздействия. Под влиянием паров нитробензола на проросшие растения зона вытягивания корешков немного утолщается уже через 10—12 час. В дальнейшем опухоль разрастается, но не достигает таких размеров, как от воздействия только что описанными веществами. При проращивании зерен в атмосфере с парами нитробензола

опухают колеоридза и колеоптиль еще под пленками. Проросток походит на колхицинированный 0.25%-м раствором. При прекращении даже продолжительного воздействия, если корни еще не отмерли, опухоли немного спадают, рост возобновляется и все растение приобретает нормальный вид. Иодоформ вызывал задержку роста и слабое припухание, а затем растрескивание всего корешка за исключением меристематической части. Остальные испытанные автором вещества только задерживали рост.

Изменения в клетках и тканях корешков, возникшие под влиянием ауранции, дифениламина и триброманилина, настолько идентичны между собой и сходны с полученными в результате воздействия колхицином и аценафтенем, что по микроскопическим препаратам невозможно определить, которое из названных веществ их вызвало. Во время митоза хромосомы сильно укорачиваются. При переходе поздней профазы в метафазу



Фиг. 2. Участок ткани из кончика корешка трехдневного проростка ячменя, выращенного в присутствии триброманилина: наблюдаются многохромосомные и многоядерные клетки, а также цитомеры М. Навашина

лишь исчезают ядерная оболочка и ядрышки. Хромосомы не располагаются в экваториальной плоскости. Ахроматиновое веретено не формируется. Впрочем при применявшейся автором методике веретено плохо видно и в контрольных препаратах. Затем половинки расщепившихся хромосом отделяются друг от друга, но не расходятся к противоположным полюсам. Анафаза отличается от метафазы только по более тонким парно расположенным хромосомам в удвоенном числе. Формируется одно или несколько — чаще неравных размеров — дочерних ядер.

Клеточные перегородки или не образуются вовсе, или беспорядочно перегораживают клетку в разных направлениях. Образуются цитомеры М. Навашина (фиг. 2). Образование таких цитомер легко понять, если вспомнить, что, по данным Шахлевича ⁽¹¹⁾ для хлоралгидрата, ахроматиновый аппарат не исчезает, а лишь дезорганизуется. Такие же образования после воздействия колхицином наблюдал также Levan ⁽¹²⁾. Правильные фигуры деления не встречались. После 2—3 суток воздействия большинство делящихся клеток наполнены беспорядочно разбросанными хромосомами в огромном количестве. Диплоидные и тетраплоидные их наборы встречаются редко. Покоящиеся клетки меристематической зоны часто содержат большие неправильной формы ядра или их несколько, обычно разных размеров. Наблюдались также небольшие хроматиновые сгустки. Многохромосомные клетки увеличены в размерах. В опухшей части корешка клетки сильно увеличены, но содержат по 1 ядру нормальных размеров. После 4—5 суток воздействия митозы прекращаются. α -нафтиламин также дезорганизовал ахроматиновое веретено и вызвал сильное сокращение хромосом, но эти явления наблюдались на границе жизни клетки,

так что удавалось лишь проследить митоз до анафазы. Большинство клеток корешка было отмершее. Остальные испытанные автором новые вещества не нарушали ахроматиновый аппарат и не приводили к полиплоидии.

Ни одно из испытанных веществ не вызывало появления полиплоидных клеток в конусах нарастания стебля и в листьях даже после 5 суток воздействия. Под влиянием же колхицина во всех частях растения происходили такие же нарушения митоза, как и в корешках. 10 растений ячменя после проращивания на триброманилине и 5 на 0.01%-м растворе ауранции в течение 5 суток, высаженные затем в цветочных горшках на поле, не дали тетраплоидных побегов. Из 30 первых новых корешков, взятых от этих растений для цитологического исследования только 1 от растения, подвергнувшегося воздействию ауранции, оказался состоящим главным образом из тетраплоидных клеток.

Изменения в корешках, вызываемые приведенными активными веществами, тождественны с описанными уже многими авторами для колхицина и аценафтена. Опухание корней не всегда сопровождается нарушениями ахроматинового аппарата и возникновением полиплоидных клеток. Колхицин выгодно отличается от остальных веществ своей способностью проникать в самые защищенные части растения.

Вероятно, однако, может быть разработана методика для получения полиплоидных растений и от воздействия испытанными нами активными веществами.

Группа amino сближает предлагаемые новые биологически активные вещества с колхицином. Ее же содержат анилиновые красители, на сильное кариокластическое действие которых указали Dustin с сотрудниками⁽¹³⁾ (трипанблау, изаминблау, трипафлавин) и Politzer⁽¹⁴⁾ (нейтральрот и аурамин). Описания влияния этих веществ на митоз у животных напоминает действие веществ, вызывающих полиплоидию у растений. Замена группы amino в триброманилине на гидроксил (трибромфенол) полностью уничтожает активность вещества. Не вызывает появления полиплоидных клеток также тринитрофенол. Фенолы неактивны. На это указывает также Шмук⁽¹⁵⁾. Нитрогруппы и галогены (бром), введенные в ядро циклического амина, повышают его активность. В опытах Шмука⁽⁹⁾ бром повышал активность углеводов. Как показывают опыты других авторов, полиплоидия может быть вызвана также веществами, не имеющими аминогруппы (аценафтен) и даже циклического строения молекулы (хлоралгидрат, эфир). Организм способен одинаково реагировать на многие различные раздражения.

Цитологическая лаборатория
Всесоюзного института растениеводства
Ленинград—г. Пушкин

Поступило
21 VII 1939

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. N e m e s, *Jahrb., f. wiss. Bot.*, 39 (1904). ² М. В. Ш а х л е в и ч, *Арх. анат., гист. и эмбриол.*, XIV, 3 (1935). ³ А. Р. D u s t i n, L. H a v a s a. F. L i t s, *Compt. Rend. Ass. Anst.*, 21—25 (1937). ⁴ В. R. N e b e l, *Biol. Bulletin*, LXXIII, 2 (1937). ⁵ А. B l a k e s l e e a. A. A v e r y, *Heredity*, 28, 12 (1937). ⁶ А. Ш м у к, *ДАН*, XIX, 3 (1938). ⁷ Д. К о с т о в, *ДАН*, XIX, 3 (1938). ⁸ М. Н а в а ш и н, *ДАН*, XIX, 3 (1938). ⁹ А. Ш м у к и Д. К о с т о в, *ДАН*, XXIII, 3 (1939). ¹⁰ G r e e n l e a f, *Heredity*, 29, 12 (1938). ¹¹ М. В. Ш а х л е в и ч, *Арх. анат. гистол. и эмбриол.*, XIX, 1—2 (1938). ¹² А. L e v a n, *Hereditas*, XXIV (1938). ¹³ K. C h o d k o w s k i, *Protoplasma*, XXVIII (1937). ¹⁴ G. P o l i t z e r, *Z. Zellen und Gewebelehre*, I (1934). ¹⁵ А. Ш м у к, *Природа*, 3 (1939).