

УДК 575.224.4

О.В. Панкова, викладач

Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва

МІТОТИЧНИЙ ЦИКЛ КОРЕНЕВОЇ МЕРИСТЕМИ ПШЕНИЦЬ ЯРИХ ЗАЛЕЖНО ВІД ДІЇ ГАММА-ОПРОМІНЕННЯ

Постановка проблеми. Однією з основних зернових культур на земній кулі є пшениця, яка разом з тим потребує поліпшення. Серед сучасних методів, за допомогою яких можна розв'язати це питання, є метод експериментального мутагенезу, котрий надає можливість створення нових сортів і цінного вихідного матеріалу для селекції.

Як відомо, спонтанні мутації обумовлені змінами у молекулярній структурі генів, числі або структурі хромосом. Вони є єдиним джерелом появи нових ознак і властивостей живих організмів. Всі мутагенні фактори, які використовуються для створення нових форм, поділяються на фізичні, хімічні та біологічні. До фізичних мутагенів належать радіація, механічний вплив, температурний фактор, ультразвук. Радіація представлена електромагнітними та корпускулярними випромінюваннями. У практичній селекції найбільш ефективно використовується іонізуюче випромінювання, зокрема гамма-промені [4–6].

Одним з основних завдань мутаційної селекції рослин є вивчення генетичної активності мутагенних факторів з метою виявлення можливості максимального отримання спадкових змін форм. Класичними і загально-визначеними об'єктами дослідження цитогенетичних ефектів радіаційного опромінення є популяції клітин кореневої меристеми проростків насіння. Вивчення рівня мітотичної активності, частоти і спектра утворення клітин з хромосомними абераціями у перших пострадіаційних мітотичних циклах клітин кореневої меристеми дозволяє отримати достовірну оцінку рівня первинних ушкоджень генетичних систем та активності репараційних процесів.

Одним з переконливих доказів ушкоджувальної дії мутагенів і основних показників генетичної мінливості організмів на клітинному рівні є хромосомні аберації. Поява хромосомних аберацій залежить від природи і дози мутагену, чутливості клітин різних генотипів до мутагенної дії [1].

Метою нашої роботи було вивчення впливу різних доз опромінення гамма-променями на мітотичну активність і частоту мітотичних порушень клітин кореневої меристеми різних видів пшениць ярих.

Матеріали та методи. Як вихідний матеріал були взяті представники виду *Triticum aestivum* L. ($2n=42$), пшениця м'яка яра Героїня і *Triticum durum* Desf. – пшениця тверда Чадо ($2n=28$). Сухе насіння різних видів пшениці перед посівом обробляли гамма-променями, джерелом яких був ^{60}Co , на установці “Theratron Elit-80” (інтенсивність випромінювача 7442 Ku). Опромінення використовували у дозах: 100 Гр, 150 Гр, 200 Гр, 250 Гр. Контролем було насіння ярої пшениці без обробки.

Оброблене гамма-променями насіння пророщували на зволоженому фільтрувальному папері у чашках Петрі у термостаті при температурі 23–25 °С протягом трьох діб. Фіксацію корінців здійснювали на третій день в укусуному алкоголі (фіксатор Кларка). Частоту мітотичних порушень і мітотичну активність (МА) вивчали на давлених препаратах, які фарбували реактивом Шифа [7]. Мітотичну активність установлювали, аналізуючи 1000 клітин кореневої меристеми, з метою оцінки порушень мітозу – 200 анафаз для визначення частоти клітин з абераціями хромосом. Повторність у досліді 4-разова.

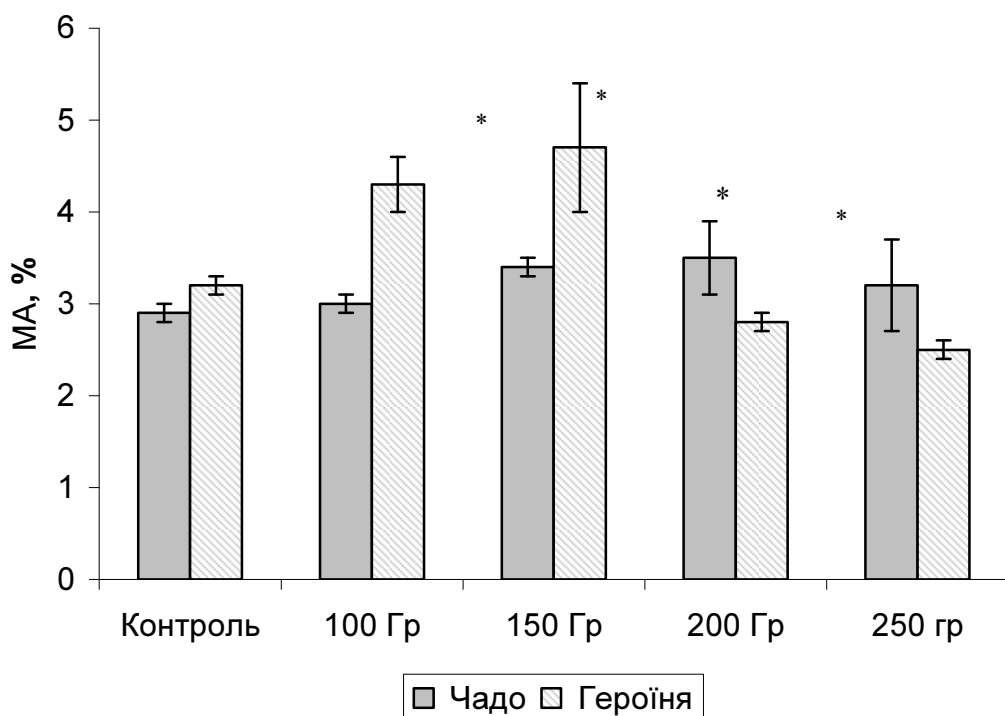
Результати досліджень. Загальновідомо, що опромінення усіма видами іонізуючої радіації викликає зміни в характері та рівні активності проліферативних процесів. Опромінення в малих дозах значно підвищує рівень мітотичної активності та скорочує тривалість мітотичного циклу. У той же час опромінення в дозах порядку декількох сотень Гр призводить до пригнічення мітотичної активності, а у деяких випадках до повного пригнічення поділу клітин.

