

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

УДК: 575.224.4

### **Вплив гама-променів на мітотичну активність та частоту мітотичних порушень клітин кореневої меристеми ярих пшениць** О.В.Панкова, В.К.Пузік

*Харківський національний аграрний університет імені В.В.Докучаєва (Харків, Україна)*

У роботі досліджено залежність мітотичної активності та появи хромосомних аберацій у клітинах кореневої меристеми проростків опроміненого насіння від дози гама-опромінення. Показано, що дія гама-променів змінює протікання мітозу, що відображається у порушеннях формування мітотичного апарату, а саме: підвищенні мітотичних індексів, а також збільшенні частоти порушень мітозу на рівні веретена поділу та їх сумарної частоти. Відмічено залежність прояву впливу гама-променів на генетичний апарат ярої пшениці від дози гама-радіації, сорту та виду. Встановлено, що найбільш ефективним індуктором мутацій є доза гама-променів 100–150 Гр.

**Ключові слова:** клітина, гама-опромінення, доза, насіння, коренева меристема, мітотичний індекс, хромосомні аберації.

### **Влияние гамма-лучей на митотическую активность и частоту митотических нарушений клеток корневой меристемы яровых пшениц** О.В.Панкова, В.К.Пузік

В работе исследована зависимость митотической активности и появления хромосомных aberrаций в клетках корневой меристемы проростков облученных семян от дозы гамма-облучения. Показано, что действие гамма-лучей изменяет протекание митоза, что отражается в нарушениях формирования митотического аппарата, а именно: повышении митотических индексов, а также в повышении частоты нарушений митоза на уровне веретена деления и их суммарной частоты. Отмечена зависимость проявления влияния гамма-лучей на генетический аппарат яровой пшеницы от дозы гамма-радиации, сорта и вида. Установлено, что наиболее эффективным индуктором мутаций является доза гамма-лучей 100–150 Гр.

**Ключевые слова:** клетка, гамма-облучение, доза, семена, корневая меристема, митотический индекс, хромосомные aberrации.

### **The influence of gamma-rays on mitotic activity and frequency of mitotic failure of root meristem cells of spring wheat** O.V.Pankova, V.K.Pouzik

The dependence of mitotic activity and chromosome aberrations emergence in cells of root meristem of irradiated seeds on gamma irradiation dose has been studied in this work. It has been revealed that gamma-ray influence changes the course of mitosis that is reflected in disturbances of mitotic apparatus formation, namely: the increase of mitotic indexes as well as the increase of mitosis disturbances frequency at the level of division spindle and their sum frequency. The dependence of manifestation of gamma-ray influence on spring wheat genetic apparatus on gamma-ray dose, cultivar and species has been observed. It has been established that the gamma-ray dose 100–150 Gy is the most effective mutation inductor.

**Key words:** cell, gamma irradiation, dose, seeds, root meristem, mitotic index, chromosome aberrations.

#### **Вступ**

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 та 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. Найбільш ефективно використовується у практичній селекції іонізуюче випромінювання, зокрема гама-промені (Моргун, Логвиненко, 1995; Ларченко, Моргун, 2002; Ларченко та ін., 2002).

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 спектру 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 (Бутенко, 2007).

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

### Матеріали та методи

В якості вихідного матеріалу були взяті представники виду *Triticum aestivum* L. ( $2n=42$ ), яра м'яка пшениця Героїня, та *Triticum durum* Desf. – тверда пшениця Чадо ( $2n=28$ ).

Сухе насіння різних видів пшениці перед посівом обробляли гама-променями, джерелом яких був  $^{60}\text{Co}$ , на установці «Theratron Elit-80» (інтенсивність випромінювача 7442 Кu). Опромінення використовували у дозах: 100 Гр, 150 Гр, 200 Гр, 250 Гр. Як контроль використовували насіння ярої пшениці без обробки.

Оброблене гама-променями насіння пророщували на зволоженому фільтрувальному папері у чашках Петрі у термостаті при температурі 23–25°C протягом 3 діб. Фіксацію корінців здійснювали на 3 день в укусуному алкоголі (фіксатор Кларка). Частоту мітотичних порушень і мітотичну активність (МА) вивчали на давлених препаратах, які фарбували реактивом Шифа (Паушева, 1988). Мітотичну активність встановлювали, аналізуючи 1000 клітин кореневої меристеми, з метою оцінки порушень мітозу – 200 анафаз для визначення частоти клітин з абераціями хромосом. Повторність в досліді 4-разова.

