

РЕАКЦІЯ МІТОТИЧНОГО АПАРАТУ СОРТІВ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ НА ДІЮ ДЕЗОКСИНІВАЛЕНОЛУ

Л.М. Нежигай, аспірантка*; **Т.М. Чеченева**, доктор біологічних наук
Національний університет біоресурсів і природокористування України

Н.К. Куцоконь, кандидат біологічних наук
Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАНУ

*Проаналізовано вплив дезоксиніваленолу на мітотичну активність клітин кореневих меристем чотирьох сортів озимої м'якої пшениці *Triticum aestivum* L. Показано зниження мітотичної активності і відмінності у відносній тривалості фаз мітозу під впливом токсину.*

Ключові слова: пшениця м'яка озима, *Triticum aestivum* L, *Fusarium* Link., мікотоксини, мітоз.

Види грибів роду *Fusarium* Link., що вражують сорти озимої м'якої пшениці *Triticum aestivum* L. продукують багато різних мікотоксинів. Найбільш дослідженими з них є група трихотеценових мікотоксинів (ТТМТ), основними продуцентами яких є *F. culmorum* Sacc., *F. equiseti* (Corda) Sacc., *Fusarium graminearum* Schwabe (*G. Zeae* (Schwein.) Petch), *F. poae* (Peck) Wollenw., *F. sambucinum* Fuck. (*G. pulicaris* (Fr.) Sacc.), *F. solani* (Mart.) Sacc. та *F. sporotrichioides* Sherb. Гостра фітотоксичність трихотеценів і наявність їх у тканинах рослин уражених *Fusarium* ssp., свідчить про їх важливе значення в патогенезі фузаріозів.

Численними дослідженнями з використанням мутантних штамів фузаріїв з дезактивованим геном *Tri5*, що контролює синтез трихотеценів, показано характерне зниження вірулентності таких фенотипів порівняно зі штамми дикого типу [4, 5, 9]. Відзначено взаємозв'язок між стійкістю сортів

* Науковий керівник – доктор біологічних наук Т.М. Чеченева

пшениці проти фузаріозу колоса та толерантністю до мікотоксинів фузарієвих грибів на рівні мікроспор, калусів, проростків [8].

Трихотецени здатні пригнічувати біосинтез протеїнів та полінуклеотидів у клітинах еукаріот. Серед них є інгібітори ініціації (Т-2, діацетоксисцирпенол, ніваленол, 4-ацетилніваленол, НТ-2, фузаренон-Х) та елонгації/термінації (дезоксиніваленол, триходермін, кротоцин, верукарол) [1].

Для рослин найтоксичнішими серед трихотеценів є дезоксиніваленол (ДОН) та 3-ацетилдезоксиніваленол, що пригнічують ріст кореневої системи і колеоптиле проростків. Навіть за надзвичайно низьких концентрацій вони спричиняють в'янення, хлороз, некроз. Фітотоксична дія ДОНу полягає у зниженні регенераційної здатності калусів та енергії проростання насіння різних видів. Механізмом указаних ефектів є пригнічення мітотичної активності клітин під дією трихотеценів [6, 7, 8] та збільшення частоти хромосомних аберацій [7].

Мета дослідження – встановлення наявності/відсутності реакції різних сортів озимої м'якої пшениці на дію ДОНу.

Матеріали і методи досліджень. Вплив дезоксиніваленолу на меристеми коренів озимої пшениці вивчали на проростках сортів Ятрань 60, Білоцерківська напівкарликова, Колумбія, Подолянка. Насіння для досліджень було надано директором ІФРГ НАНУ академіком В.В. Моргуном. Однодобові проростки інкубували за концентрації токсину 5 мкг/мл (контроль – вода), впродовж 48 годин за температури 25°C. Фіксували кінчики корінців у фіксаторі Кларка. Мацерували меристеми у 1*n* HCl, фарбували 2%-вим ацетоорсеїном. Цитологічні дослідження проводили на тимчасових давлених препаратах, за збільшення $\times 400$ з використанням світлового мікроскопа. Розраховували величину мітотичного індексу (МІ) і відносну тривалість кожної з фаз мітозу [2]. Математичну обробку отриманих результатів здійснювали методом дисперсійного аналізу з використанням MS Excel 2003 [3].

