

В. Н. ЖОЛКЕВИЧ, Р. Г. БУТЕНКО, Г. С. БЫЧКОВА, Б. И. ПЕЙСАХЗОН

О МЕСТЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ РАЗРЯДКИ В МИТОТИЧЕСКОМ ЦИКЛЕ PANAX GINSENG С. А. МЕУ

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 17 IV 1974)

При изучении соотношения между потреблением кислорода, теплоотдачей и митотической активностью в культуре изолированной ткани *Panax ginseng* С. А. Меу оказалось (¹), что переход клеток к делению сопровождался значительным возрастанием теплоотдачи Q . Последняя возрастала настолько, что она могла превысить общее количество освобожденной при дыхании энергии E , вследствие чего энергетический баланс, составляемый из величин E и Q , становился отрицательным ($Q > E$). Сопоставление кинетических кривых теплоотдачи, потребления кислорода и митотической активности делало вероятным, что подобный отрицательный энергетический баланс предшествует метафазе. Однако применявшаяся в работе (¹) схема опытов не позволяла точнее определить место отрицательного баланса в митотическом цикле. Выяснению этого вопроса и посвящено настоящее исследование.

Опытным объектом служила частично синхронизированная суспензионная культура женьшеня настоящего (*Panax ginseng* С. А. Меу). Ткань корневого происхождения выращивали на среде Мурасиге и Скуга, модифицированной Писецкой (²). Пересадку делали каждые три недели. Для получения суспензии 10-дневную ткань с агаризированной среды переносили в жидкую питательную среду (²) и в дальнейшем выращивали при $26 \pm 1^\circ$ на роллере со скоростью вращения 3 об/мин в плоскодонных круглых колбах емкостью 1 л (в каждую колбу помещали по 100 мл среды и 5 г ткани). После предварительной подготовки, заключавшейся в нескольких повторных переносах на свежую среду с целью адаптации к жидкой среде и сокращения латентной фазы, ткань обрабатывали 6 мМ 5-аминоурацилом (5-АУ) в течение 24 час. 5-АУ, по имеющимся данным (^{3, 4}), блокирует синтез ДНК и аккумулирует клетки в S-периоде митотического цикла. По окончании обработки 5-АУ ткань трижды отмывали и переносили для дальнейшего культивирования в свежую питательную среду. Тем самым создавались условия для синхронного прохождения клетками митотического цикла; продолжительность отдельных фаз последнего оценивали с помощью H^3 -тимидина. В дальнейшем через определенные промежутки времени (1–3 час.) на параллельных пробах при 27° измеряли теплоотдачу, дыхательный газообмен и митотический индекс. Поглощение кислорода и выделение углекислоты учитывали манометрически (по Варбургу). По данным дыхательного газообмена рассчитывали общее количество освобожденной при окислении энергии E таким же образом, как это делалось в предыдущих работах (^{1, 5}). Теплоотдачу Q измеряли в микрокалориметре Кальве производства французской фирмы «Setagam». Для характеристики внутриклеточного энергетического баланса величину Q выражали в процентах от E . Митотический индекс определяли после фиксации материала смесью спирта и уксусной кислоты (3 : 1) на давленных препаратах, окрашенных ацеторсеином. В каждом образце просчитывали не менее 5000 клеток. Учитывали все фазы митоза.

Рис. 1. Кинетика изменений общего митотического и профазного индексов, количества энергии, освобожденной при окислении, теплоотдачи и энергетического баланса у частично синхронизированной культуры. *a* — кривые митотической активности; *1* — общий митотический индекс, *2* — профазный индекс; *б* — количество энергии *E*, освобожденной при окислении; *в* — теплоотдача *Q*; *г* — энергетический баланс

После снятия действия 5-АУ отмечалось два пика делений — через 20 и 32 час. Наличие двух близких по времени максимумов митотической активности объясняется, по-видимому, существованием двух субпопуляций клеток, различающихся по продолжительности G_2 -периода.