Результати, отримані нами, показали, що дози гамма-променів 100 Гр, 150 Гр, 200 Гр для пшениці твердої Чадо та 100 Гр, 150 Гр для пшениці м'якої Героїня підвищують мітотичну активність клітин кореневої меристеми (рис. 1). Підвищення дози знижує мітотичну активність. Аналогічні результати отримані й іншими авторами [2, 6].

Як відомо, високі дози зниження мітотичного індексу викликають пригнічення синтезу ДНК, пов'язане з порушенням роботи матричних систем клітин. При летальних і сублетальних дозах велике значення для ураження клітин має пряма або опосередкована дія радіації на компоненти хроматину. При дії високих доз уражується структура та функції геному, що проявляється в загальному збільшенні частки клітин з хромосомними абераціями, пригніченні, затримці та навіть повному подавленні мітозів.

Аналізуючи спектр порушень мітозу, треба зазначити, що мітотична активність у меристемах корінців пшениці ярої залежить від дози гамма-опромінення, сорту і виду. Специфіка генотипу проявляється в різній частоті хромосомних аберацій при однакових дозах мутагену.

Так, у сорту пшениці м'якої Героїня мітотична активність і частота мітотичних порушень вища, ніж у сорту пшениці твердої Чадо. Таким чином, пшениця м'яка Героїня є більш чутливою до дії гама-променів. Також треба зазначити, що у сорту Героїня спостерігається більш різкий ріст МА. Так, у варіанті досліду 100 Гр мітотична активність збільшується на 1,1 %, а у варіанті 150 Гр на 1,6 % в порівнянні з контролем (рисунок). І також стрімко падає у варіанті 200, 250 Гр на 0,4 і 0,7 % відповідно; ці показники нижчі, ніж в інших варіантах досліду. Найвищий показник МА спостерігається у варіанті досліду 150 Гр (4,8 %), найнижчий – у варіанті 250 Гр (2,5 %).



Мітотична активність клітин кореневої меристемі пшениці м'якої ярої Героїня та пшениці твердої Чадо залежно від дії гамма-променів

* Є достовірною різниця на 5%-ному рівні.

Підвищення мітотичної активності у клітинах кореневої меристемі проростаючого насіння пшениці ярої пояснюється дією малих доз радіації, яка активує і регулює події у мітотичному циклі та перебіг самого мітозу, тобто призводить до прискорення ділення клітин. Зниження ж мітотичного індексу при збільшенні дози гамма-опромінення зумовлене сильнішим ураженням самих систем відновлення клітин. Імовірно, у міру того, як дія радіації посилюється, мембранні системи клітинних органел і ендоплазматичного ретикулуму втрачають свої функціональні якості (гнучкість, еластичність).

У сорту Чадо показники МА різних варіантів не мають достовірної різ-

ниці. З підвищенням дози гамма-променів мітотична активність підвищується, доза 250 Гр призводить до падіння МА. Найбільш низький показник МА спостерігається у контролі (2,9 %), найвищий – у варіанті 200 Гр. А менш значне змінювання МА під впливом гамма-променів може бути наслідком меншої пластичності сорту в порівнянні з пшеницею м'якою Героїня.

Це свідчить про те, що мітотична активність у меристемах корінців залежить від генотипових особливостей рослин пшениці ярої та дії гамма-опромінення. Очевидно, що існує різна чутливість клітин у різних фазах мітотичного циклу, яка є універсальною, генетично детермінованою властивістю, що забезпечує високу надійність у структурній і функціональній перебудові рослинної клітини при дії гамма-променів. Диференціацію сортів за радіорезистентністю їх насіння пов'язують також з різницею в тонкій структурі організації геному і різницею активності пострадіаційного відновлювання. Опромінення може бути пусковим моментом для ланцюга подій у пострадіаційний період [6].

