

... ФІЗИОЛОГІЯ РОСЛИН ... PHYSIOLOGY OF PLANTS ...

УДК: 547.422: 633.11

Мітотична активність у проростках озимих культур після передпосівної обробки насіння агрохімічними препаратами на основі криопротекторів Г.Ю.Дьяконенко, А.М.Компанієць

*Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (Харків, Україна)
cryo@online.kharkov.ua*

Досліджено вплив передпосівної обробки насіння озимого ріпака і озимої пшениці розчинами комплексних агрохімічних препаратів ЮПІТЕР, ДОРСАЙ і криопротектора ПЕО-1500 на мітотичну активність у проростках рослин. Визначено, що обробка насіння даних видів озимих культур означеними препаратами викликає достовірне підвищення мітотичного індексу, але не спричиняє хромосомних аберацій або збільшення відносної кількості мікроядер у клітинах апікальної меристеми проростків, що свідчить про відсутність токсичної дії цих сполук на рослини.

Ключові слова: *ріпак, пшениця, криопротектори, агрохімічні препарати, мітотичний індекс, мікроядра, хромосомні аберації.*

Митотическая активность в проростках озимых культур после предпосевной обработки семян агрохимическими препаратами на основе криопротекторов А.Ю.Дьяконенко, А.М.Компаниец

Исследовано влияние предпосевной обработки семян озимого рапса и озимой пшеницы растворами комплексных агрохимических препаратов ЮПИТЕР, ДОРСАЙ и криопротектора ПЭО-1500 на митотическую активность в проростках растений. Показано, что обработка семян данных видов озимых культур указанными препаратами вызывает достоверное повышение митотического индекса, но не вызывает хромосомных aberrаций или увеличения относительного количества микроядер в клетках апикальной меристемы проростков, что свидетельствует об отсутствии токсического действия этих соединений на растения.

Ключевые слова: *рапс, пшеница, криопротекторы, агрохимические препараты, митотический индекс, микроядра, хромосомные aberrации.*

Mitotic activity in winter crops seedlings after pre-sowing treatment of the seeds with agrochemical preparations based on cryoprotectants G.Yu.Dyakonenko, A.M.Kompaniets

The authors studied the effect of pre-sowing treatment of winter rape seeds and winter wheat seeds with solutions of JUPITER and DORSAY preparations and PEO-1500 cryoprotectant on mitotic activity in the plants seedlings. It has been found that the treatment of the seeds of these winter crops species with these preparations induces reliable increasing of mitotic index, but does not cause chromosome aberrations or increasing of the micronuclei relative quantity in the cells of the apical meristem of the seedlings, that indicates absence of toxic effect of these compounds on the plants.

Key words: *rape, wheat, cryoprotectants, agrochemical preparations, mitotic index, micronuclei, chromosome aberrations.*

Вступ

Загибель рослин через вимерзання внаслідок весняних та осінніх заморозків, суворих зим – досить часте явище, яке завдає великих економічних збитків. Для підвищення стійкості рослин до дії низьких температур та інших несприятливих умов 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 препаратів для передпосівної обробки насіння та позакореневої обробки вегетуючих форм рослин з метою підвищення їх морозостійкості стає дуже актуальною. У досліджах, проведених в ІПКіК НАН України, вивчена зміна посівних якостей насіння

різних рослин під впливом обробки розчинами кріопротекторів (Строна и др., 1984). На основі кріопротекторів поліетиленоксидів (ПЕО) створені комплексні агрохімічні препарати (ЮПІТЕР, ДОРСАЙ) для позакореневої обробки вегетуючих форм та передпосівної обробки насіння різних культур (Грищенко и др., 2005). Механізм дії цих препаратів і кріопротекторів, які входять до їх складу, повністю ще не з'ясований. Досі ще не проведено дослідження мутагенної дії агрохімічних препаратів на генетичний апарат рослинних клітин з метою виявлення розвитку хромосомних порушень тощо. Але на даний час є нагальна необхідність здійснення генетичного контролю за станом рослин в умовах дії генотоксичних факторів навколишнього середовища.

Метою даної роботи було дослідження впливу передпосівної обробки насіння озимого ріпака та озимої пшениці розчинами комплексних агрохімічних препаратів на основі кріопротекторів на мітотичну активність у їх проростках.

Методика

Експерименти проводили в лабораторних умовах з насінням озимого ріпака (*Brassica napus* L., число хромосом $2n=38$) сорту Дангал і озимої пшениці (*Triticum aestivum* L., число хромосом $2n=42$) сорту Харківська-105. Насіння обробляли розчинами кріопротекторів у концентраціях, які за результатами попередніх експериментів (Дьяконенко та ін., 2009а, б) виявилися найбільш ефективними для цих видів рослин (2% ЮПІТЕР і 3% ПЕО-1500 для ріпака, 1% ДОРСАЙ для пшениці), у кількості 5% від маси насіння. Необроблене насіння використовували як контроль. Потім насіння пророщували на зволоженому фільтрувальному папері у чашках Петрі при температурі $+22^{\circ}\text{C}$ протягом 2 діб (Паушева, 1988). Після цього насіння разом з корінцями фіксували в суміші етилового спирту й оцтової кислоти, зберігали в етиловому спирті. Для забарвлення ядер клітин застосовували реакцію Фольгена, специфічну на ДНК, яка включає гідроліз з хлористоводневою кислотою при $+60^{\circ}\text{C}$ і наступне забарвлення реактивом Шиффа в темряві. Відокремлювали забарвлені кінчики коренів і готували з них давлені препарати.