Результати досліджень та їхнє обговорення. У всіх дослідних варіантах відзначено зниження мітотичного індексу під впливом ДОН порівняно з «Наукові доповіді НУБіП» 2010-6 (22) http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2010_6/10nlmsww.pdf

контролем. Водночас вираженіші відмінності спостерігали в сортів Подолянка та Ятрань 60. У цілому серед контрольних варіантів та під впливом ДОН найвищу мітотичну активність відзначено в меристемах сорту Ятрань 60, а найнижчу – в Білоцерківській напівкарликової. Найвищий ступінь її пригнічення порівняно з відповідним контролем, спостерігали в сорту Ятрань 60 – 48,12% (табл., рис.1).

Мітотичний індекс кореневих меристем озимої м'якої пшениці.

Сорт	Мітотичний індекс, ‰		Ступінь пригнічення мітотичної активності, %
	Під впливом ДОН, 5 мкг/мл	Контроль	
Білоцерківська напівкарликова	33,99*	54,67	37,83
Колумбія	38,47*	59,37	35,21
Ятрань 60	45,39*	87,49	48,12
Подолянка	41,59*	71,00	41,43

*Достовірне відхилення від контролю при $P_{0,05}$.

Під впливом ДОН мітотичний індекс найменше знижувався в сорту Колумбія — на 35,21%. Можливо це пов'язано зі здатністю рослин цього сорту обмежувати негативний вплив токсину.

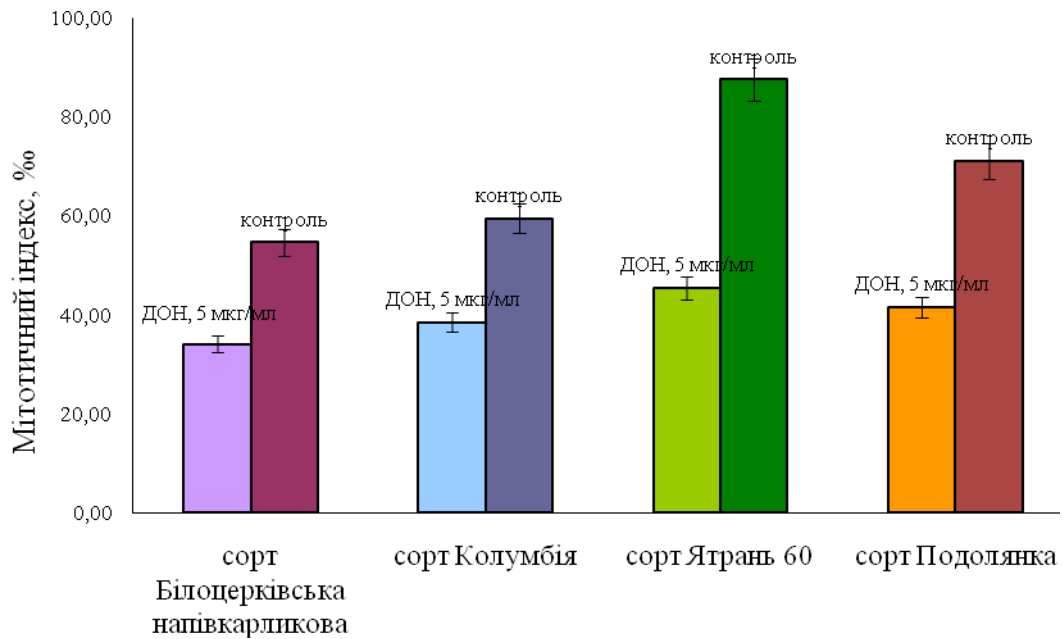


Рис 1. Мітотична активність клітин кореневих меристем озимої м'якої пшениці різних сортів

Відносна тривалість кожної з фаз мітозу в контролі та у варіантах з ДОН, 5 мкг/мл представлена на рис. 2 – 5. У меристемах коренів сорту Білоцерківська напівкарликова під впливом токсину пригнічується активність мітозу в основному на стадії профазі, кількість клітин у цій фазі зростає майже вдвічі (з 26,36 до 43,97%).

