

ПРОЛІФЕРАТИВНА АКТИВНІСТЬ ТВІРНИХ ТКАНИН КОРЕНІВ КУКУРУДЗИ ЗА ДІЇ ГЕРБІЦИДУ ТА ГІПЕРТЕРМІЇ

Н. Павлюкова, Л. Богуславська

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара
пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ 49010, Україна
e-mail: milbo@rambler.ru*

Досліджено окрему та сумісну дію гербіциду диметенаміду та підвищеної температури на проліферативну активність меристематичних клітин коренів кукурудзи. Визначено, що досліджувані фактори інгібують ріст коренів унаслідок зниження, насамперед, мітотичної активності меристемних клітин. Встановлено негативний вплив на ріст коренів кукурудзи гербіциду окремо та сумісно з підвищеною температурою протягом усього терміну проростання, який у даному випадку визначався через 24 год гіпертермією, а через 48 год – гербіцидом. У той же час частота різних порушень (вихід аберантних клітин, пікнотичні ядра) в мітотичних клітинах протягом усього періоду проростання визначалася диметенамідом. Аналізуючи зміни індексу аберацій і відсоток клітин із пікнотичними ядрами за групою анеугенних порушень, які спостерігалися в мітотичних клітинах, встановлено, що сумісна дія гербіциду та підвищеної температури збільшує кількість аберантних клітин, а температура – кількість клітин із пікнотичними ядрами.

Ключові слова: кукурудза, меристеми, диметенамід, гіпертермія, мітотична активність, аберації, пікноз.

В умовах поступової зміни клімату актуальними є проблеми формування адаптивних механізмів рослинних організмів у нестабільному середовищі [2, 7, 13, 15]. Відомо, що висока температура повітря, виходячи за межі фонових доз, може мати пошкоджувальну дію практично на всі клітини і тканини рослинного організму [2, 7, 9]. При цьому виживаність рослин, здатність їх зберігати продуктивність у крайніх умовах існування залежать від стійкості молекулярних, клітинних і тканинних систем до температурного впливу. У сучасних умовах існування на живі організми разом з температурними стресами впливають і хімічні агенти антропогенного походження. Наявні літературні дані свідчать про невелику кількість досліджень комбінованого впливу фітотоксикантів на фоні температурних стресів на функціональний стан рослин [11, 15], майже всі вони стосуються фізіолого-біохімічних змін у насінні та проростках сільськогосподарських рослин [14]. В екстремальних умовах середовища найбільш вразливими є меристеми, які забезпечують ріст і розвиток рослин шляхом інтенсивного поділу. У зв'язку з цим визначення стійкості меристем злакових рослин в умовах окремої та комбінованої дії гіпертермії з гербіцидами – інгібіторами проростання насіння на ранніх етапах розвитку є актуальним завданням рослинництва. Його розв'язання буде сприяти розробці способів підвищення стійкості рослин до несприятливих умов існування. Тому метою роботи було дослідити реакції твірних тканин коренів проростків кукурудзи на окрему та сумісну дію стресових факторів.

Матеріали та методи

Об'єктами дослідження слугували апікальні меристеми коренів гібриду кукурудзи (*Zea mays* L.) Кадр 267 МВ. Насіння пророщували в термостаті при 28°C на фільтрувальному папері, змоченому водою. Дводобові проростки кукурудзи піддавали протягом 24 і

48 год дії підвищеної температури (42°C) окремо, а також у комбінації з гербіцидом фронтьєр (діюча речовина – диметенамід – ДМА) у концентрації 5 мг/л. Особливості цитотоксичної дії досліджуваних стресових факторів оцінювали за змінами мітотичного індексу, індексу аберацій, відсотків пікнотичних ядер на тимчасових давлених препаратах за Паушевою [12] та Довгалюком [5, 6]. Згадані цитологічні параметри визначали за допомогою таких формул:

$$MI = \frac{П + М + А + Т}{(П + М + А + Т) + I} \cdot 1000 \text{ ‰},$$

де П, М, А, Т, I – кількість клітин у профазі, метафазі, анафазі, телофазі й інтерфазі; ‰ – проміле.

$$\text{Індекс аберацій} = 100\% \times \frac{\sum \text{мітотичних аберацій}}{\sum \text{клітин на стадіях мітозу}};$$

$$\text{Відсоток пікнозу} = 100\% \times \frac{\sum \text{клітин з пікнотичними ядрами}}{\sum \text{меристемних клітин}}.$$

Отримані цифрові дані обробляли за допомогою t-критерію Стьюдента на 95%-ному рівні значень [10].

