



УКРАЇНА

(19) UA (11) 34097 (13) A

(51) 6 A01H1/04

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПІДВИЩЕННЯ АКТИВНОСТІ МІТОЗУ У АМАРАНТА

(21) 99063026

(22) 02.06.1999

(24) 15.02.2001

(33) UA

(46) 15.02.2001, Бюл. № 1, 2001 р.

(72) Гопцій Тетяна Іванівна, Криворученко Ніна Іванівна, Криворученко Ольга Миколаївна

(73) Харківський державний аграрний університет

(57) Спосіб підвищення активності мітозу у амаранта який включає пророщування насіння, відбір корінців для досліджень, **відрізняється** тим, що дослідження проводять при температурі 30 - 35°C на протязі 2-3 діб до досягнення корінцями довжини 1,0-1,5 см, а матеріал для досліджень відбирають в денний час.

Винахід відноситься до галузі сільського господарства, а саме до селекції та генетики сільськогосподарських рослин.

Амарант - цінна кормова, їстівна і лікарська культура. Однак його широке розповсюдження в Україні поєднане з певними труднощами, одними з яких є відсутність сортів, які відповідні до умов зони і напрямку використання.

Проведені нами в 1990-1996 рр. дослідження показали, що цінні за господарсько-корисними ознаками форми можна виділити з популяції *Amaranthus hybridus* шляхом проведення індивідуального і масового добору, а також шляхом використання мутагенних факторів.

Однак, проводячи дослідження з вивчення впливу мутагенів на ріст і розвиток рослин амаранту, ми зіткнулися з труднощами в дослідженні чинників, які впливають на активність протікання мітозу у амаранта.

Відомо, що за активністю протікання мітозу в корінцях рослин судять про активність ростових процесів в рослинному організмі.

Основним показником активності протікання мітозу є мітотичний індекс, котрий характеризується відношенням клітин, які знаходяться в мітозі, до загального числа клітин вивчаємої тканини. Мітотичний індекс (MI) виражають в проміле (‰) і визначають за формулою:

$$MI = \frac{(П + М + А + Т)}{(І + П + М + А + Т)} \times 1000 \quad ,$$

де

П - число клітин в профазі;

М - число клітин в метафазі;

А - число клітин в анафазі;

Т - число клітин в телофазі;

І - число клітин в інтерфазі.

Відомий спосіб визначення характеру проті-

кання мітозу в корінцях сільськогосподарських рослин передбачає пророщування насіння при температурі 23 - 25°C на протязі 24-40 годин до досягнення корінцями довжини 0,1-2,0 см в залежності від культури. При цьому для досліджень корінці відбирають у вечірній або нічний час (див. кн. Абрамова З.В. Практикум по генетике. - М.: Агропромиздат, 1992. - 233 с.)

Однак при використанні відомого способу при вивченні протікання мітозу у амаранта пророщування при температурі 20 - 25°C приводило до уповільнення ділення меристематичних клітин і зниження мітотичної активності в вечірні і нічні часи.

В основу винаходу поставлена мета активізувати процес протікання мітозу у амаранта шляхом зміни умов пророщування.

Поставлена задача вирішується тим, що насіння амаранту пророщують при температурі 30 - 35°C на протязі 2-3 діб до досягнення корінцями довжини 1,0-1,5 см, а матеріал для досліджень відбирають в денний час. Для здійснення способу відбирають насіння амаранту, розкладають в чашки Петрі на вологу фільтровальну бумагу та розташовують в термостаті при температурі 30 - 35°C. По закінченні другої-третьої діб пророщування проводять виміри довжини корінців. При досягненні корінцями довжини 1,0-1,5 см матеріал відбирають близько 12 години та використовують для подальших досліджень.

Фіксацію корінців проводять на протязі 12 годин в фіксаторі Кларка. Після цього корінці промивають 70% спиртом та тримають в 70% спирті в холодильнику. Забарвлення клітин проводять шляхом поступового проникнення барвника, для чого корінці залишають в розчині ацетокарміну на 4-5 діб.