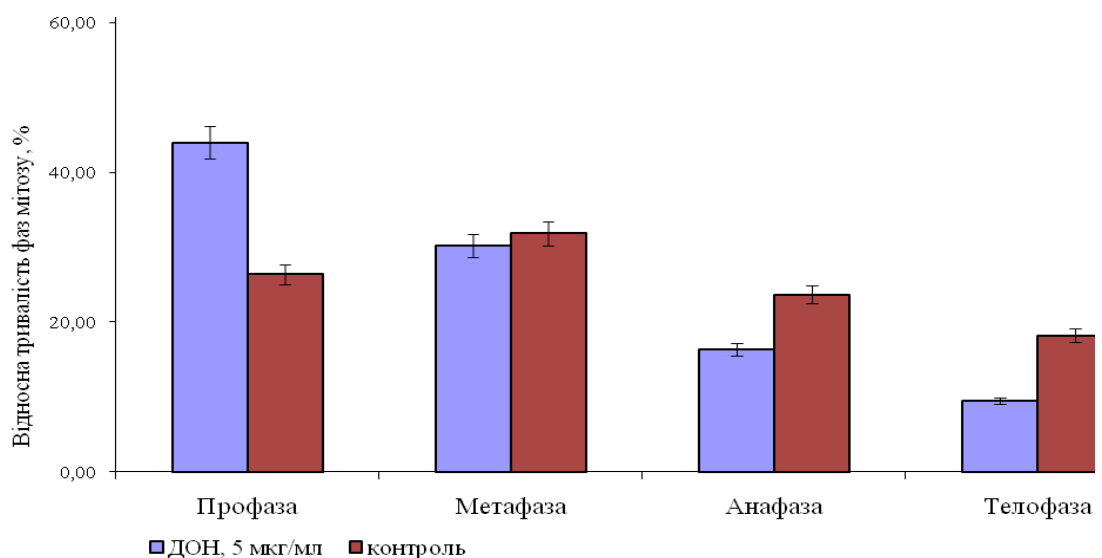


Рис. 2. Відносна тривалість фаз мітозу в сорту Білоцерківська напівкарликова.

Зменшення кількості клітин у мета-, ана- та телофазі, порівняно з контролем, свідчить про порушення в роботі мікротрубочок веретена поділу.

Аналогічно в сорту Подолянка кількість клітин на стадії профазі зростає від 25,31 (контроль) до 61,18% (див. рис. 3). Як і у попередньому випадку, зменшувалась відносна тривалість решти фаз.

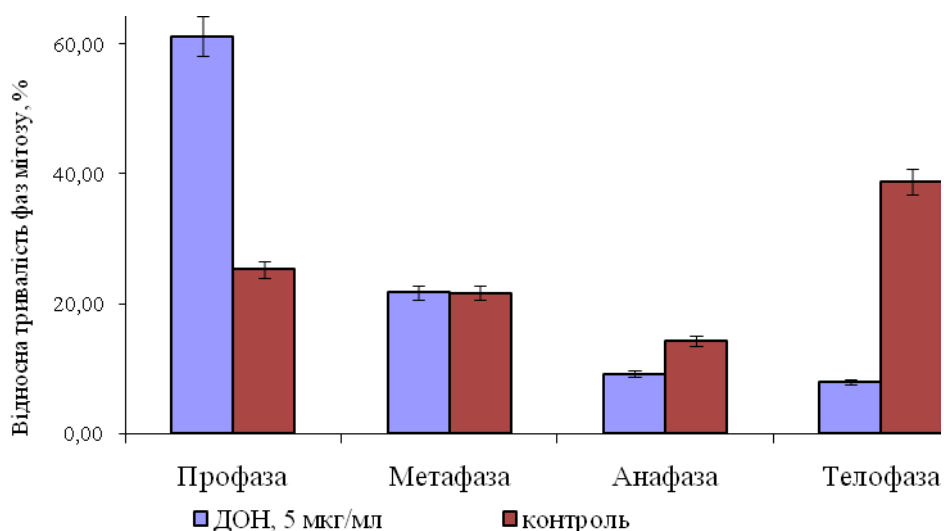


Рис. 3. Відносна тривалість фаз мітозу в сорту Подолянка.

У сорту Ятрань 60 спостерігали зниження відносної тривалості профазі з 35,63 до 30,52% та зростання кількості клітин на стадіях мета- (з 20,00 до 35,71%) та анафазі (з 14,64 до 21,43%).