Результати і їхнє обговорення

Реакція коренів кукурудзи на дію гербіциду й температури залежала від терміну проростання (табл. 1). Так через 24 год після початку проростання за окремої дії диметенаміду (ДМА) ріст коренів практично не відрізнявся від контрольного значення (зниження на 5%). За окремої дії температури та сумісної дії стресових факторів визначено зниження ростової активності коренів порівняно з контролем на 39 і 46%. Через 48 год проростання спостерігалась інша тенденція: за окремої дії гербіциду ріст коренів залишався майже на рівні контролю. Окрема дія температури давала невеликий стимулюючий ефект (збільшення на 7%).

Таблиця 1

Зміни морфометричних параметрів кореня гібриду кукурудзи Кадр 267 МВ за стресових умов, мм

Термін проростання	Варіант обробки			
	контроль	ДМА, 5 мг/л	42°C	ДМА, 5 мг/л+42°C
24 год	90,0±1,24	85,4±3,43	55,0±1,92	48,3±1,22
48 год	110,2±4,22	104,5±4,07	118,1±4,86	90,7±2,00

За комбінованої дії досліджуваних факторів спостерігали зниження росту на 18% порівняно з контролем (табл. 1).

Оскільки ріст кореня у довжину залежить від інтенсивності поділу клітин і їх переходу до розтягнення та збільшення розмірів, аналіз цих процесів під час впливу токсичних агентів дає змогу зрозуміти причини пригнічення росту кореня [1]. Відомо, що за стресових умов у середовищі пророщування знижується інтенсивність розтягування клітин, які припинили ріст у зоні елонгації. Довжина клітин, які припинили ріст, за дії токсикантів суттєво зменшується порівняно з контрольними проростками [8]. Зміни значень мітотичної активності клітин кореня, які представлені у табл. 2, свідчать про її зниження.

Починаючи з 24 до 48 год відмічалось невелике зниження мітотичної активності за дії ДМА. За сумісної дії гербіциду та підвищеної температури це значення знижується на 16% порівняно з контролем. Через 48 год проростання за окремої дії температури та сумісної дії стресових факторів визначено зниження мітотичного індексу на 18 і 19% відповідно та порівняно до контролю.

Таблиця 2

Мітотична активність (%) клітин кінчика кореня гібриду кукурудзи Кадр 267 МВ за стресових умов

Термін проростання	Варіант обробки			
	контроль	ДМА, 5 мг/л	42°C	ДМА, 5 мг/л+42°C
24 год	987,2±1,0	918,4±1,8	832,8±2,0	834,1±1,4
48 год	992,9±2,5	960,3±3,2	816,3±1,9	806,7±1,8

Як параметр хромосомної нестабільності під час аналізу метафазним і анафазним методом найчастіше визначають частоту аберантних клітин, спектр хромосомних аберацій; іноді аналізують середню кількість аберацій на аберантну клітину або на всі проаналізовані клітини та розподіл цитогенетичних пошкоджень по клітинах [3, 4, 16]. У результаті роботи нами визначено появу хромосомних аберацій, які є свідченням високого негативного впливу діючих стресових факторів і призводять до загибелі клітин (табл. 3). Аналізуючи зміни хромосомних аберацій, визначили їх високий рівень через 24 год проростання за сумісної дії гіпертермії та гербіциду, який несуттєво зменшувався через 48 год. Окрема дія підвищеної температури викликала невелику кількість хромосомних ушкоджень, рівень яких також зменшувався протягом проростання. За окремої дії гербіциду визначено підвищення рівня аберантних клітин з 2,5% через 24 год до 4,5% через 48 год.