Метод світлової мікроскопії застосовували для розрахунку кількості клітин у кожній фазі мітозу (профаза, метафаза, анафаза, телофаза) на 1000 клітин. Мітотичний індекс розраховували за відношенням суми кількості клітин в усіх фазах мітозу до загальної кількості клітин. Також визначали кількість мікроядер в інтерфазі, хромосомних аберацій в анафазі і телофазі. Відносний вміст мікроядер визначали за відношенням числа клітин з мікроядрами до загального числа клітин в інтерфазі.

Статистичну обробку результатів вимірювань мітотичного індексу і відносної кількості мікроядер проводили за допомогою програми Statgrap 2.1.

Результати і обговорення

Відомо, що різні хімічні речовини можуть чинити шкідливий вплив на генетичний апарат рослинних клітин, викликаючи хромосомні порушення, які проявляються хромосомними абераціями, утворенням мікроядер тощо. Хромосомні порушення надалі можуть стати причиною загибелі рослин, зниження їх врожайності, погіршення якості продуктів харчування або корму для тварин.

Визначення кількості клітин у фазах мітозу в апікальній меристемі проростків озимих культур дозволило отримати цінну інформацію про вплив обробки насіння ріпака і пшениці агрохімічними препаратами ЮПІТЕР і ДОРСАЙ та кріопротектором ПЕО-1500 на мітотичну активність.

У табл.1 показаний вплив передпосівної обробки насіння озимого ріпака розчинами кріопротектора ПЕО-1500 у концентрації 3% і комплексного препарату ЮПІТЕР у концентрації 2% на мітотичний індекс і відносну кількість мікроядер у клітинах. З таблиці видно, що у клітинах проростків ріпака мітотичний індекс був найвищим після обробки 2% розчином комплексного препарату ЮПІТЕР – 2,08%. Нижчим (1,98%) за ЮПІТЕР був мітотичний індекс після обробки насіння 3% розчином кріопротектора ПЕО-1500, хоча теж перевищував контроль (1%). Результати експерименту дозволяють визначити позитивну дію передпосівної обробки насіння озимого ріпака розчинами кріопротекторів на мітотичну активність у клітинах апікальної меристеми проростків.

Відносна кількість мікроядер у клітинах апікальної меристеми проростків ріпака була незначною як у контролі, так і після обох варіантів обробки. У проростках, вирощених з обробленого насіння, кількість мікроядер (0,02%) виявилася нижчою за контроль (0,1%). При цьому різниця не перевищувала розміру статистичної похибки.

Дослідження відносної кількості хромосомних аберацій продемонструвало, що жодної хромосомної аберації не було як у контролі, так і після обробки насіння ріпака розчинами кріопротекторів.

У табл.2 показаний вплив передпосівної обробки насіння озимої пшениці розчинами комплексного препарату ДОРСАЙ у різних концентраціях (0,5%, 1% і 2%) на мітотичний індекс і

відносну кількість мікроядер у клітинах. Як можна бачити з результатів, у клітинах апікальної меристеми проростків пшениці після обробки насіння цими розчинами мітотичний індекс підвищився ще більше, ніж після обробки насіння ріпака розчинами кріопротектора ПЕО-1500 і препарату ЮПІТЕР. В усіх варіантах обробки насіння пшениці мітотичний індекс був вищим за контроль (0,9%). З трьох концентрацій препарату ДОРСАЙ, які застосовували, максимальну стимулюючу дію (мітотичний індекс 3,2%) препарат виявив у концентрації 1%. Концентрація препарату ДОРСАЙ 1% виявилася більш ефективною, ніж концентрація 0,5% (мітотичний індекс 2,03%) і концентрація 2% (мітотичний індекс 1,9%).

Таблиця 1.

Мітотична активність у клітинах апікальної меристеми проростків ріпака після обробки насіння розчинами препаратів ЮПІТЕР і ПЕО-1500, $M \pm \sigma \pm m$

Середовище	Мітотичний індекс, %	Кількість мікроядер, %
Контроль	$1 \pm 0,3 \pm 0,1$	$0,1 \pm 0,1 \pm 0,05$
ЮПІТЕР 2%	$2,08 \pm 0,3 \pm 0,2$ $p=0,0004$	$0,02 \pm 0,04 \pm 0,02$
ПЕО-1500 3%	$1,98 \pm 0,2 \pm 0,1$ $p=0,0002$	$0,02 \pm 0,04 \pm 0,02$

Примітка: p – достовірність відмінностей у порівнянні з контролем.

