

***ВПЛИВ ПЕРЕДПОСІВНОЇ ОБРОБКИ НАСІННЯ АМАРАНТУ
ГАММА-ПРОМЕНЯМИ НА ЧАСТОТУ ВИНИКНЕННЯ МІТОТИЧНИХ
ПОРУШЕНЬ В КОРЕНЕВІЙ МЕРИСТЕМІ РОСЛИН***

Гудим О. В., Гопцій Т. І.

Харківський національний аграрний університет ім. В. В. Докучаєва, Україна

Досліджено вплив передпосівної обробки насіння амаранту на мітотичну активність у проростках рослин. Показано, що дія гамма-променів змінює протікання мітозу, що відображається у порушеннях формування мітотичного апарату, збільшенні частоти порушень мітозу на рівні веретена поділу та їх сумарної частоти. Відмічено, що опромінення в дозах 400 Гр та 700 Гр призводить до пригнічення мітотичної активності, а у деяких випадках до повного пригнічення поділу клітин.

Ключові слова: амарант, мітотична активність, гамма-опромінення, мітоз, клітина, хромосомне порушення, міст, фрагмент.

Вступ. Одним з основних завдань мутаційної селекції рослин є вивчення генетичної активності мутагенних чинників з метою встановлення оптимальних умов для одержання максимальної кількості спадкових змін у вихідного рослинного матеріалу [4].

Як відомо, спонтанні мутації обумовлені змінами у молекулярній структурі генів, кількості або структурі хромосом. Вони є єдиним джерелом появи принципово нових ознак та властивостей живих організмів. Всі мутагенні чинники, які використовуються для створення нових форм, поділяються на фізичні, хімічні та біологічні. До фізичних мутагенів належать радіація, температурний фактор, ультразвук. Радіація представлена електромагнітним та корпускулярним випромінюванням. Найбільш ефективно використовується у практичній селекції електромагнітне випромінювання, зокрема гамма-промені.

Класичними і загально визначеними об'єктами дослідження цитогенетичних ефектів радіаційного опромінення є популяції клітин кореневої меристеми проростків насіння. Вивчення рівня мітотичної активності, частоти і спектру утворення клітин з хромосомними аберациями у перших пострадіаційних мітотичних циклах клітин кореневої меристеми дозволяє отримати достовірну оцінку рівня первинних ушкоджень генетичних систем та активності репараційних процесів.

Аналіз літературних джерел, постановка проблеми. Одним з переконливих доказів шкодочинної 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 [2, 5].

Цитологічними методами досліджень у амаранту почав займатися Grant FW. ще у 60-х роках, продовжили роботу у 1972 році Khoshoo, T. N. and Pal, M, увага яких була зосереджена на більш детальному вивченні хромосом. Починаючи з 90-х років проводились дослідження вченими з підрахунку кількості хромосом у різних видів амаранту та побудови ідіограм .

Мета і задачі досліджень - вивчення впливу різних доз гама-променів на частоту мітотичних порушень клітин кореневої меристеми різних сортів амаранту.

Для досягнення мети були поставлені наступні завдання:

– визначити оптимальну температуру для пророщування насіння амаранту для перегляду протікання мітозу в корінцях рослин;

- підібрати барвник для забарвлення корінців амаранта;
- удосконалити методику для перегляду анафазних клітин та визначення частоти мітотичних порушень в кореневій меристемі амаранта після гамма-опромінення.

Матеріали та методи. У досліді було залучено три сорти амаранту виду *A. hypochondriacus*: Сем, Харківський-1, Студентський. Проводили обробку насіння фізичними мутагенами (гамма-випромінювання). Джерело випромінювання – Co^{60} . Дози випромінювання: 15 Гр, 30 Гр, 40 Гр, 150 Гр, 400 Гр та 700 Гр. Місце проведення обробки – ННЦ Інститут метрології. Установка – ДЕТУ 12-05-02.

За контроль використовували насіння амаранту без обробки.