### Результати та обговорення

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 доза гама-променів 100 Гр, 150 Гр, 200 Гр для твердої пшениці Чадо та 100 Гр, 150 Гр для м'якої пшениці Героїня підвищує мітотичну активність клітин кореневої меристеми (рис. 1). Підвищення дози знижує мітотичну активність. Аналогічні результати отримані і іншими авторами (Моргун, Логвиненко, 1995; Дем'яненко та ін., 2005).

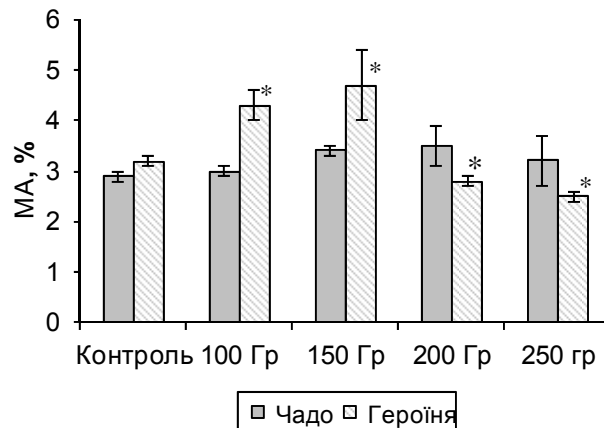
Як відомо, при високих дозах зниження мітотичного індексу викликає пригнічення синтезу ДНК, пов'язане з порушенням роботи матричних систем клітин. При летальних і сублетальних дозах велике значення для ураження клітин має пряма або опосередкована дія радіації на компоненти хроматину. При дії високих доз уражуються 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 ярої пшениці залежить від дози гама-опромінення, сорту та виду. Специфіка генотипу проявляється в різній частоті хромосомних аберацій при однакових дозах мутагену.

Так, у сорту м'якої пшениці Героїня мітотична активність та частота мітотичних порушень вища, ніж у сорту твердої пшениці Чадо. Таким чином, м'яка пшениця Героїня є більш чутливою до дії гама-променів. Також треба відмітити, що у сорту Героїня спостерігається більш різкий ріст МА. Так, у варіанті досліді 100 Гр мітотична активність збільшується на 1,1%, а у варіанті 150 Гр на 1,6% в порівнянні з контролем. І також стрімко падає у варіанті 200, 250 Гр на 0,4 та 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%).

Підвищення мітотичної активності у клітинах кореневої меристеми проростаючого насіння ярої пшениці 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 гама-опромінення зумовлене сильнішим ураженням самих систем відновлення клітин. Імовірно, по мірі того, як дія радіації посилюється, мембранні системи клітинних органел і ендоплазматичного ретикуліуму втрачають свої функціональні якості (гнучкість, еластичність).



**Рис. 1. Мітотична активність клітин кореневої меристеми ярої м'якої пшениці Героїня та твердої пшениці Чудо залежно від дії гама-променів**

*Примітка: \* – є достовірною різницею на 5-процентному рівні.*

Що стосується сорту Чудо, показники МА різних варіантів не мають достовірної різниці. З підвищенням дози гама-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 змінення МА під впливом гама-променів може бути наслідком меншої пластичності сорту в порівнянні з м'якою пшеницею Героїня.

Це свідчить про те, що мітотична активність у меристемах корінців залежить від генотипових особливостей рослин ярої пшениці та дії гама-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 гама-променів. Диференціацію сортів за радіорезистентністю їх насіння пов'язують також з різницею в тонкій структурі організації геному і різницею активності пострадіаційного відновлення. Опромінення може бути пусковим моментом для ланцюга подій у пострадіаційний період (Моргун, Логвиненко, 1995).

У роботі була вивчена залежність кількості та спектра аберацій хромосом від гама-опромінення (табл. 1). У варіанті 200 Гр спостерігали істотне збільшення їх частоти в меристемах корінців ярої пшениці Чудо та у варіантах 100 і 200 Гр – у сорту Героїня.

Як і у випадку мітотичної активності, при розгляданні частоти мітотичних порушень спостерігається сортова залежність. Опромінення насіння твердої пшениці Чудо призводить до зростання частоти мітотичних порушень при підвищенні дози опромінення. У випадку м'якої пшениці Героїня спостерігається падіння даного показника в варіантах досліду 150, 200 та 250 Гр в порівнянні з варіантом досліду 100 Гр. Це може бути пояснено зростанням елімінації клітин з пошкодженнями генетичних структур клітинного ядра (Егоров, 2003; Yamaguchi et al., 2006).

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

Таблиця 1.