Що стосується відносної кількості мікроядер, то вона у клітинах апікальної меристеми проростків пшениці була невеликою як у контролі, так і після всіх варіантів обробки. У проростках, вирощених з обробленого насіння, їх кількість (від 0 до 0,09%) виявилася нижчою за контроль (0,16%). При цьому різниця не перевищувала розміру статистичної похибки. У клітинах деяких проростків мікроядра взагалі не виявлялися.

Таблиця 2.

Мітотична активність у клітинах апікальної меристеми проростків пшениці після обробки насіння розчинами препарату ДОРСАЙ, $M \pm \sigma \pm m$

Середовище	Мітотичний індекс, %	Кількість мікроядер, %
Контроль	$0,9 \pm 0,3 \pm 0,1$	$0,16 \pm 0,15 \pm 0,05$
ДОРСАЙ 0,5%	$2,03 \pm 0,4 \pm 0,1$ $p=0,00001$	$0,08 \pm 0,09 \pm 0,03$
ДОРСАЙ 1%	$3,2 \pm 0,9 \pm 0,3$ $p=0,000006$	$0,09 \pm 0,12 \pm 0,04$
ДОРСАЙ 2%	$1,9 \pm 0,3 \pm 0,1$ $p=0,000002$	0

Примітка: p – достовірність відмінностей у порівнянні з контролем.

Жодної хромосомної аберації не було виявлено як у контролі, так і після обробки насіння пшениці розчинами препарату ДОРСАЙ.

Таким чином, вплив комплексних агрохімічних препаратів на основі кріопротекторів на проростки рослин різних класів (дводольного ріпака і однодольної пшениці) можна пояснити їх стимулюючою дією на рослини за відсутності токсичної дії. Стимулююча дія підтверджується попередніми експериментами (Дьяконенко та ін., 2009а, б), в яких виявилось підвищення енергії проростання за зниженої температури та середньої маси проростків, а також вмісту розчинних вуглеводів у надземній частині рослин після передпосівної обробки насіння розчинами препаратів ЮПІТЕР (2%), ПЕО-1500 (3%) для ріпака, ДОРСАЙ (1%) – для пшениці.

Висновки

Дослідження впливу передпосівної обробки насіння озимого ріпака та озимої пшениці розчинами комплексних агрохімічних препаратів і кріопротектора ПЕО-1500 на мітотичний індекс у клітинах апікальної меристеми проростків показали найвищу мітотичну активність (2,08%) після передпосівної обробки насіння ріпака розчином комплексного препарату ЮПІТЕР (2%). Після обробки розчином кріопротектора ПЕО-1500 (3%) мітотичний індекс (1,98%) теж перевищував контроль (1%).

Найбільш ефективна концентрація препарату ДОРСАЙ для пшениці (1%) підвищує мітотичний індекс до 3,2% у порівнянні з контролем (0,9%).

Застосування для передпосівної обробки насіння даних видів рослин розчинів препаратів ЮПІТЕР, ДОРСАЙ та ПЕО-1500 не викликає хромосомних аберацій або збільшення відносної кількості мікроядер у клітинах апікальної меристеми проростків, що свідчить про відсутність токсичної дії цих сполук на рослини.

Список літератури

Грищенко В.И., Компаниец А.М., Мазалов В.К. и др. Современные достижения криобиологии в создании экологически безопасных препаратов для сельского хозяйства // Экология и здоровье человека. Охрана водного и воздушного бассейнов. Утилизация отходов. Сб. научн. трудов XIII междунар. научно-технич. конф. Под ред. С.В.Разметаева. – Х.: УкрВОДГЕО, 2005. – С. 232–238.

Дьяконенко Г.Ю., Лисак Ю.С., Компанієць А.М. Вплив передпосівного оброблення насіння ріпаку кріопротекторами на вміст розчинних вуглеводів у рослинах і їх морозостійкість // Современные научные проблемы создания сортов и гибридов масличных культур и технологии их выращивания. Сборник тезисов международной конференции. – Запорожье, 2009а. – С. 33–34.

Дьяконенко Г.Ю., Лисак Ю.С., Компанієць А.М. Вплив передпосівної обробки насіння пшениці кріопротекторами на вміст розчинних вуглеводів у рослинах і їх морозостійкість // Холод в биологии и медицине. Тезисы докладов ежегодной конференции молодых ученых. – Харьков, 2009б. – С.31.

Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Колос, 1988. – С. 91–101.

Строна И.Г., Сорокин С.Н., Шраго М.И. Теория и практика предпосевного использования кріопротекторов для повышения надежности культуры озимой пшеницы // Теория и практика предпосевной обработки семян. Сб. науч. тр. Редкол.: И.Г.Строна (отв. ред.) и др. – К.: Южное отделение ВАСХНИЛ, 1984. – С. 70–77.

Представлено: М.А.Бобро / Presented by: M.A.Bobro

Рекомендовано до друку: Т.І.Баєвою / Recommended for publishing by: T.I.Bayeva

Подано до редакції / Received: 02.11.2009.

© Г.Ю.Дьяконенко, А.М.Компанієць, 2009

© G.Yu.Dyakonenko, A.M.Kompaniets, 2009