

**МІТОТИЧНА АКТИВНІСТЬ КЛІТИН ПЕРВИННИХ КОРИНЦІВ
ЯРОЇ ПШЕНИЦІ ЗАЛЕЖНО ВІД ДІЇ НИЗЬКИХ ТЕМПЕРАТУР**

В.К. Пузік, Є.А. Криштоп

Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва

Установлено, що проморожування насіння різних видів ярої пшениці при температурі -14°C протягом 168 годин приводить до підвищення мітотичної активності клітин кореневої меристеми і хромосомних порушень в них, та, як наслідок, до підвищення схрещуваності різних видів ярої пшениці і жита.

Низькі температури, насіння, яра пшениця, сорти, корінці пшениці, мітотичний індекс, хромосомні порушення

Вивчення механізмів стійкості рослинного організму до дії низьких температур, які визначають рівень біологічної і господарської продуктивності рослин, має велике значення. Відомо, що продуктивність сільськогосподарських рослин є результатом сумісної дії зовнішніх і внутрішніх регуляторних факторів, що діють на морфогенез рослин [1]. Реалізація повних генетичних можливостей сорту при оптимальних умовах його вирощування можлива лише через насіння з високою потенціальною продуктивністю [2]. Тому, діючи на насіння різними факторами, можна впливати на спадковість рослини та її продуктивність [3].

Досліди багатьох авторів свідчать про те, що дія низьких температур підвищує життєздатність і продуктивність рослин ярих злаків [4, 5], у тому числі показана позитивна роль дії низьких температур на схрещуваність різних видів рослин при віддаленій гібридизації [6, 7, 8, 9, 10, 11].

Нами вивчався вплив низьких температур на насіння твердої та м'якої ярої пшениці. Отримані результати показали, що дія низьких температур на насіння материнських форм позитивно впливає на схрещуваність різних видів пшениці та жита [12].

З метою з'ясування причин підвищення схрещуваності різних видів пшениці та жита ми вивчали рівень мітотичної активності у клі-

тинах кореневої меристеми пророслого насіння ярої пшениці. На нашу думку, вивчення мітотичної активності дозволяє пояснити, у деякій мірі, причини підвищення схрещуваності різних видів пшениці, пшениці та жита.

Досліди проводили на кафедрі генетики, селекції та насінництва Харківського національного аграрного університету ім. В.В. Докучаєва. Вихідний матеріал – представники родини Poaceae: *Triticum durum* Desf $2n=28$; *Triticum aestivum* L. $2n=42$. Види злаків були представлені сортами: тверда пшениця Харківська 27 (var. *leucurum*) та м'яка Харківська 26 (var. *lutestens*). Сорти ярої пшениці, які використовувалися в експерименті, володіють рядом цінних господарчо-біологічних ознак, корисних для сільськогосподарського виробництва, а також широко використовуються у селекційній роботі, що і стало основним критерієм їх вибору для досліджу.

Насіння різних сортів 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 ярої пшениці без обробки. Насіння після обробки пророщували на зволоженому фільтрувальному папері у чашках Петрі при температурі 23-25° 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. Мітотичний індекс і мітотичну активність вивчали на давлених оцтово-кармінних препаратах, які готували за загальноприйнятою методикою [13].

Для виявлення мітотичної активності досліджували не менше 60 корінців та 6000 клітин, порушень мітозу – не менше 100 корінців і 1000 клітин на даній стадії поділу. Визначали також частоту турбогенних мітозів (на рівні веретена поділу – забігання хромосом у метафазі (рис. 1), багатополосних мітозів (рис. 2), кластогенних (пов'язаних із змінами хромосомного апарату - мостів і фрагментів (рис. 3), мікроядер (рис. 4), порушень мітозу і сумарну. Цифрові дані порівнювали з урахуванням u – критерію Фішера для долі варіанс [14].

Дослідження проводили з використанням мікроскопу „Біолам” (збільшення $\times 400$). Фотографування здійснювали за допомогою цифрового фотоапарату „Canon”.

