

## РІЗНІ ВИДИ ПОРУШЕНЬ МІТОЗУ В УМОВАХ ТЕХНОГЕННОГО НАВАНТАЖЕННЯ

Ю.Г. Лагода<sup>1</sup>, І.О. Комарова<sup>2</sup>

1 - студентка природничого факультету

2 - асистент кафедри ботаніки та екології.

ДВНЗ «Криворізький державний педагогічний університет»

**Вступ.** В процесі індустріалізації та впровадження сучасних технологій в біосферу надходить понад півмільйона нових синтетичних речовин. Багато з них характеризуються мутагенною активністю. Процеси, які відбуваються безпосередньо після дії мутагенів, призводять до хромосомних перебудов і патологій мітозів на клітинному рівні. Відомо, що аберації хромосом відіграють важливу роль у спадковій мінливості і є важливим показником генетичної активності мутагенів. Структурні зміни хромосом, зокрема транслокації, використовують як генетичні маркери рівня забруднення територій [1].

**Мета роботи.** Узагальнити літературні дані про специфіку проведення лабораторних досліджень порушень мітозу в рослинних клітинах.

**Результати та їх обговорення.** Стійкий інтерес до вивчення механізмів токсичної та мутагенної дії сполук металів на рослини з використанням кореневої апікальної меристеми, як модельної системи, пояснюється тим, що саме кінчики коренів першими безпосередньо контактують із різними хімічними речовинами в ґрунті та у воді. Класичним методом для дослідження токсичного впливу забруднювачів довкілля на живі об'єкти є тест на корневих клітинах цибулі-батун [3] (так званий *Allium*-тест), який дозволяє здійснювати відносно швидкий скрінінг хімічних сполук із зазначенням їх потенційного біологічного ризику. Важливою перевагою цього методу цитогенетичного моніторингу є добра кореляція його результатів із результатами, одержаними на інших тест-системах. *Allium*-тест дає можливість вивчати два аспекти токсичності: а) загальну токсичність (або фітотоксичність) на основі пригнічення росту корінців цибулі (*Allium cepa* L.); б) цитотоксичність, документовану мікроскопічним дослідженням хромосомних аберацій та ядерних аномалій у клітинах корневих меристем.

Як модельну систему використовують кореневу меристему тричотири-денних проростків *Allium cepa* L. Для цього насіння цибулі пророщують у чашках Петрі (по 10 насінин на чашку) на зволоженому дистильованому фільтрувальному папері в термостаті при 25 °С. Потім відрізають кінчики корінців на стадії найбільшої мітотичної активності (8-10-та год. ранку). Перед зануренням у тестові розчини виміряють початкову довжину коренів, після експозиції з розчинами солей металів протягом 24 год. проводять повторний морфометричний аналіз матеріалу: виміряють кінцеву довжину коренів, відмічають видимі морфологічні зміни (потемніння меристематичних ділянок і т. ін.). З апікальної меристеми коренів, забарвлених ацетоорсеїном, виготовляють тимчасові давлені препарати.

Мала кількість хромосом ( $2n = 14$ ), чітко означена меристематична зона кореня, здатність до активного проростання в лабораторних умовах у будь-яку пору року роблять *Pisum sativum* L. зручним об'єктом для цитогенетичних досліджень [2]. Насіння пророщують у термостаті при 25 °С протягом 3-х діб. Фіксувати біологічний матеріал необхідно в темноті при щільно закритій кришці, об'ємом в 50-100 разів більшим за об'єм біологічного матеріалу. Після фіксації корінці промокають фільтрувальним папером і промивають в 70° спирті (70 мл 96° етилового спирту + 26 мл дистильованої води), а потім поміщують у чистий 70° спирт для тривалого зберігання.

Для проведення подальших досліджень, корінці із 70° спирту переносять у дистильовану воду для промивання на 5-10 хв. Промокають фільтрувальним папером і поміщують матеріал в 1н НС1 кімнатної температури на 4 хв. Одразу після цього переносять в розчин НС1 із температурою 60 °С на декілька хвилин для гарячого гідролізу (для гороху - на 10 хв.). Важливо слідкувати за постійністю температури 60 °С на водяній бані! Після гарячого гідролізу швидко переносять матеріал у 1н НС1 кімнатної температури на 3-4 хв. Згодом корінці переміщують в дистильовану воду для промивання на 4 хв., а вже потім поміщують матеріал у реактив Шиффа на 1,5 год. для фарбування. На давлених препаратах корінців проведіть підрахунок патологій мітозу анафазним методом та визначте мітотичну активність меристематичних клітин шляхом обчислення профазного, метафазного, анафазного, телофазного, а також мітотичного індексів.

Для дослідження цитогенетичної активності комплексу факторів довкілля науковці використовують не лише меристематичні клітини коренів, а й клітини меристеми зачаткових етіолованих листків вегетативних бруньок різних тест-рослин [1]. Внутрішньо бруньковий листовий зачаток зафіксують в суміші Карнуа (96° спирт, хлороформ, льодяна оцтова кислота у співвідношенні 6:3:1). Фарбування здійснюють 4%-й ацетоферумгематокселином з наступним просвітленням і консервуванням у суміші Гоера. Зафарбовані листочки поміщують на предметне скло, де відділяють його основу. Саме там найчастіше зустрічаються мітози, а іншу частину ліквідують. Основу листочка необхідно роздавити під покривним скельцем і проаналізувати препарат під мікроскопом.

Особливості цитотоксичної дії забруднюючих речовин оцінюють за зміною мітотичного індексу, індексу аберацій, відсотків пікнотичних ядер на препаратах, а також частоти трапляння злиплених хромосом у мітотичних клітинах за рекомендаціями З.П. Паушевої [3].

#### *Список використаної літератури*

1. Зоз Н.Н. Химический мутагенез у вищих растений. Супермутагены // Н.Н. Зоз — М.: Наука, 1966. — С. 93—105.
2. Моргун В.В. Спонтанна та індукована мутаційна мінливість і її використання в селекції рослин // Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть. — К.: Логос, 2001. — Т. 2. — С. 144—174.
3. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений // З.П. Паушева — М.: Агропромиздат, 1988. — 271 с. 6.