Для розчину міжклітинної речовини використо-

(19) UA (11) 34097 (13) A

вують мацерацію тканин в 45% розчині соляної кислоти. Досліди проводять за допомогою світлових мікроскопів "Біолам" або "Біолам-1".

Для цього проводять підрахунок загальної кількості клітин та клітин в стані мітотичної активності в 10 полях зору. По кожному варіанту досліду готують щонайменше 10 тимчасових давлених препаратів. За вказаною вище формулою розраховують мітотичний індекс (MI), який характеризує активність процесів проліферації в меристематичних тканинах корінців.

Як видно з даних табл. 1, пророщування насіння при температурі 35°C найбільше сприяє активізації протікання мітозу, на що вказує найбільша кількість клітин в зоні ділення - 410 та найвищий мітотичний індекс - 41%. Також досить висока мітотична активність у варіанті з температурою пророщування 30°C: 350 мітотичних клітин та MI - 35%. Значно менша кількість клітин в стані ділення (140) та мітотичний індекс (14%) спостеріг іється при температурі пророщування 25°C. Температура пророщування 20°C дає найменшу кількість клітин, що діляться, - 20, а мітотичний індекс в цьому варіанті становить лише 2%. З іншого боку, підвищення температури до 40°C також знижує активність мітозу - 100 мітотичних клітин та MI - 10%.

Така залежність у варіантах з - температурою пророщування нижче або вище 30 - 35°C свідчить про уповільнення процесів поділу клітин та зниження мітотичної активності.

Крім того, нами було встановлено, що характеру протікання мітозу у амаранта притаманна відповідна періодичність. На наведеному графіку (фіг. 1) чітко простежується залежність активності мітозу від часу доби, яка описується кривою з однією вершиною. На відріжку часу, представленому на графіку, в д 16 години другої доби пророщування до 12 години третьої доби відбувається рівно-

мірний підйом клітинного поділу. Це свідчить, що в денні години третьої доби пророщування спостерігається найбільше, мітотична активність. З 12 до 16 години третьої доби пророщування спостерігається рівномірний спад проліферативної активності клітин.

На фіг. 2 відображено співвідношення фаз мітозу на протязі третьої доби пророщування при температурі 35°C. Так, починаючи з 9 години максимальна кількість мітотичних клітин знаходиться в профазі, в той час як телофазні клітини повністю відсутні, що свідчить про початок процесів мітотичного поділу. Близько 16 години спостерігається відсутність профазних клітин, тоді як кількість телофаз максимальна. Все це підтверджує притаманність амаранту добової періодичності мітозу. Розподіл метафаз та анафаз на даному відріжку часу досить рівномірний, причому їх максимум спостерігається о 16 годині. Мітотично активні клітини рівномірно розподіляються по всіх фазах мітотичного циклу близько 12 години.

Вивчення впливу довжини корінця на активність протікання мітозу у амаранта показало, що оптимальна довжина становить 1,0-1,5 см. Корінці більшої 1,5 см або меншої 1,0 см довжини відрізняються недостатньою кількістю клітин зони активного ділення і непридатні для проведення досліджень (табл. 2).

Мітотичний Індекс у *Amaranthus hybridus* в залежності від довжини корінця, температура пророщування 35°C.

Таким чином, при проведенні цитологічних досліджень меристематичних клітин корінців амаранта оптимальними умовами є: пророщування насіння при температурі 30 - 35°C на протязі 2-3-х діб, добір корінців для досліджень в 12 годин дня, довжина корінців 1,0-1,5 см.