У результаті проведених досліджень нами встановлено, що дія низьких температур на насіння пшениці сортів Харківська 26 і Харківська 27 викликає істотне зростання мітотичного індексу в експозиції обробки низькою температурою протягом 168 годин (табл. 1).

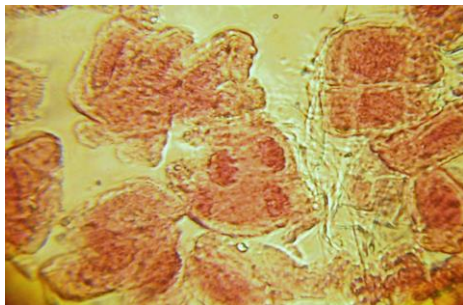


Рисунок 1. Забігання хромосом у метафазі

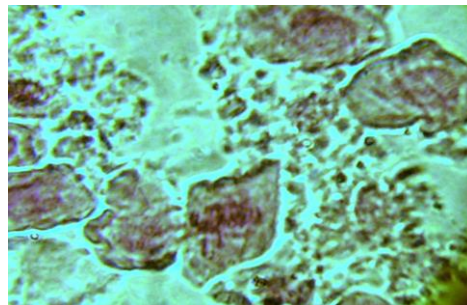
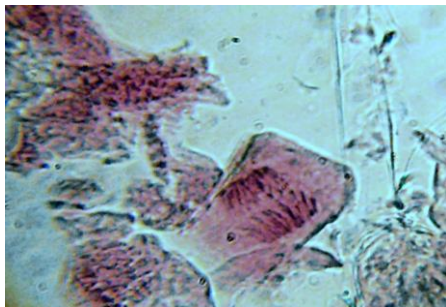


Рисунок 2. Багатополюсні мітози



Р Рисунок. 3. Фрагмент у анафазі

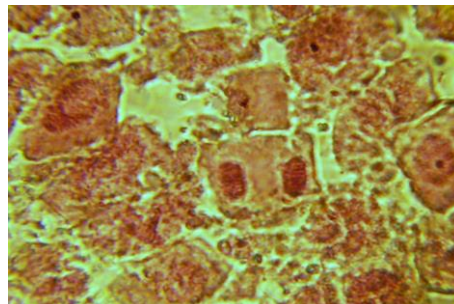


Рисунок 4. Мікроядра у телофазі

Таблиця 1.

Мітотична активність у меристемах корінців різних сортів ярої пшениці залежно від дії низьких температур

Варіанти дослідів	Досліджено клітин, шт	Кількість клітин на стадіях								Мітотичний індекс, %
		профази		метафази		анафази		телофази		
		клітин, шт	%	клітин, шт	%	клітин, шт	%	клітин, шт	%	
Харківська 26										
контроль	6000	22	0,37	24	0,40	24	0,40	56	0,93	2,10
72 год	6000	39	0,65*	50	0,83*	40	0,67*	80	1,33*	3,48*
168 год	6000	50	0,83*	80	1,33*	56	0,93*	226	3,78*	6,87*
192 год	6000	32	0,53	42	0,70*	32	0,53*	74	1,23	2,99*
Харківська 27										
контроль	6000	16	0,27	48	0,80	26	0,43	45	0,75	2,25
72 год	6000	40	0,67*	64	1,07	44	0,73*	120	2,00*	4,47*
168 год	6000	56	0,93*	74	1,23*	86	1,43*	144	2,40*	5,99*
192 год	6000	30	0,50*	53	0,88	64	1,07*	40	0,67	3,12*