Для визначення частоти мітотичних порушень використовували анафазний метод: з кожного варіанту проглядали 500-600 анафаз. За відношенням анафазних клітин з порушеннями до загальної кількості проглянутих анафазних клітин визначали відсоток клітин з порушеннями [1, 4].

Аналізуючи спектр порушень мітозу, треба зазначити, що мітотична активність у меристемах корінців амаранту, залежить від дози гамма-опромінення та сорту [6, 7]. Специфіка генотипу виявляється в різній частоті хромосомних аберацій при однакових дозах мутагену.

Таблиця 1

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

Доза	Сорт	Досліджено анафазних клітин	Частота порушень						
			фрагменти		мости		сумарна		
			клітини	%	клітини	%	клітини	%	частка ознаки (р)
контроль	Студентський	560	-	-	2	0,4	2	0,4	0,004
15 Гр		549	4	0,7	5	0,9	9	1,6	0,016
30 Гр		538	7	1,3	11	2	18	3,3	0,033
40 Гр		530	8	1,5	12	2,3	20	3,8	0,038
150 Гр		520	11	2,1	25	4,8	36	6,9	0,069
400 Гр		517	24	4,6	78	15,1	102	19,7	0,197
700 Гр		510	58	11,4	82	16,1	140	27,5	0,275
НІР _{0,5}									0,014
контроль	Харківський-1	558	1	0,2	1	0,2	2	0,4	0,004
15 Гр		553	3	0,5	5	0,9	8	1,4	0,014
30 Гр		548	5	0,9	10	1,8	15	2,7	0,027
40 Гр		535	7	1,3	12	2,2	19	3,5	0,035
150 Гр		515	9	1,7	31	6	40	7,7	0,077
400 Гр		511	35	6,8	55	10,8	90	17,6	0,176
700 Гр		506	60	11,9	75	14,8	135	26,7	0,267
НІР _{0,5}									0,012
контроль	Сем	564	-	-	1	0,2	1	0,2	0,002
15 Гр		551	5	0,9	4	0,7	9	1,6	0,016
30 Гр		544	8	1,5	11	2	19	3,5	0,035
40 Гр		531	10	1,9	12	2,3	22	4,2	0,042
150 Гр		522	6	1,1	29	5,6	35	6,7	0,067
400 Гр		516	33	6,4	52	10,1	85	16,5	0,165
700 Гр		508	66	12,9	78	15,4	134	28,3	0,264
НІР _{0,5}									0,017

У цілому, за частотою мітотичних порушень в кореневій меристемі амаранту після гама-опромінення сортів Студентський, Харківський-1 та Сем значних відмінностей не спостерігалось, але вони відрізнялися за кількістю фрагментів та мостів в клітинах, яка збільшувалася зі зростанням дози мутагену.

Так, у сорту амаранту Студентський при опроміненні дозою 15 Гр виявлено всього 9 клітин з порушеннями, що становить 1,6 % від загальної кількості клітин, з них 4 клітини з фрагментами та 5 з мостами. При опроміненні цього сорту дозою 700 Гр ідентифіковано 140 клітин з порушеннями, тобто 27,5 % від загальної кількості клітин, із них 58 – з фрагментами, 82 – з мостами (рис. 1). У сорту Харківський-1 у дозі 15 Гр ці показники становили 8 клітин (1,4 %), з яких 3 – фрагменти, 5 – мости; у дозі 700 Гр знайдено 135 клітин з порушеннями (26,7 %), серед яких 60 з фрагментами та 75 з мостами (рис. 2). У сорту Сем при опроміненні дозою 15 Гр виявлено 9 клітин з порушеннями (1,6 %), серед них 5 з фрагментами і 4 – з мостами. У дозі 700 Гр порушення мали 134 клітини (28,3 %), при цьому у 66 відмічено наявність фрагментів (рис. 3), а у 75 – мостів (табл. 1.).

Кількість клітин з порушеннями у кореневій меристемі амаранту після гамма – опромінення перевищувала результат виявлений у контролі, який становив 0,4 % для сортів Студентський та Сем і 0,2% для Харківський-1.