Таблиця 1

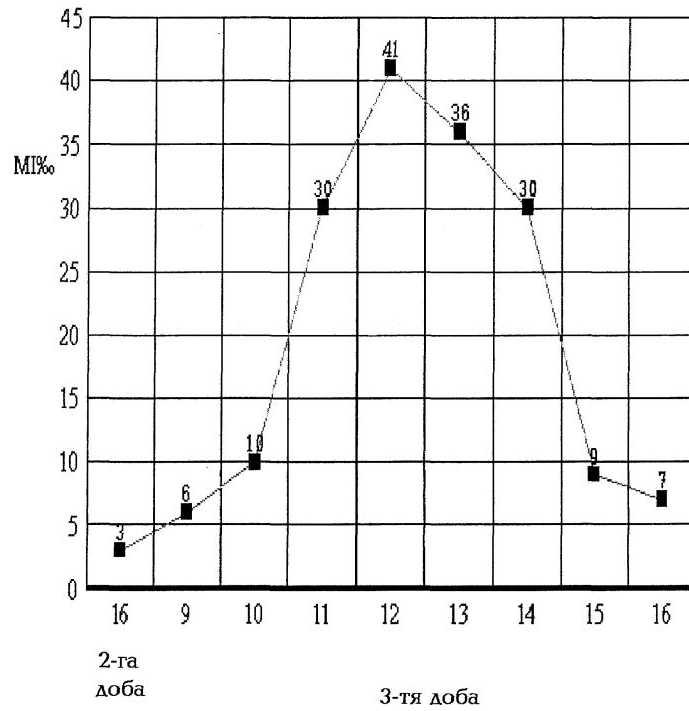
Мітотичний індекс у *Amaranthus hybridus* в залежності від температури пророщування (3-тя доба)

Температура пророщування	Проглянуто клітин	Число клітин в зоні ділення					MI %
		всього	профаза	метафаза	анафаза	телофаза	
20 °C	10000	20	10	10	0	0	2
25 °C	10000	140	40	60	30	10	14
30 °C	10000	350	90	120	100	20	35
35 °C	10000	410	70	160	110	70	41
40 °C	10000	100	30	30	35	5	10

Таблиця 2

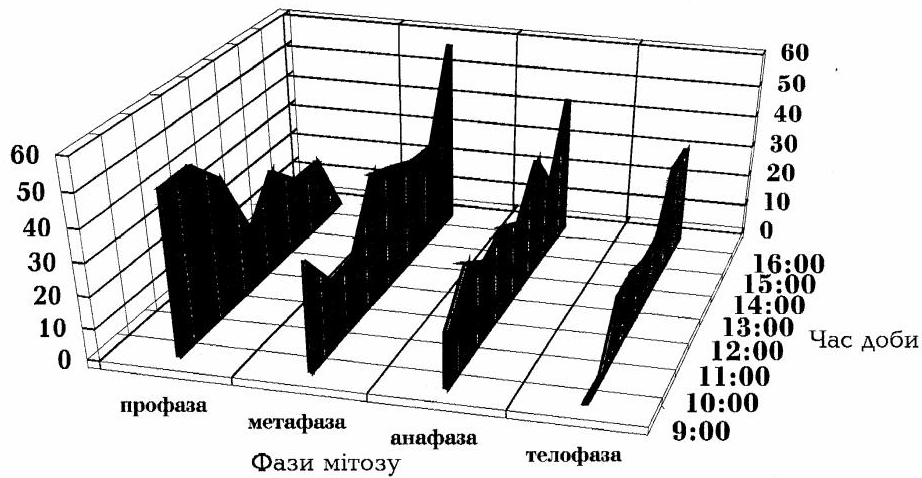
Мітотичний індекс у *Amaranthus hybridus* в залежності від довжини корінця, температура пророщування 35°C

Довжина корінця, см	Проглянуто кліток	Число клітин в зоні ділення					MI %
		всього	профаза	метафаза	анафаза	телофаза	
0,5	1000	15	3	10	2	0	1,5
1 - 1,5	1000	410	70	160	110	70	41
2,0 - 2,5	1000	150	30	40	20	60	35



Фіг. 1

% від загальної кількості проглянутих клітин



Фіг. 2

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26
(044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку _____ 2001 р. Формат 60x84 1/8.
Обсяг _____ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. _____

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.
(044) 268-25-22