

СПЕКТР ХРОСОМНИХ ПОРУШЕНЬ У КЛІТИНАХ КОРЕНЕВОЇ МЕРИСТЕМИ РІЗНИХ ВИДІВ ПШЕНИЦІ ЯРОЇ ЗАЛЕЖНО ВІД ДІЇ НИЗЬКОЇ ТЕМПЕРАТУРИ

Є.А. Криштоп

Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва

Експериментально-аналітичними дослідженнями з'ясовано, що проморожування насіння різних видів пшениці ярої при температурі -14°C протягом 168 годин приводить до підвищення частоти хромосомних порушень у клітинах кореневої меристеми, та як наслідок, до підвищення схрещуваності різних видів і сортів пшениці ярої з житом ярим.

Насіння, Triticum durum Desf., Triticum aestivum L., низька температура, коренева меристема, спектр хромосомних порушень

Порушення хромосомного апарату клітин є одним з переконливих доказів ушкоджувальної дії мутагенів і основним показником генетичної мінливості організмів на клітинному рівні [1, 2]. Це, насамперед, пов'язано зі структурними змінами хромосом, які складаються з різних перебудов, що ґрунтуються на розломах або розривах у межах однієї або декількох пар хромосом [3]. Віднині доведена роль хромосомних перебудов у мутаційній селекції, генетичному моніторингу, канцерогенезі та еволюції культурних рослин [1].

Для підвищення врожайності пшениці, якості зерна, екологічної пластичності та стійкості рослин проти абіотичних і біотичних факторів навколишнього середовища застосовують різні хімічні препарати, більшість з яких є шкідливими для ґрунту і водних джерел, небезпечними для людей і тварин. Тому розробка екологічно безпечних технологій вирощування сільськогосподарських культур набуває неабиякої актуальності. У першу чергу це стосується питання допосівної обробки насіння з метою удосконалення методів подолання несхрещуваності при віддаленій гібридизації.

Ми вивчали вплив низької температури на насіння твердої та м'якої пшениці ярої. У результаті проведених досліджень нами встановлено, що дія низької температури на насіння материнських форм позитивно впливає на схрещуваність різних видів і сортів пшениці ярої з житом ярим [4].

З метою з'ясування причин підвищення схрещуваності нами вивчено спектр хромосомних порушень у клітинах кореневої меристеми проростаючого насіння пшениці ярої. Дослідження закономірностей хромосомних порушень у

клітинах кореневої меристеми дозволяє пояснити, у деякій мірі, шляхи підвищення схрещуваності різних видів і сортів пшениці ярої з житом ярим.

Матеріали та методи дослідження. Експериментальні досліди проводили в лабораторних умовах з насінням пшениці ярої (*Triticum durum* Desf. число хромосом $2n=28$) сорту Харківська 27 (var. *leucurum*) і (*Triticumaestivum* L. число хромосом $2n=42$) сорту Харківська 26 (var. *lutestens*). Насіння різних видів пшениці, вологість якого була на рівні 14-14,5%, витримували у морозильних камерах при температурі (-14°C) протягом 72, 168 і 192 годин. Як контроль використовували насіння пшениці без обробки. Після обробки насіння пророщували на зволоженому фільтрувальному папері у чашках Петрі при температурі 23-25°C протягом 3-4 діб до появи ростків не менше довжини насіння і корінців довжиною 2-3 см. Корінці фіксували у фіксаторі Кларка та зберігали у 70% спирті у холодильнику.

Спектр хромосомних порушень визначали за методикою З. В. Абрамової [5]. Цифрові дані порівнювали з урахуванням u – критерію Фішера для долі варіанс [6]. Обчислення виконували окремо для виявленого типу аберацій і для кожної стадії, а також у середньому. У дослідженнях використовували мікроскоп „Біолам” (збільшення $\times 400$). Фотографування здійснювали за допомогою цифрового фотоапарата „Canon”.

Результати дослідження. Вивчення спектра хромосомних порушень на стадії профазы й метафазы у клітинах кореневої меристеми пшениці ярої показало, що дія низької температури підвищує частоту клітин з хромосомними порушеннями по відношенню до контролю (табл. 1).

Аналіз спектра хромосомних порушень показав його значне розширення на дослідних варіантах у порівнянні з контролем. Так, у клітинах кореневої меристеми обох досліджуваних видів на стадії профазы на контрольному варіанті викидів хромосом не спостерігали. Дія низької температури спровокувала деяке зменшення кількості клітин з викидами з тривалістю обробки 72 та 192 години, тоді як у варіанті досліду з тривалістю обробки 168 годин цей показник зростав і становив 0,20 % для *Triticumaestivum* L. та 0,40 % для *Triticum durum* Desf. (див. табл. 1).