Таблиця 3

Індекс аберації хромосом (%) у меристематичних клітинах коренів проростків гібриду кукурудзи Кадр 267 МВ за стресових умов

Варіант обробки	Термін проростання	
	24 год	48 год
Контроль	–	–
ДМА, 5 мг/л	2,5±0,09	4,5±0,18
42°C	1,2±0,04	0,8±0,01
ДМА, 5 мг/л+42°C	6,9±0,25	4,0±0,13

Аналіз відсотка клітин з пікнотичними ядрами показав, що найбільший негативний вплив на рослинні кореневі меристеми здійснює гіпертермія через 24 год. Через 48 год цей показник продовжував знижуватися (табл. 4). Така сама тенденція характерна і за сумісного впливу стресових факторів. Дія гербіциду відбувалася трохи за іншою схемою: через 24 год проростання у стресових умовах відсоток клітин з пікнотичними ядрами становив 2,8%, а через 48 год він підвищився до 6,4%.

Таблиця 4

Відсоток клітин з пікнотичними ядрами (%) у меристематичних клітинах коренів проростків гібриду кукурудзи Кадр 267 МВ за стресових умов

Варіант обробки	Термін проростання	
	24 год	48 год
Контроль	–	–
ДМА, 5 мг/л	2,8±0,09	6,4±0,10
42°C	44,6±1,94	32,2±1,40
ДМА, 5 мг/л+42°C	28,8±2,40	23,2±1,40

Таким чином, у результаті роботи встановлено, що найбільший негативний вплив на ріст коренів кукурудзи здійснюють гербіцид окремо та сумісно з підвищеною температурою протягом усього терміну проростання. Негативний вплив у даному випадку визначався через 24 год гіпертермією, а через 48 год – гербіцидом, у той час як частота різних порушень (вихід аберантних клітин, пікнотичні ядра) у мітотичних клітинах протягом усього періоду проростання визначалася диметенамідом.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бессонова В. П. Клеточный анализ роста корней *Lathyrus odoratus* L. при действии тяжелых металлов // Цитология и генетика. 1991. Т. 25. №6. С. 18–22.
2. Вінниченко О. М., Більчук В. С., Філонік І. О. та ін. Фізіолого-біохімічні аспекти адаптації сільськогосподарських рослин до комплексної дії абіотичних факторів середовища. Д.: Нова ідеологія, 2011. 224 с.
3. Гераськин С. А., Дикарев В. Г., Дикарева Н. С. Влияние сочетанного радиоактивного и химического (тяжелые металлы, гербицид) загрязнения на выход цитогенетических нарушений в интеркалярной меристеме ярового ячменя // Радиационная биология. Радиоэкология. 2002. Т. 42. № 4. С. 369–383.
4. Горювая А. І. Цитогенетична оцінка мутагенної дії хлориду кадмію і хлориду алюмінію та модифікуючої дії селеніту натрію в корневих меристемах *Pisum sativum* L. // Цитология и генетика. 1999. Т. 33. № 3. С. 52–56.
5. Довгалик Л. И., Калиняк Т. Б., Блюм Я. Б. Оценка фито- и цитотоксической активности соединений тяжелых металлов и алюминия с помощью корневой апикальной меристемы лука // Цитология и генетика. 2001. Т. 35. № 1. С. 3–7.
6. Довгалик Л. И., Калиняк Т. Б., Блюм Я. Б. Цитогенетические эффекты солей токсических металлов в клетках апикальной меристемы корней проростков *Allium cepa* L. // Цитология и генетика. 2001. Т. 35. № 2. С. 3–9.
7. Жук О. І., Капустян А. В. Захисна функція антиоксидантних ферментів пшениці в умовах високих температур // Сучасні проблеми біології, екології та хімії (Запоріжжя, 2007). Т. 2. С. 546–548.
8. Жук О. І., Григорюк І. П. Динаміка мітозу в меристемах пшениці після дії посухи // Физиология и биохимия культурных растений. 2003. Т. 35. № 1. С. 3–11.
9. Косаківська І. В., Блюм Д. А., Устінова А. Ю., Деміревська Н. А. Вплив температурних стресів на кількісні та якісні характеристики білків ріпаку *Brassica Napus* Var. *Oleifera* // Физиология и биохимия культурных растений. 2011. Т. 43. № 6. С.492–497.
10. Лакін Г. Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
11. Мордерер Є. Ю. Підвищення вибіркової фітотоксичності у сумішах гербіцидів // Физиология и биохимия культурных растений. 2001. Т. 33. № 3. С. 251–255.
12. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений. М.: Агропромиздат, 1988. 271 с.
13. Россихина Г. С. Система антиоксидантного захисту коріння кукурудзи в разі адаптації до комбінованої дії гербіцидів та ґрунтової посухи // Вісн. Дніпропетр. ун-ту. Сер. біол., екол. 2005. Вип. 3/2. С.164–168.
14. Хроміх Н. А., Вінниченко А. Н. Особенности накопления и распределения ацетохлора в гибридах кукурузы в процессе прорастания // Вісн. Дніпропетр. ун-ту. Сер. біол., екол. 2000. Т. 1. В. 8. С. 122–126.
15. Шадчина Т. М., Стороженко В. А., Лихолат Д. А. Влияние почвенной засухи и засоления на фотосинтез и параметры индукции флуоресценции листьев яровой пшеницы // Физиология и биохимия культурных растений. 2004. Т. 36. № 6. С.520–527.
16. Sevane A. I., Dulout F. N. Genotoxic ability of cadmium, chromium and nickel salts studied by kinetochore in the cytokinesis-blocked micronucleus assay // Mutat. Res. 2001. Vol. 490. P. 99–106.