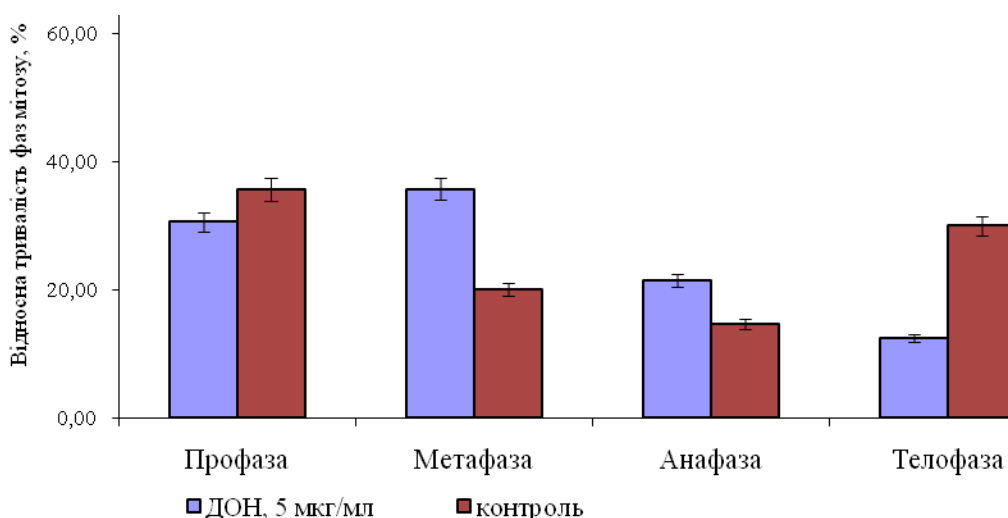


Рис. 4. Відносна тривалість фаз мітозу в сорту Ятрань 60.

У сорту Колумбія, як і у сортів Подолянка та Білоцерківська напівкарликова за дії дезоксиніваленолу відбувалося різке зростання відносної тривалості профазі — 40,46% порівняно з 23,78% у контролі. Суттєве пригнічення мітозу відзначили також на стадії метафази (38,17 та 20,00% у контролі)

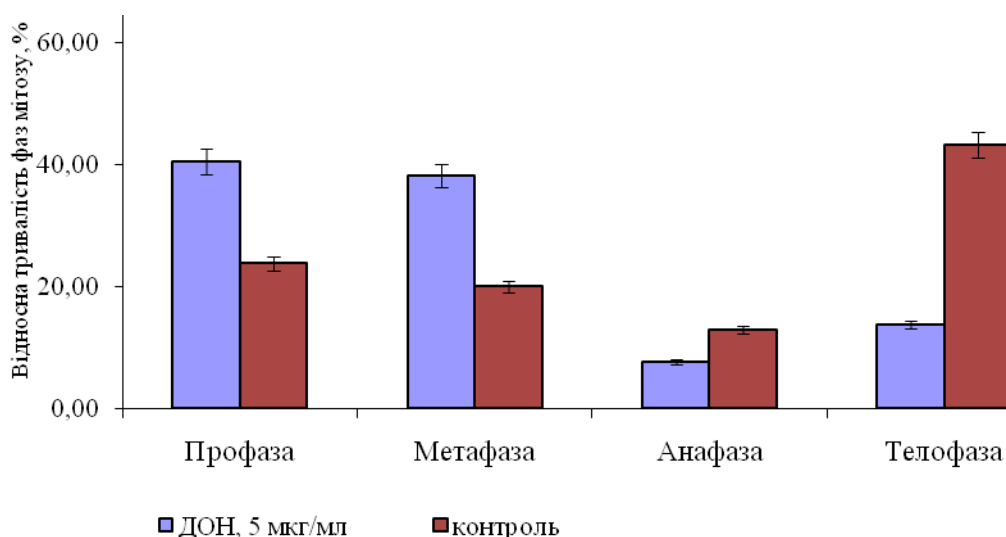


Рис. 5. Відносна тривалість фаз мітозу в сорту Колумбія.

Загалом у всіх сортів відзначено відхилення відносної тривалості фаз мітозу в присутності ДОНу в напрямі зниження рівня мітотичної активності клітин меристем через блокування поділу на стадіях про- та метафази, що підтверджує здатність цього токсину пригнічувати синтез та функціонування білків у клітині.

Графічне зображення динаміки відносної тривалості фаз мітозу в різних сортів показано на рис. 6 та 7.