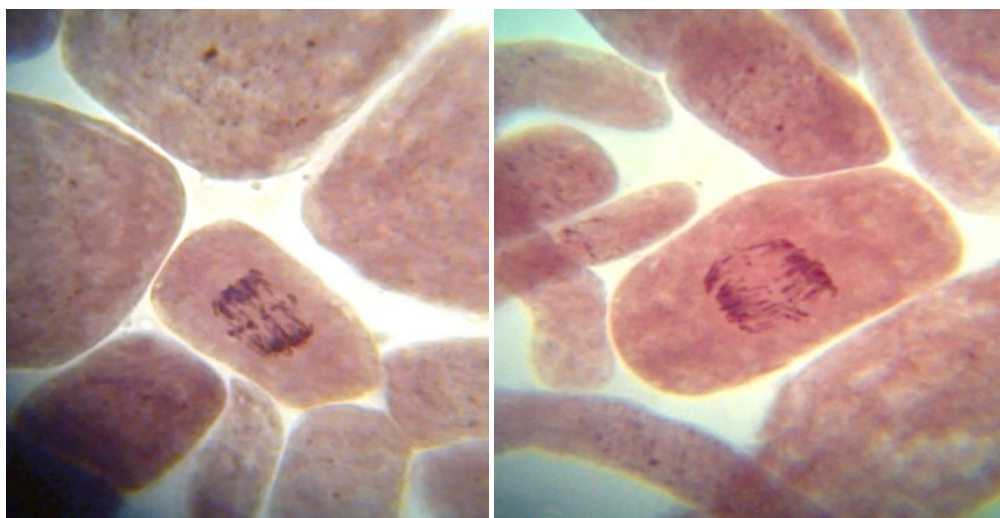


Рис.1 Порушення в анафазних клітинах (мости 400 Гр і фрагменти 700 Гр).
Сорт Студентський.

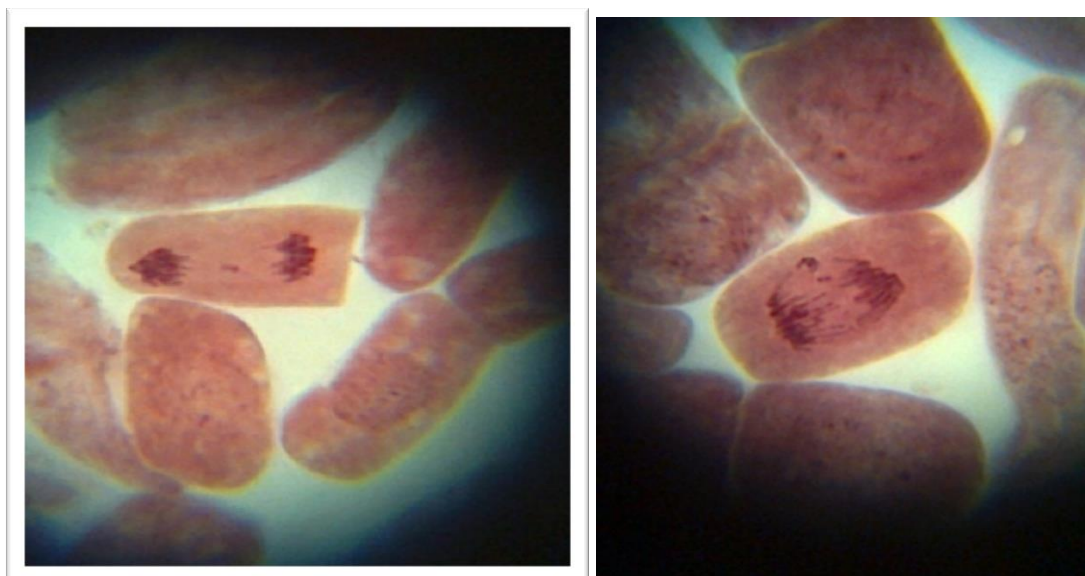


Рис.2 Порушення в анафазних клітинах (мости 400 Гр і фрагменти 700 Гр).
Сорт Харківський - 1.