Аналізуючи хромосомні порушення на стадії метафазы, ми відмітили сильну мінливість. Так, у клітинах кореневої меристеми виду *Triticumaestivum* L. дія низької температури протягом 168 годин збільшувала частоту забігання хромосом на стадії метафазы до 1,40 % (див. табл. 1), тоді як на контрольному варіанті вона становила 0,20 %. У виду *Triticum durum* Desf. на контрольному варіанті забігання хромосом не виявлено, тоді як на дослідних варіантах цей показник зростав і найбільшим він був у варіанті досліду 168 годин - 0,60 % відповідно.

Нарівні зі змінами спектра хромосомних порушень на стадії профазы і метафазы у клітинах кореневої меристеми пшениці ярої дія низької температури підвищувала частоту порушень на стадії анафазы по відношенню до контролю (табл. 2). Загальною закономірністю, відміченою нами в обох випадках, була чітка поява одинарних (рис. 1) і подвійних мостів

(рис. 2), які виникають внаслідок формування так званих дицентричних хромосом, а також поява мостів з фрагментами та фрагментів, причиною яких є розрив окремих ділянок хромосом [3].

Таблиця 1.

Спектр хромосомних порушень на стадіях профазы та метафазы
у клітинах кореневої меристеми різних видів
пшениці ярої залежно від дії низької температури

Тривалість обробки, годин	Спектр хромосомних порушень на стадії					
	профазы			метафазы		
	досліджено клітин, шт	викидів		досліджено клітин, шт	забігань	
		n	%		n	%
<i>TriticumaestivumL.</i>						
контроль	1000	0	0	1000	2	0,20
72	1000	1	0,10	1000	3	0,30
168	1000	2	0,20 #	1000	14	1,40 #
192	1000	1	0,10	1000	3	0,60
<i>Triticum durumDesf.</i>						
контроль	1000	0	0	1000	0	0
72	1000	1	0,10	1000	4	0,40 #
168	1000	4	0,40 #	1000	6	0,60 #
192	1000	2	0,20 #	1000	3	0,30 #

Примітка. # - відмінності від абсолютного контролю достовірні при $p < 0,05$

На усіх дослідних варіантах, як це видно з табл. 2, відбувалося зростання у порівнянні з контролем долі одинарних мостів на стадії анафазы. У клітинах кореневої меристеми контрольного варіанту виду *TriticumaestivumL.* виявлено 0,10 % одинарних мостів, при експозиції обробки до 72 годин частка клітин з цими порушеннями збільшується до 0,30 %, 168 годин – 1,00 %, 192 години – 0,40 %. Дія низької температури у варіанті досліду 72 години спровокувала появу подвійних мостів – 0,20 % та 0,40 % на дослідному варіанті 168 годин. Мостів з фрагментами у варіанті досліду 72 години виявлено 0,10 %, а на дослідному варіанті 168 годин цей показник збільшувався до 0,20 %. При цьому, на контролі та у дослідному варіанті 192 годин анафазних клітин з хромосомними порушеннями (подвійних мостів та мостів з фрагментами) не виявлено. Аналогічні результати отримано нами у виду *Triticum durumDesf.*

Характерно, що для активно проліфераційної тканини перевага появи мостів у спектрі хромосомних порушень свідчить про зростання репаративної здатності клітин кореневої меристеми проростків пшениці ярої. На нашу думку, дія низької температури протягом 168 годин активує репаративні можливості і змінює цитогенетичні показники у клітинах кореневої меристеми.