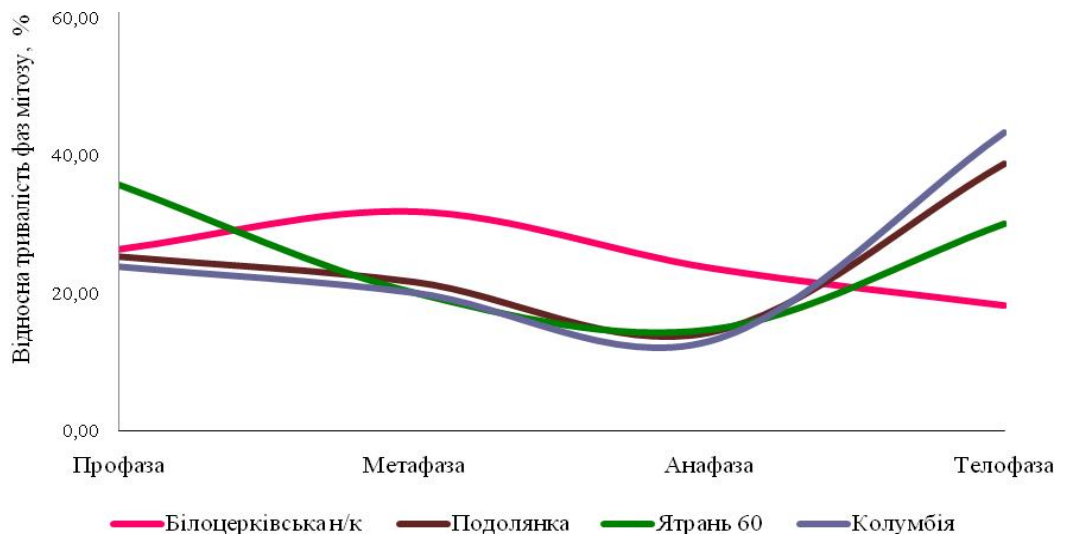


Рис. 6. Динаміка проходженні мітозу в меристемах коренів досліджуваних сортів (контроль).

Сорти Подолянка, Ятрань 60 та Колумбія мають схожу динаміку проходження мітозу, в той час як Білоцерківська напівкарликова відрізняється за відотною кількістю клітин, що перебувають на певних стадіях мітотичного поділу. Найбільша кількість клітин у меристемах цього сорту (на момент фіксації) перебувала в стадії метафази, тоді як у решти варіантів спостерігається два «піки» в про- та телофазі (див. рис. 6).

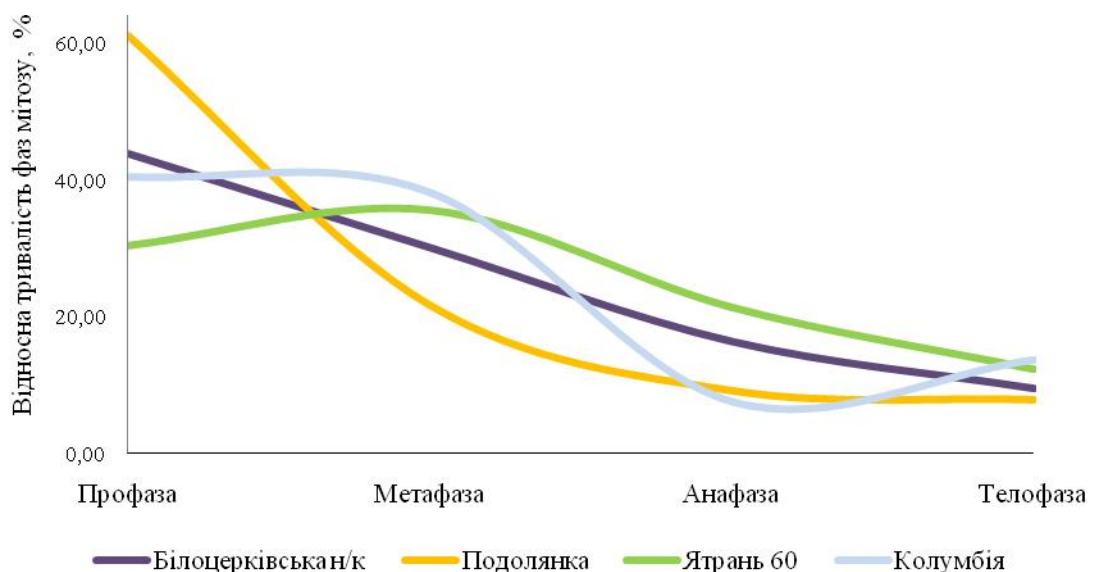


Рис. 7. Динаміка проходження мітозу у меристемах коренів досліджуваних сортів (ДОН, 5 мкг/мл).