Примітка: * - відмінності від абсолютного контролю достовірні при $p < 0,05$

Таке зростання пояснюється збільшенням частки клітин на стадії телофази (у обох сортів), а також анафази (сорт Харківська 27) та метафази (сорт Харківська 26). Підвищення мітотичної активності у клітинах кореневої меристеми проростаючого насіння ярої пшениці пояснюється дією низьких температур, яка активує і регулює події у мітотичному циклі та перебіг самого мітозу. Зниження ж мітотичного індексу при збільшенні тривалості обробітку зумовлено сильнішим ураженням самих систем відновлення клітин. На думку В.В. Моргуна та ін [15], чим триваліший період дії низькотемпературного стресу, тим сильніші порушення у структурі мембран. Імовірно, по мірі того, як дія низьких температур посилюється, мембранні системи клітинних органел і ендоплазматичного ретикулума втрачають свої функціональні якості (гнучкість, еластичність) [16].

Звертає на себе увагу той факт, що у даному випадку кількість клітин на стадії профази знижувалась в усіх варіантах дослідів та збільшувалась – на стадіях метафази і(або) ана- або телофази. На нашу думку, ці порушення пов'язані з процесами формування веретена по-

ділу клітини і блокуванням процесів розходження хромосом до полюсів і цитокінезу. Такого роду затримка у розвитку клітини може бути індукована дією механізмів системи checkpoint – репарації генетичного матеріалу [17], які обумовлюють виникнення блоків при проходженні клітинами критичних стадій мітотичного циклу.

Правомірність цієї точки зору підтверджено нами при вивченні частоти порушень мітозу на рівні веретена поділу (турбогенних). Саме у варіанті з експозицією обробки низькою температурою протягом 168 годин ми спостерігали істотне збільшення їх частоти (табл. 2).

Таблиця 2.

Частота турбогенних і кластогенних порушень мітозу у меристемах корінців різних сортів ярої пшениці залежно від дії низьких температур

Варіант досліджу	Досліджено клітин	Частота порушень					
		турбогенних		кластогенних		сумарна	
		клітин з порушеннями	%	клітин з порушеннями	%	клітин з порушеннями	%
Харківська 26							
контроль	4000	2	0,05	4	0,10	6	0,15
72	4000	6	0,15	14	0,35*	20	0,50*
168	4000	22	0,55*	16	0,40*	38	0,95*
192	4000	6	0,15	8	0,20	14	0,35
Харківська 27							
контроль	4000	0	0	8	0,20	8	0,20
72	4000	4	0,10	14	0,35	18	0,45*
168	4000	24	0,60*	18	0,45*	42	1,05*
192	4000	0	0	12	0,30	12	0,30

Примітка: * - відмінності від абсолютного контролю достовірні при $p < 0,05$

Аналізуючи спектр порушень мітозу, треба зазначити, що мітотична активність у меристемах корінців ярої пшениці залежить від сорту. Так, при експозиції обробки низькою температурою протягом 168 годин (табл. 1) нами відмічено сортову різницю у величинах мітотичної активності. У досліді з сортом м'якої пшениці Харківська 26 мітотичний індекс дорівнював 6,87 %, тоді як у сорту твердої пшениці Харківська 27 він склав 5,99 %. Це свідчить про те, що мітотична активність у меристемах корінців залежить від генотипових особливостей рослин ярої пшениці та дії низької температури. 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 низьких температур.

Таким чином, дія низької температури на насіння протягом 168 годин змінювала перебіг мітозу, яка відобразилася у порушеннях формування мітотичного апарату, а саме: підвищення мітотичних індексів, а також збільшення частоти на рівні веретена поділу (турбогенних) порушень мітозу та їх сумарної частоти.

Висновки. Результати досліджень підтвердили встановлену нами закономірність, яку ми отримали у польових дослідях при гібридизації ярих злаків [12]. Інтерпретація одержаних результатів з цих позицій дає змогу зробити висновок, що підвищення схрещуваності пояснюється дією низьких температур на процеси поділу клітин материнської рослини, що призводить до хромосомних порушень, які виникають у кореневих меристемах проростаючого насіння ярої пшениці. Внаслідок дії низьких температур відбувається перебудова функціональної активності геному, зміна якої позитивно впливає на схрещуваність різних видів пшениці, пшениці та жита.