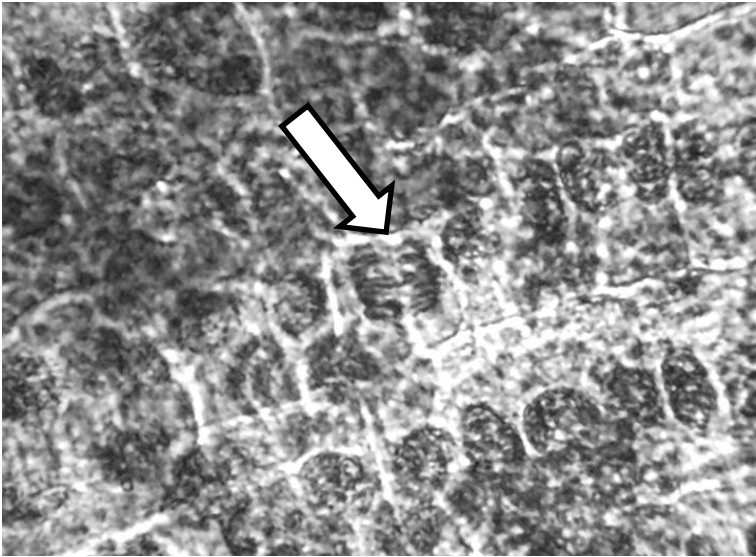


Рис. 1. Одинарний міст на стадії анафази

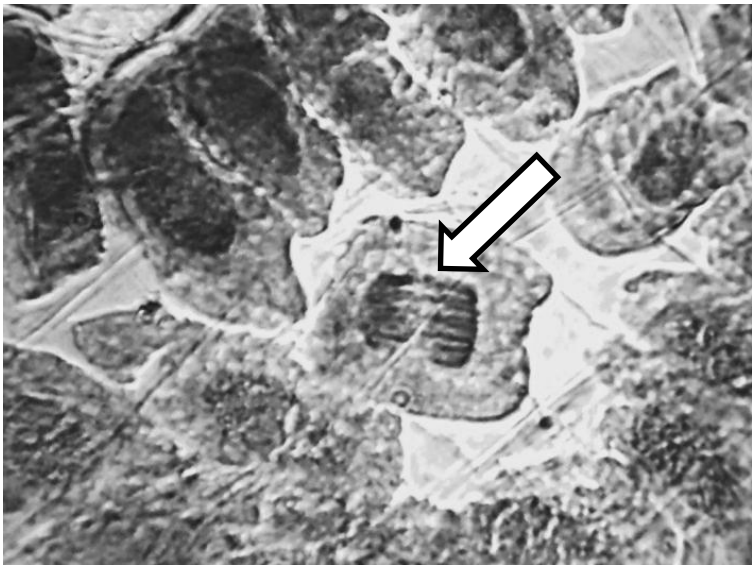


Рис. 2. Подвійний міст на стадії анафази

Таблиця 2.

Спектр хромосомних порушень на стадії анафази у клітинах кореневої меристеми різних видів пшениці ярої залежно від дії низької температури

Тривалість обробки, годин	Досліджено клітин, шт.	Спектр хромосомних порушень на стадії анафази							
		мостів одинарних		мостів подвійних		мостів з фрагментами		фрагментів	
		п	%	п	%	п	%	п	%
<i>TriticumaestivumL.</i>									
контроль	1000	1	0,10	0	0	0	0	2	0,20
72	1000	3	0,30	2	0,20	1	0,10	4	0,40 #
168	1000	10	1,00 #	4	0,40 #	2	0,20 #	12	1,20 #
192	1000	4	0,40	0	0	0	0	6	0,60
<i>Triticum durumDesf.</i>									
контроль	1000	0	0	0	0	0	0	4	0,40
72	1000	4	0,40 #	2	0,20 #	1	0,10 #	8	0,80 #
168	1000	6	0,60 #	4	0,40 #	1	0,10 #	10	1,00 #
192	1000	4	0,40 #	0	0	0	0	6	0,60

Примітка. # - відмінності від абсолютного контролю достовірні при $p < 0,05$

Обумовлено це тим, що генетична система рослинного організму виходить після стресового навантаження на новий тригерний рівень. Дія низької температури викликала істотне зростання фрагментів на стадії анафази у клітинах кореневої меристеми обох видів. Так, на контролі у виду *Triticum aestivum L.* цей показник становив – 0,20 %. На дослідних варіантах ці типи хромосомних порушень відповідно складають 0,40; 1,20 та 0,60 %. У виду *Triticum durumDesf.* виявлено фрагментів на контролі – 0,40 %, тоді як на дослідних варіантах відповідно - 0,8; 1,0 та 0,60 % (див. табл. 2). При збільшенні тривалості експозиції не виникає або зменшується частка анафазних клітин з порушеннями хромосом (одинарних, подвійних мостів та мостів з фрагментами). Дія низької температури протягом 192 годин пригнічує системи репарації клітин кореневої меристеми, що призводить до зменшення доли мостів.