Стаття: надійшла до редакції 30.11.14

доопрацьована 28.05.15

прийнята до друку 10.06.15

**PROLIFERATIVE ACTIVITY OF MAIZE ROOTS MERISTEMS
UNDER THE ACTION OF HERBICIDES AND HYPERTHERMIA****N. Pavlyukova, L. Boguslavska**

*Oles Honchar National University of Dnipropetrovsk
72, Gagarin Ave., Dnipropetrovsk 49010, Ukraine
e-mail: milbo@rambler.ru*

It was investigated the separate and compatible action of herbicide dimethenamid and the elevated temperature on the proliferative activity of meristematic cells of maize roots. It was determined that the studied factors inhibit root growth due to decreased primarily mitotic activity of meristem cells. It was established the negative influence of herbicide separately and in conjunction with elevated temperature on growth of root maize throughout the period of germination, which in this case was determined after 24 hours by hyperthermia, and after 48 hours – by herbicide. At the same time the frequency of various violations (output of aberrant cells, pyknotic nuclei) in mitotic cells during the whole germination period was determined by dimethenamid. It has been defined a level of chromosomal instability which is largely determined by the influence of dimethenamid. Analyzing the changes in aberrations index and the percentage of cells with pyknotic nuclei for the group of aneuploid violations that were observed in mitotic cells is found that the combined effect of herbicide and high temperature increases the number of aberrant cells, and temperature – the number of cells with nuclei pyknotic.

Keywords: maize, meristem, dimethenamid, hyperthermia, mitotic activity, aberrations, pyknosis.

**ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ
КОРНЕЙ КУКУРУЗЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ГЕРБИЦИДА И ГИПЕРТЕРМИИ****Н. Павлюкова, Л. Богуславская**

*Днепропетровский национальный университет имени Олеса Гончара
пр. Гагарина, 72, Днепропетровск 49010, Украина
e-mail: milbo@rambler.ru*

Исследовано влияние гербицида диметенамид отдельно и в комплексе с высокой температурой на пролиферативную активность меристематических клеток корня кукурузы. Установлено, что исследуемые факторы ингибируют рост корней вследствие снижения, прежде всего, митотической активности меристематических клеток. Установлено негативное влияние на рост корней кукурузы гербицида отдельно и совместно с повышенной температурой на протяжении всего периода прорастания, которое в данном случае определялось через 24 часа гипертермией, а через 48 часов – гербицидом. В то же время частота разных нарушений (абберантные клетки, пикнотические ядра) в митотических клетках на протяжении всего периода прорастания определялась диметенамидом. Анализ изменений индекса аббераций и процента клеток с пикнотическими ядрами по группе анеуплоидных нарушений, которые наблюдались в клетках меристемы, показал, что совместное действие гербицида и гипертермии увеличивает количество абберантных клеток, а температура отдельно – количество клеток с пикнотическими ядрами.

Ключевые слова: кукуруза, меристемы, диметенамид, гипертермия, митотическая активность, абберации, пикноз.