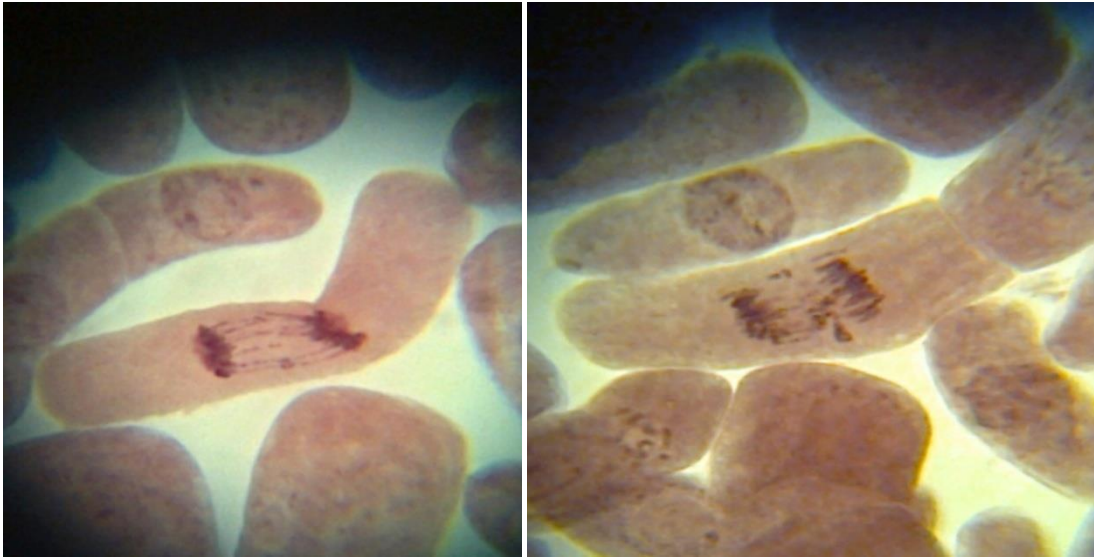


Рис. 3. Порушення в анафазних клітинах(мости 400 Гр і фрагменти 700 Гр).
Сорт Сем.

Як відомо, при високих дозах зниження мітотичного індексу викликає пригнічення синтезу ДНК, пов'язане з порушенням роботи матричних систем клітин. При летальних і сублетальних дозах велике значення для клітин має пряма або опосередкована дія радіації на компоненти хроматину. При дії високих доз змінюється структура та функції геному, що проявляється в загальному збільшенні частки клітин з хромосомними аберациями, пригніченні, затримці та навіть повному пригніченні мітозів [7].

Висновок. Таким чином, на основі проведених досліджень встановлено, що сорти амаранту виду *A. hypochondriacus*: Сем, Харківський-1, Студентський є чутливими до дії гама-променів. Як показали результати проведених досліджень, при збільшенні дози гамма – опромінення спостерігається підвищення частоти хромосомних порушень. Летальними для амаранта є дози 400 Гр та 700 Гр. В дозі 150 Гр відсоток порушень зростає від 6,7 у сорту Сем до 7,7 у сорту Харківський – 1.