Одночасно дія низької температури призводить до появи більш суттєвих структурних пошкоджень хромосом та викликає появу інших типів хромосомних порушень на стадії телофази. Серед них треба відзначити збільшення кількості несинхронних поділів у порівнянні з контролем. Наприклад, у клітинах кореневої меристеми виду *Triticum durumDesf.* несинхронні поділи на контрольному варіанті були відсутні, тоді як на дослідних варіантах дія низької температури викликала зростання цих типів хромосомних порушень. Так, у варіанті досліду з тривалістю обробки 72 години цей показник становив 0,20 %, при експозиції обробки 168 годин спостерігали 0,30 % несинхронних поділів, тоді як при збільшенні тривалості частка клітин з цим типом

порушень знову знижувалась до 0,20%. У клітинах кореневої меристеми виду *TriticumaestivumL.* несинхронні поділи спостерігали як на контролі, так і на дослідних варіантах (див. табл. 3).

Таблиця 3.

Спектр хромосомних порушень на стадії телофази у клітинах кореневої меристеми різних видів пшениці ярої залежно від дії низької температури

Тривалість обробки, годин	Досліджено клітин, шт	Спектр хромосомних порушень на стадії телофази							
		мікроядер		мостів		несинхронних поділів		багатополюсних мітозів	
		п	%	п	%	п	%	п	%
<i>TriticumaestivumL.</i>									
контроль	1000	2	0,20	0	0	2	0,20	2	0,20
72	1000	2	0,20	0	0	2	0,20	4	0,40
168	1000	8	0,80 #	2	0,20 #	4	0,40 #	6	0,60 #
192	1000	4	0,40	2	0,20 #	4	0,40 #	6	0,60 #
<i>Triticum durumDesf.</i>									
контроль	1000	2	0,20	0	0	0	0	1	0,10
72	1000	2	0,20	0	0	2	0,20 #	1	0,10
168	1000	4	0,40	1	0,10	3	0,30 #	4	0,40 #
192	1000	0	0	0	0	2	0,20 #	2	0,20 #

Примітка. # - відмінності від абсолютного контролю достовірні при $p < 0,05$

Дія низької температури збільшує кількість мікроядер у клітинах кореневої меристеми виду *TriticumaestivumL.* Так, як на контролі, так і у варіанті досліду 72 години спостерігали однакову кількість клітин з мікроядрами – 0,20 %, тоді як у варіанті досліду з тривалістю обробки 168 годин цей показник збільшувався і становив 0,80 %, але при збільшенні експозиції обробки до 192 годин відбувалося зниження – 0,40 %.

Аналогічний результат отримано нами у виду *Triticum durumDesf.*, за виключенням того, що у варіанті досліду з тривалістю обробки 192 години хромосомних порушень не відбувалося, що напевно пов'язано з пригніченням систем репарації клітин кореневої меристеми (див. табл. 3). До того ж, крім вище перерахованих порушень у клітинах кореневої меристеми пшениці ярої при дії низької температури зустрічалися 3-полюсні (рис. 3) та 4-полюсні мітози (рис. 4), а також мости з фрагментами.

Так, у обох видів пшениці ярої у клітинах кореневої меристеми частка клітин з багатополюсними мітозами спостерігалась нами як на контролі, так і на дослідних варіантах. Максимальний спектр появи мостів був відмічений нами при експозиції обробки насіння 168 годин – 0,60 % для виду *TriticumaestivumL.* та 0,40 % для *Triticum durumDesf.* у порівнянні до контролю 0,20 і 0,10 % відповідно (див. табл. 3).