У роботі було вивчено залежність кількості та спектра аберацій хромосом від гамма-опромінення (таблиця). У варіанті 200 Гр спостерігали істотне збільшення їх частоти в меристемах корінців пшениці ярої Чадо та у варіантах 100 і 200 Гр – у сорту Героїня.

Частота клітин з мітотичними порушеннями в кореневій меристемі пшениці після гамма-опромінення

Варіант	Досліджено клітин, шт.	Частота порушень						Мікроядра					
		фрагменти		мости		сумарна		одне		2 і більше			
		клітин, шт.	%	клітин, шт.	%	клітин, шт.	%	клітин, шт.	%	клітин, шт.	%		
Сорт Чадо													
Контроль	4000	-	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-	
100 Гр	4000	13	0,33	6	0,15	19*	0,48	101	2,53	25	0,63		
150 Гр	4000	14	0,35	9	0,23	23	0,58	100	2,5	30	0,75		
200 Гр	4000	33	0,83	40	1,0	76*	1,9	480*	12	186*	4,65		
250 Гр	4000	25	0,63	32	0,8	57*	1,43	240	6	56	1,4		
Сорт Героїня													
Контроль	4000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
100 Гр	4000	29	0,73	72	1,8	101	2,53	953*	23,83	694*	17,35		
150 Гр	4000	31	0,78	28	0,7	59*	1,48	691*	17,28	263	6,58		
200 Гр	4000	32	0,8	37	0,93	69	1,73	453	11,33	186*	4,65		
250 Гр	4000	13	0,33	11	0,28	24*	0,6	272*	6,8	74*	1,85		

* Є достовірною різниця на 5%-ному рівні.

Як і у випадку мітотичної активності, при розгляданні частоти мітотичних порушень спостерігається сортова залежність. Опромінення насіння

пшениці твердої Чадо призводить до зростання частоти мітотичних порушень при підвищенні дози опромінення. У випадку пшениці м'якої Героїня спостерігається падіння даного показника у варіантах досліду 150, 200 та 250 Гр в порівнянні з варіантом досліду 100 Гр. Це може бути обумовлено зростанням елімінації клітин з пошкодженнями генетичних структур клітинного ядра [3, 8].

Звертає на себе увагу велика кількість мікроядер. Спостерігається поява не тільки одного мікроядра на клітину, а і двох та більше. Причому простежується зв'язок між кількістю хромосомних порушень і кількістю мікроядер. Так, найбільша кількість мікроядер у клітинах корінців пшениці ярої Чадо спостерігається при опроміненні гамма-променями дозою 200 Гр, а пшениці ярої Героїня – 100 Гр. Це може вказувати на значний вплив використаних доз на генетичний апарат клітин меристеми корінців.

Висновки. Встановлено, що дія гамма-променів змінює процес мітозу, про що свідчать порушення формування мітотичного апарату, а саме: підвищення мітотичних індексів, а також збільшення частоти порушень мітозу на рівні веретена поділу та їх сумарної частоти. Також була відмічена видова залежність прояву впливу гамма-променів на генетичний апарат пшениці ярої. Було встановлено, що найбільш ефективним індуктором мутацій є доза гамма-променів 100–150 Гр. Використання інших доз опромінення знижує МА.

Бібліографічний список: 1. Бутенко Р.О. Вплив різних доз і концентрацій мутагенів на частоту мутацій озимої пшениці / Р.О. Бутенко // [Физиология](#) и биохимия культ. растений. – 2007. – Т. 39. – № 4. – С. 326–333. 2. Дем'яненко В.В. Вивчення цитогенетичної активності мутагенних чинників на прикладі озимої пшениці / В.В. Дем'яненко, В.Ф. Логвиненко, Т.Б. Семерунь // [Физиология](#) и биохимия культ. растений. – 2005. – Т. 37. – № 4. – С. 313–319. 3. Егоров Е.В. Аналогия биологического действия сверхмалых химических и физических доз / Е.В. Егоров // *Радіаційна біологія. Радіоекологія.* – 2003. – Т. 43. – № 3. – С. 261–264. 4. Ларченко К.А. Генетическая активность химических и физических мутагенов в сверхнизких дозах / К.А. Ларченко, В.В. Моргун // *Экологическая генетика: мат-лы VIII съезда генетиков и селекционеров республики Беларусь.* – Минск, 2002. – С. 369–377. 5. Ларченко К.А. Ефективність низьких доз мутагенів в індукції селекційно цінних мутацій кукурудзи / К.А. Ларченко, В.В. Моргун, В.О. Хроменко // *Физиология и биохимия культ. растений.* – 2002. – Т. 34. – № 5. – С. 419–423. 6. Моргун В.В. Мутационная селекция пшеницы / В.В. Моргун, В.Ф. Логвиненко. – К.: Наук. думка, 1995. – 626 с. 7. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений / З.П. Паушева. – М.: Агропромиздат, 1988. – 270 с. 8. Yamaguchi H. Effect of carbonion beams irradiation on mutation induction in rice / H. Yamaguchi, T. Morishita, K. Degi // *Plant Mutation Reports.* – 2006. – Vol. 1. – № 1. – P. 25–27.