Список використаних джерел

1. Гопцій, Т. І. Амарант: біологія, вирощування, перспективи використання, селекція [Текст] / Т. І. Гопцій. – Х.: Харківський держ. аграрний ун-т ім. В. В. Докучаєва, 1999. – 272 с.
2. Клименко, Я. В. Частота хромосомних абераций озимої пшениці індукованих мутагенами при дії на насіння та проростки [Текст] / Я. В. Клименко, К. А. Ларченко // Физиология и биохимия культ. растений. – 2006. – Т. 38, № 3. – С. 222-227.
3. Ларченко, Е. А. Сравнительный анализ наследственной изменчивости растений при мутагенной обработке генеративных клеток и семян кукурузы [Текст] / Е. А. Ларченко, В. В. Моргун // Цитология и генетика. – 2000. – Т. 34, № 4. – С. 16-20.
4. Моргун, В. В. Спонтанна та індукована мутаційна мінливість і її використання в селекції рослин [Текст] / В. В. Моргун // Генетика та селекція в Україні на межі тисячоліть. – К.:Логос, 2001. – Т. 2. – С. 144-174.
5. Паушева, З. П. Практикум по цитологии растений [Текст] / З. П. Паушева. – М.: Наука, 1980. – 304 с.
6. Рокицкий, П. И. Биостатистика [Текст] / П. И. Рокицкий. – М.: Наука, 1974. – 323 с.
7. Тефері Йосеф Вондиму. Створення вихідного матеріалу для селекції ярого ячменю з роздільним і комплексним застосуванням гамма-променів і хімічних мутагенів [Текст]: автореф. дис. ... канд. с.-г. наук: / Тефері Йосеф Вондиму; [Ін-т рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН]. – Х, 2006. – 19 с.

References

1. Hoptsiy, TI. Amaranth: biology, cultivation, prospects of use, selection. Kharkiv: Kharkiv National Agrarian University named after V. V. Dokuchayev; 1999. 272 p.
2. Klimenko YaV, Larchenko KA. Frequency of chromosome aberration of fall wheat, induced by mutagens at seeds and underground seedlings. *Physiologia i biokhimiya kulturnykh rasteniy*. 2006; 38(3): 222-227.
3. Larchenko YeA, Morgun VV. Comparative analysis of plants' genetic variation at mutagenic processing of corn generative cells and seeds. *Cytology and Genetics*. 2000; 34(4): 16-20.
4. Morgun, VV. Autonomic and induced mutagenic variation and its application in plants selection. *Genetics and selection in Ukraine at the turn of the millenniums*. Kyiv: Logos; 2001. Vol. 2. P. 144-174.
5. Pausheva, ZP. Laboratory course in plant cytology. Moscow: Nauka; 1980. 304 p.
6. Rokitskiy, PI. Biostatistics. Moscow: Nauka; 1974. 232 p.
7. Teferi JV. Development of output materials for the selection of spring barley with separate and complex use of gamma rays and chemical mutagens [autoabstract]. [Kharkiv, Ukraine]: Plant Production Institute nd. a VYa Yuriev of NAAS; 2000.

ВЛИЯНИЕ ПРЕДПОСЕВНОЙ ОБРАБОТКИ СЕМЯН АМАРАНТА ГАММА-ЛУЧАМИ НА ЧАСТОТУ ВОЗНИКНОВЕНИЯ МИТОТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В КОРНЕВОЙ МЕРИСТЕМЕ РАСТЕНИЙ

Гудым Е. В., Гопций Т. И.

Харьковский национальный аграрный университет им. В. В. Докучаева, Украина

Введение. Изучение уровня митотической активности, частоты и спектра образования клеток с хромосомными абберациями в первых пострадиационных митотических циклах клеток корневой меристемы позволяет получить достоверную оценку уровня первичных повреждений генетических систем и активности репарационных процессов.

Цели и задачи исследования. Цель- изучение влияния различных доз гамма-лучей на частоту митотических нарушений клеток корневой меристемы различных сортов амаранта. Задачами исследования было определение оптимальной температуры для проращивания семян амаранта и подобрать краситель для окраски корешков амаранта.

Материалы и методы. В исследованиях использовали три сорта амаранта: Студенческий, Харьковский -1 и Сем. Дозы гамма-облучения 15 Гр, 30 Гр, 40 Гр, 150 Гр, 400 Гр и 700 Гр. Для определения частоты митотических нарушений использовали анафазный метод.

Обсуждение результатов. В целом, по частоте митотических нарушений в корневой меристеме амаранта после гамма-облучения сортов Студенческий, Харьковский-1 и Сем значительных различий не наблюдалось, но они отличались по количеству фрагментов и мостов в клетках, которая увеличивалась с ростом дозы мутагена. Так, например у сорта Студенческий облучение дозой 15 Гр вызвало появление 9 клеток с нарушениями (5 с мостами и 4 с фрагментами), а у сорта Сем после воздействия этой же дозы обнаружили 8 клеток (3 с фрагментами и 5 с мостами).