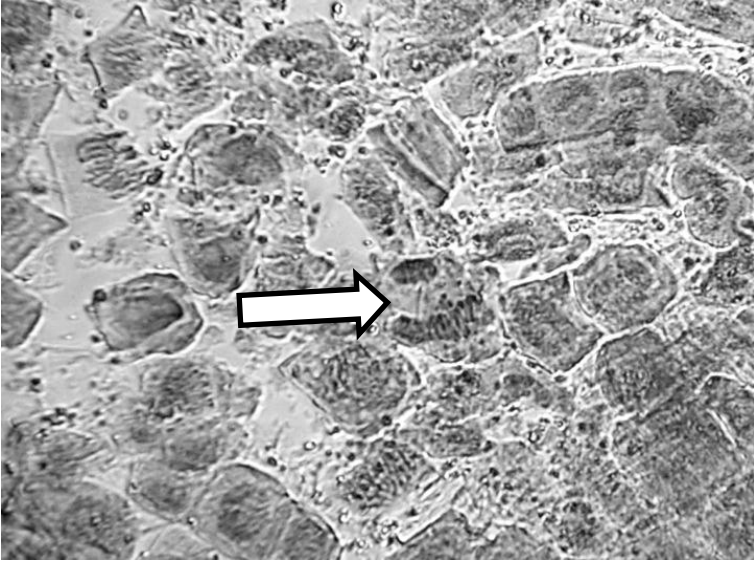


Рис. 3. 3-полюсний мітоз, міст і фрагменти

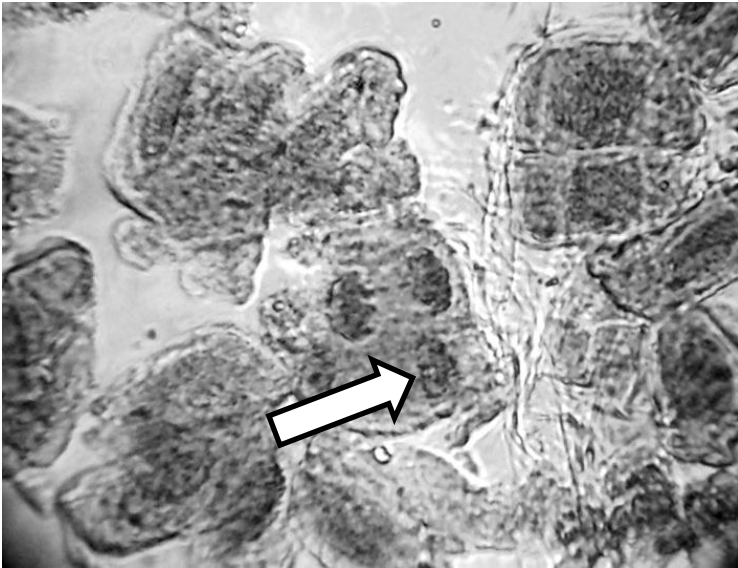


Рис. 4. 4-полюсний мітоз і фрагменти

Висновки. Таким чином, з'ясовано основні структурні зміни у процесі активації клітин кореневої меристеми проростаючого насіння різних видів пшениці ярої залежно від дії низької температури. Отримані результати свідчать, що у обох видів пшениці ярої незалежно від тривалості обробки при температурі (-14°C) у клітинах, що знаходяться на одній стадії клітинного циклу, виявлені різна кількість хромосомних порушень. Це означає, що клітини кореневої меристеми проростаючого насіння різняться за стійкістю до низької температури.

Спектр хромосомних порушень у клітинах кореневої меристемизалежить від генотипових особливостей рослин пшениці ярої, дії низької температури і її тривалості. По всій вірогідності, 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 низької температури, залежить від виду.

Інтерпретація отриманих результатів з цих позицій дає змогу зробити висновок: підвищення схрещуваності пояснюється дією низької температури на процеси поділу клітин материнської рослини, що призводить до хромосомних порушень, які виникають у кореневих меристемах проростаючого насіння пшениці, в результаті чого підвищується схрещуваність різних видів і сортів пшениці ярої з житом ярим.

Список використаних джерел

1. *Моргун В. В.* Мутационная селекция пшеницы / В. В. Моргун, В. Ф. Логвиненко. – К.: Наук. думка, 1995. – 626 с.
2. *Назаренко Н. Н.* Анализ мутагенного воздействия на хромосомный аппарат клетки / Н. Н. Назаренко // Актуальні проблеми ботаніки та екології. Матеріали міжнародної конференції молодих учених-ботаніків (17-20 вересня 2007 р., м. Київ). – Київ: Фітосоціоцентр, 2007. – С. 219 – 220.
3. *Гостев А. А.* Индуцированное изменение структуры хромосом у высших организмов / А. А. Гостев, В. С. Крылов, Г. Фискешоу [и др.] // Доклады ВАСХНИЛ. – 1983. – № 7. – С. 14 – 15.
4. *Криштоп Є.А.* Віддалена гібридизація ярих злаків і її модифікація низькою температурою: Автореф. дис. на здобуття ступеня канд. с.-г. наук: спец. 06.01.05 "Селекція рослин" / Є.А. Криштоп – Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва УААН, Харків, 2009. – 19 с.
5. *Абрамова З. В.* Практикум по генетике / З. В. Абрамова, О. А. Карлинский. – Л.: Колос, 1979. – 192 с.
6. *Лакін Г.Ф.* Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.

Экспериментально-аналитическими исследованиями выяснено, что промораживание семян разных видов пшеницы яровой при температуре -14°C на протяжении 168 часов приводит к повышению частоты хромосомных нарушений в клетках корневой меристемы, и, как следствие, к повышению скрещиваемости разных видов и сортов пшеницы яровой с рожью яровой.

There is found with experimental and analytical studies that the freeze treatment of seeds in different spring wheat species at -14°C during 168 hours results in the increasing in chromosomal aberrations frequency in root meristem cells and as a consequence in the increasing of crossability of different spring wheat species and varieties with spring rye.