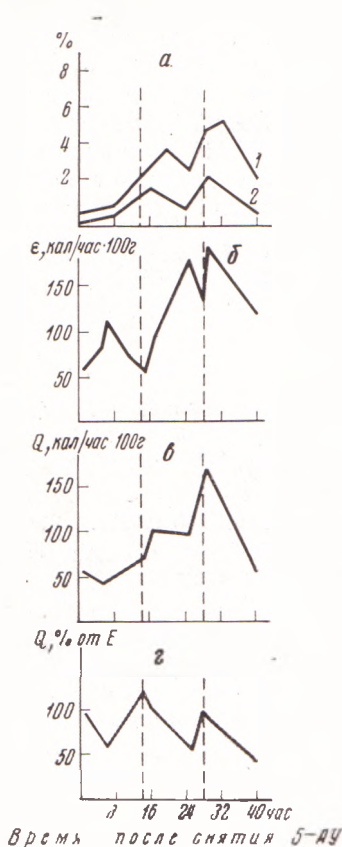
Данные по митотическому индексу, дыханию, теплоотдаче и энергетическому балансу представлены на рис. 1 (усредненные данные 23 опытов). При сопоставлении хода кривых нетрудно заметить, что деление клеток связано с явным ухудшением энергетического баланса (доля Q от E возрастает), а в период, предшествующий достижению максимума митозов, энергетический баланс может стать даже отрицательным вследствие значительного увеличения теплопродукции и одновременного уменьшения потребления кислорода. На протяжении всех остальных периодов митотического цикла баланс был неизменно положительным.

Увеличение теплопродукции, снижение интенсивности дыхания и, как следствие, ухудшение энергетического баланса отмечались перед обоими пиками митозов. Однако перед вторым пиком баланс ухудшался в меньшей степени, чем перед первым, хотя общий митотический и профазный индексы возрастали более значительно. Это связано, вероятно, с тем, что в период вступления в митоз клеток медленно делящейся субпопуляции клетки быстро делящейся субпопуляции, закончив митоз, уже переходят в интерфазу (G_1), характеризующуюся более интенсивным дыханием и положительным энергетическим балансом. Поэтому изменения, обусловленные митозами клеток медленно делящейся субпопуляции, частично маскируются, сглаживаются.

Из хода кинетических кривых на рис. 1 видно, что максимальное ухудшение энергетического баланса несколько опережает момент достижения максимального значения профазного индекса, совпадая по времени с самой ранней профазой.

Таким образом, приведенные данные, наряду с ранее опубликованными (^{1, 6, 7}), свидетельствуют о предшествующем митозу внутриклеточном перераспределении энергии, за счет которого уровень энергетического обмена значительно снижается, что можно рассматривать как энергетическую разрядку. Полученные данные позволили уточнить место разрядки в митотическом цикле женьшеня. Разрядка наблюдается в течение короткого — по сравнению с общей продолжительностью митотического цикла — промежутка времени. Она совпадает с самой ранней профазой.

В настоящее время затруднительно дать определенный ответ о физиологическом значении премитотической энергетической разрядки и об источниках дополнительной теплопродукции при этой разрядке. Разбор возможной роли различных источников теплообразования дал основание



полагать, что ответственными за премитотическую вспышку теплопродукции в первую очередь являются процессы распада надмолекулярных структур, в энергетическом отношении находящихся в неравновесном состоянии (⁶, ⁷). Тот факт, что разрядка имеет место во время ранней профазы, когда в клетке форсируются структурные перестройки, говорит в пользу высказанного предположения.

Более детальное изучение причин премитотической вспышки теплопродукции будет предметом дальнейших исследований.

Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева
Академии наук СССР
Москва

Поступило
9 IV 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. Н. Жолкевич, Р. Г. Бугенко, Н. Ф. Писецкая, Физиол. раст., т. 18, 767 (1971).
² Н. Ф. Писецкая, Растит. ресурсы, 6, 4, 516 (1970). ³ W. Prensly, H. H. Smith, Exр. Cell Res., v. 34, 525 (1964). ⁴ E. Mattingly, Exр. Cell Res., v. 42, 274 (1966).
⁵ В. Н. Жолкевич, Энергетика дыхания высших растений в условиях водного дефицита, «Наука», 1968. ⁶ В. Н. Жолкевич, Т. А. Борисова, Б. И. Пейсахзон, Физиол. раст., т. 19, 1245 (1972). ⁷ В. Н. Жолкевич, А. А. Гурвич и др. ДАН, т. 209, № 4, 961 (1973). ⁸ А. А. Гурвич, Проблема митогенетического излучения как аспект молекулярной биологии, Л., 1968.