



МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІД

видається під
відповідальністю
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ ТИМЧАСОВИХ ДАВЛЕНИХ ПРЕПАРАТІВ З КОРИНЦІВ АМАРАНТУ

(21) 99094964

(22) 07.09.1999

(24) 15.03.2001

(46) 15.03.2001, Бюл. № 2, 2001 р

(72) Голцій Тетяна Іванівна, Воронков Микола Федорович, Криворученко Ніна Іванівна, Криворученко Ольга Миколаївна

(73) ХАРКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ В.В. ДОКУЧАЄВА

(57) Спосіб отримання тимчасових давлених препаратів з корінців амаранту, який складається з добору матеріалу для досліджень, фіксації та його забарвлення, відрізняється тим, що матеріал фіксують на протязі 12 годин, а забарвлення проводять в розчині ацетокарміну на протязі 4–5 діб шляхом поступового проникнення барвника в клітини.

Винахід відноситься до галузі цитології і може використовуватись при дослідженні селекційного матеріалу

Амарант – цінна кормова, харчова та лікарська культура. Однак широке розповсюдження культури в Україні пов'язане з певними труднощами, однією з яких є відсутність сортів, які відповідають умовам зони та напрямку використання. Серед вивчених видів амаранту особливий інтерес для виробництва та селекційної роботи може становити *A. hybridus*, який відрізняється білим насінням, більш коротким періодом вегетації, неможливістю до умов вирощування. Проведені в 1990–1996 рр. дослідження показали, що цінні за господарсько-цінними ознаками форми можна виділити з цієї популяції шляхом проведення індивідуального та масового добору Крім того, використання хімічних мутагенів (етиленмін в концентрації від 0,001 до 0,5%, гамма-промені в дозі 10000–40000 Р) дозволяє значно посилити формоутворюючі процеси та отримати цінний вихідний матеріал для практичної селекції.

Однак, проводячи дослідження з вивчення впливу мутагенних чинників на характер протікання мітозу в корінцях амаранту з метою виявлення ефективних доз впливу, ми зіштовхнулись з труднощами отримання тимчасових давлених препаратів у цієї культури. Відомий спосіб отримання тимчасових давлених препаратів складається з добору матеріалу, фіксації та його забарвлення.

За відомим способом фіксатора Кларка. Матеріал використовують в фіксаторі від 2 до 12 годин. Іноді в ньому тримають матеріал при температурі 0–3°C (див. З.П. Паушева Практикум по цитології рослин. – М.: Колос, 1980. – С. 303).

Забарвлюють відібраний матеріал при підігріві. Для цього корінець розміщують на предметному склі в краплині ацетокарміну та підігрівають на полум'ї горілки, не допускаючи кипіння ацетокарміну (див. З.В. Абрамова Практикум по генетике. – М.: ВО "Агропромиздат", 1992. – 223 с.).

Однак відомий спосіб отримання тимчасових давлених препаратів не може бути використаний при дослідженні корінців амаранту, тому що забарвлення корінців амаранту розчином барвника шляхом підігріву викликає помутніння цитоплазми клітин, що ускладнює проведення мікроскопічних досліджень (табл. 1).

Для нижчих тканин корінців амаранту має значення ще й тривалість фіксації в фіксаторі Кларка. Фіксація менше та більше 12 годин впливає на чіткість та якість зображення отримуваних препаратів (табл. 2).

В основу винаходу поставлена задача удосконалити спосіб отримання тимчасових давлених препаратів з корінців амаранту шляхом зміни умов фіксації та забарвлення.

За способом, який пропонується нами, фіксацію корінців в фіксаторі Кларка проводять 12 годин, що дає можливість отримати чітке та ясне зображення препаратів.

Забарвлення клітин проводять шляхом поступового проникнення барвника (для цього корінець залишають в розчині ацетокарміну на 4–5 діб), що дозволяє чітко розглянути елементи клітини та не викликає помутніння цитоплазми.

Приклад конкретного виконання:

Дослідження були проведені в 1994–1996 рр. в лабораторних умовах.

Насіння амаранту *A. hybridus* пророщували на протязі 3-х діб з метою встановлення опти-

мального часу доби для проведення фіксації корінці фіксували кожну годину. Перед фіксацією корінці добре промивали в дистильованій воді. В якості фіксатора використовували фіксатор Кларка з метою визначення оптимальної експозиції обробки фіксацію проводили на протязі 12 годин. Після цього корінці промивали 70% спиртом та тримали в 70% спирт в холодильнику. Для приготування

тимчасових давлених препаратів в якості барвенка використовували ацетокармін. При цьому вивчали два способи забарвлення препаратів – з підігрівом та без підігріву.

Для розчину м'якштинної речовини використовували мацерацію тканин в 45% розчині соляної кислоти. Дослідження були проведені з використанням світлових мікроскопів "Біолам" та "Біолам-ІГ".

Таблиця 1

Вплив способу забарвлення ацетокарміном на якість зображення елементів клітин корінців амаранту при приготуванні тимчасових давлених препаратів

Спосіб забарвлення	Чіткість зображення
підігрів в ацетокарміні	елементи клітини не чіткі
забарвлення шляхом поступового проникнення барвенка	
1–3 доби	елементи клітини слабо-продіаляються
4–5 доби	елементи клітини чіткі
6–8 доби	те саме

Таблиця 2

Вплив тривалості фіксації на чіткість зображення тимчасових давлених препаратів, які приготувані з корінців амаранту

Тривалість фіксації матеріалу, год	Чіткість зображення
2	мутна
6	середня
12	чітка
18	чітка в центрі, краї розпливчасті
24	деструкція елементів клітини

Тираж 50 екз.

Відкрите акціонерне товариство «Патент»
Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101
(03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03