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

| Варіанти     | Досліджено клітин, шт. | Частота порушень |      |        |      |         |      | Мікроядра |       |            |       |
|--------------|------------------------|------------------|------|--------|------|---------|------|-----------|-------|------------|-------|
|              |                        | фрагменти        |      | мости  |      | сумарна |      | одне      |       | 2 і більше |       |
|              |                        | клітин           | %    | клітин | %    | клітин  | %    | клітин    | %     | клітин     | %     |
| 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  |

Примітка: \* – є достовірною різниця на 5-процентному рівні.

Таким чином, нами встановлено, що дія гама-променів змінювала протікання мітозу, що відобразилось у порушеннях формування мітотичного апарату, а саме: підвищенні мітотичних індексів, а також у збільшенні частоти порушень мітозу на рівні веретена поділу та їх сумарної частоти. Також була відмічена видова залежність прояву впливу гама-променів на генетичний апарат ярої пшениці. Була встановлено, що найбільш ефективним індуктором мутацій є доза гама-променів 100–150 Гр. Використання інших доз опромінення знижує МА.

#### Список літератури

- Бутенко Р.О. Вплив різних доз і концентрацій мутагенів на частоту мутацій озимої пшениці // Физиология и биохимия культ. растений. – 2007. – Т.39, №4. – С. 326–333. /Butenko R.O. Vplyv riznykh doz i kontsentratsiy mutageniv na chastotu mutatsiy ozymoi pshenytsi // Fiziologiya i biokhimiya kul't. rastenyi. – 2007. – Т.39, №4. – С. 326–333/
- Дем'яненко В.В., Логвиненко В.Ф., Семерунь Т.Б. Вивчення цитогенетичної активності мутагенних чинників на прикладі озимої пшениці // Физиология и биохимия культ. растений. – 2005. – Т.37, №4. – С. 313–319. /Dem'yanenko V.V., Logvinenko V.F., Semerun' T.B. Vyvchennya tsitogenetychnoi aktyvnosti mutagennykh chynnykiv na prykladі ozymoi pshenytsi // Fiziologiya i biokhimiya kul't. rastenyi. – 2005. – Т.37, №4. – С. 313–319/
- Егоров Е.В. Аналогия биологического действия сверхмалых химических и физических доз // Радиация биология. Радиоэкология. – 2003. – Т.43, № 3. – С. 261–264. /Yegorov Ye.V. Analogiya biologicheskogo deystviya sverkhmal'nykh khimicheskikh i fizicheskikh doz // Radiatsiyana biologiya. Radioekologiya. – 2003. – Т.43, № 3. – С. 261–264/
- Ларченко К.А., Моргун В.В. Генетическая активность химических и физических мутагенов в сверхнизких дозах // Экологическая генетика: Мат-лы VIII съезда генетиков и селекционеров республики Беларусь. – Минск, 2002. – С. 369–377. /Larchenko K.A., Morgun V.V. Geneticheskaya aktivnost' khimicheskikh i fizicheskikh mutagenov v sverhnizkikh dozakh // Ekologicheskaya genetika: Mat-ly VIII s'yezda genetikov i selektsionerov respubliky Belarus'. – Minsk, 2002. – С. 369–377/
- Ларченко К.А., Моргун В.В., Хроменко В.О. Ефективність низьких доз мутагенів в індукції селекційно-цінних мутацій кукурудзи // Физиология и биохимия культ. растений. – 2002. – Т.34, № 5. – С. 419–423. /Larchenko K.A., Morgun V.V., Khromenko V.O. Efektyvnist' nyz'kykh doz mutageniv v induktsii selektsiynno-tsinnnykh mutatsiy kukurudzy // Fiziologiya i biokhimiya kul't. rastenyi. – 2002. – Т.34, № 5. – С. 419–423/
- Моргун В.В., Логвиненко В.Ф. Мутационная селекция пшеницы. – Киев: Наук. думка, 1995. – 626с. /Morgun V.V., Logvinenko V.F. Mutatsionnaya selekciya pshenytsy. – Kiev: Nauk. dumka, 1995. – 626s./
- Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Агропромиздат, 1988. – 270с. /Pausheva Z.P. Praktikum po tsitologii rastenyi. – M.: Agropromizdat, 1988. – 270s./
- Yamaguchi H., Morishita T., Degi K. Effect of carbon-ion beams irradiation on mutation induction in rice // Plant Mutation Reports. – 2006. – Vol.1, №1. – P. 25–27.

Представлено: М.Л.Лісиченком / Presented by: M.L.Lisichenko

Рекомендовано до друку: О.Ю.Герман / Recommended for publishing by: Ye.Yu.German

Подано до редакції / Received: 22.09.2010.