Выводы. Таким образом, на основе проведенных исследований установлено, что сорта амаранта вида *A. hypochondriacus* Сэм, Харьковский-1, Студенческий чувствительны к действию гамма-лучей. Как показали результаты проведенных исследований, при увеличении дозы гамма - излучения наблюдается повышение частоты хромосомных нарушений. Летальными для амаранта является дозы 400 гр и 700 гр. В дозе 150 гр процент нарушений растет от 6,7 у сорта Сэм до 7,7 у сорта Харьковский - 1.

Ключевые слова: *амарант, митотическая активность, гамма-облучения, митоз, клетка, хромосомные нарушения, мосты, фрагменты.*

INFLUENCE OF PRESOWING GAMMA – IRRADIATION OF AMARANTH SEEDS ON THE FREQUENCY OF MITOTIC DISORDERS IN ROOT MERISTEM

Hudym O. V., Hoptsi T. I.

Kharkiv National Agricultural University named after V. V. Dokuchayev, Ukraine

Studies of mitotic activity, frequency and range of chromosomal aberrations in cells of root meristem in the first post-irradiation mitotic cycles enable us to reliably assess levels of primary damage in the genetic system and activity of repairing processes.

The aim and tasks of the study. The purpose was to study effects of various doses of gamma-rays on the frequency of mitotic disorders in root meristem of different amaranth varieties.

The objectives were to determine the optimum temperature for germination of amaranth seeds and to select a dye for staining amaranth roots.

Materials and methods. Three amaranth varieties were used in the research: Students, Kharkov - 1 and Sem gamma-irradiated at the doses of 15 Gy, 30 Gy, 40 Gy, 150 Gy, 400 Gy and 700 Gy. The anaphase method was used to determine the frequency of mitotic disorders.

Results and discussion. In general, the frequency of mitotic disorders in amaranth root meristem after gamma-irradiation of Students, Kharkov – 1 and Sem varieties significantly varied. The varieties differed by the fragment and bridge numbers in cells, which were higher as doses of mutagen increased.

For example, 15 Gy of Students caused resulted in nine cells with disorders (five with bridges and four with fragments), and in Sem variety after exposure to the same dose eight damaged cells were found (three with fragments and five with bridges).

Conclusions. Thus, the research revealed that the varieties of amaranth, *A. hypochondriacus*, (Sem, Kharkov -1 and Students) were susceptible to gamma-rays. The research showed that the higher dose of gamma-rays was, the higher the frequency of chromosomal abnormalities became. 400 Gy and 700 Gy were lethal to amaranth. After 150 Gy, the percentage of disorders increased from 6.7% to 7.7% in Sem variety and in Kharkov - 1 variety.

Key words: *amaranth, mitotic activity, gamma rays, mitosis, cell, chromosomal abnormalities, bridges, fragments.*

UDK 635.655:575

EFFECT OF RHIZOBIUM BIOFERTILIZERS ON MAIN CHARACTERISTICS AND YIELD OF SOYBEAN

Xiaomei JIN¹, Lili ZHANG²

¹ Institute Of Crop Science, Liaoning Academy of Agricultural Sciences, Shenyang 110161, China

² Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China

In this study, high-efficiency nitrogen-fixing rhizobium strains were prepared into rhizobium biofertilizers GF₅ and GF₆ for field trials to investigate the effect of rhizobium biofertilizers on yield of soybean. The results showed that fresh weight per plant, root nodule number per plant and fresh weight of root nodules per plant were improved after application of rhizobium biofertilizers; 100-grain weight was improved by over 3.9%. Moreover, rhizobium biofertilizer GF₆ exerted a more significant effect than GF₅.

Key words: *soybean, rhizobium fertilizer, yield*

© Xiaomei JIN, Lili ZHANG. 2016.

ISSN 1026-9959. Селекція і насінництво. 2016. Випуск 109.