Під дією ДОНу (рис.7) відбувалося зниження мітотичного індексу клітин у сортів Колумбія та Ятрань 60, спостерігали блокування поділу на стадіях про- та метафази. Схожість динаміки мітотичного поділу в цих варіантах контрастує зі ступенем пригнічення МІ, що має максимальне значення в сорту Ятрань 60 і мінімальне у сорту Колумбія (див. табл.).

Висновок. Різні генотипи диференційно реагують на дію дезоксиніваленолу (в концентрації 5 мкг/мл), водночас простежується певна тенденція щодо пригнічення мітотичної активності і метафазний блок, який призводить до збільшення частки клітин на стадіях про- та метафази. Ймовірно, що ступінь толерантності до ДОНу пов'язаний зі здатністю окремих генотипів обмежувати його негативну дію.

Список літератури

1. Головчак Н. Структура та вплив мікотоксинів на живі організми. /Н. Головчак // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – Львів, 2007. Вип. 43. – С. 33 – 47.
2. Паушева З.П. Практикум по цитологи растений. / З.П. Паушева //М.: Агропромиздат, 1988. – 271 с.
3. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. / П.Ф. Рокицкий // Минск: Вышэйшая школа, 1973. – 318 с.
4. Bai G.H. Deoxynivalenol-nonproducing fusarium graminearum causes initial infection, but does not cause disease spread in wheat spikes. / G.H. Bai A.E. Desjardins, R.D. Plattner // Mycopathologia – 2002 – 153(2) – P. 91 – 98.
5. Desjardins A. E. Mycotoxins in Plant Pathogenesis / A.E. Desjardins, T.M. Hohn // Molecular Plant-Microbe Interactions. – 1997 – Vol. 10, No.2 – P. 147 – 152.

6. Masuda D. Phytotoxic effects of trichothecenes on the growth and morphology of *Arabidopsis thaliana* / D. Masuda, M. Ishida, K. Yamaguchi, et al // J. Exp. Bot. – 2007. – 58(7) – P. 1617 – 1626.

7. Packa D. Trichothecene fusarial toxins perturb the cell cycle in meristematic cells of *Secale cereale* L., *Triticum aestivum* L. and *Vicia faba* L. / D.Packa, E. Sliwinska // Caryologia – 2005. – Vol. 58, no. 1 – P. 86-93.

8. Rocha O. Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells / O. Rocha, K. Ansari, F. M. Doohan // Food Additives & Contaminants: Part A – 2005. – Vol. 22, Issue 4 – P. 369 – 378.

9. Proctor R. H. Reduced virulence of *Gibberella zeae* caused by disruption of a trichothecene toxin biosynthetic gene. / R. H. Proctor, T. M. Hohn, S. P. McCormick // Molecular Plant–Microbe Interaction – 1995. – P. 593–601.

РЕАКЦИЯ МИТОТИЧЕСКОГО АППАРАТА СОРТОВ МЯГКОЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ НА ДЕЙСТВИЕ ДЕЗОКСИНИВАЛЕНОЛА

Л.Н. Нежигай, Т.Н. Чеченева, Н.К. Куцоконь

*Проанализировано влияние дезоксиниваленола на митотическую активность клеток корневых меристем четырех сортов озимой мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. Установлено снижение митотической активности и различия в относительной длительности фаз митоза под влиянием токсина.*

Ключевые слова: пшеница мягкая озимая, *Triticum aestivum* L, *Fusarium Link.*, микотоксины, митоз.

EFFECT OF DEOXYNIVALENOL ON MITOSITICS PARAMETERS DIFFERENT VARIETIES OF SOFT WINTER WHEAT

L.M.Nezhigay, T.M.Checheneva,

N.K. Kutsokon

*Effects of deoxynivalenol on mitotic activity in root meristem cells of four varieties of winter wheat *Triticum aestivum* L. were studied. The decline of mitotic activity and differences in relative duration of phases of mitosis under the influence of toxin were determined.*

Key words: soft winter wheat, *Triticum aestivum* L, *Fusarium* Link., mycotoxins, mitosis.