Бібліографічний список:

1. *Никифоров О.А.* Селекция зерновых культур при регулировании внешних условий // *Использ. искусств. климата в селекции с.-х. культур.* – Л. – 1988. – с. 3-19.
2. *Лазаревич С.С.* Особенности меристематической активности клеток первичных корешков яровой твёрдой пшеницы при разных температурных режимах // *Проблемы производства продукции растениеводства и пути их решения,* - Горки, 2000. – Ч.1. – с. 75-79.
3. *Курсанов А.Л.* Биологические основы повышения качества семян сельскохозяйственных растений. – М.: Наука. – 1964. – 279 с.
4. *Зарубайло Т.Я., Кислюк М.М.* Улучшение семян яровых культур яровизацией при низких (отрицательных) температурах // *Селекция и семеноводство.* - 1951.-№12. – С.43.
5. *Сергеев В.З.* Влияние низких температур на повышение жизнеспособности ярового ячменя. // *Агробиология,* 1954, №5, С.106.
6. *Дуброва В.П.* Изменение завязываемости семян при отдалённой гибридизации в зависимости от предварительных воздействий на материнские растения // *Учёные записки БГУ имени В.И. Ленина, серия Биологическая,* выпуск 37, 1957. – с. 237-254.
7. *Банникова В.П.* Цитоэмбриология межвидовой несовместимости растений. - К.: Наук. думка, 1975. - 284 с.
8. *Банникова В.П.* Межвидовая несовместимость у растений. - К.: На-

- ук. думка, 1986. - 230 с.
9. *Никифорова И.О., Татьяна А.К.* Влияние термических условий формирования гибридных семян на их всхожесть в F1 // Науч.-техн. бюл. по агрономической физике -Агрофизический НИИ, 1984. – Т. 59. – с. 22-24.
 10. *Пурнхаузер Л., Надьнэ Ковач Й.* Новый метод скрещивания пшеницы с разными сроками цветения путём сохранения в холоде материнских растений. // – Вопросы селекции и генетики зерновых культур: Сборник КОЦ стран-членов СЭВ, Одесса /СССР/, ИИЗК, Бернбург /ГДР/.- 1990.-вып.4. – С. 13-14.
 11. *Purnhauser L.* A method for crossing non-synchronously flowering parents in wheat, using cold storage of the female parent /Cereal Research Communications, 1993; Vol.21. Nos. 2-3. - p.175-179.
 12. *Пузик В.К., Криштон Е.А.* Схрещуваність різних видів злаків і її модифікація низькою температурою // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології Зб. наук. пр. / Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова. – К.: Логос. – 2007. – с.151-156.
 13. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений.-М.: Колос, 1980.- 304 с.
 14. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
 15. *Морзун В.В., Ляшок А.К., Григорюк І.П.* Сучасний стан проблеми терморезистентності озимої пшениці у зв'язку з глобальними змінами клімату // Физиология и биохимия культ, растений. - 2003. - Т. 35, №6. – С. 463-493.
 16. *Таирбеков М.Г.* Структурные и функциональные аспекты устойчивости растительной клетки // Успехи современной биологии. – 1973. – Т.75, № 3. – С. 406-418.
 17. *Колтовая Н.А.* Механизм checkpoint-контроля у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Пуццино: Препринт Пуццино, 2001. – 38 с.

Установлено, что промораживание семян разных видов яровой пшеницы при температуре -14°C на протяжении 168 часов приводит к повышению митопатической активности клеток корневой меристемы и хромосомных нарушений в них, и, как следствие, к повышению скрещиваемости разных видов яровой пшеницы и ржи.

It is found that the freeze treatment of the seed in different species of spring wheat at -14°C for 168 hours has resulted in the increase in mitotic activities of root meristem cells and chromosomal disturbances in them at the same time it has led to the increase in crossability of different species of spring wheat and rye.