

**Г.М. БУЧКО, Р.М. БУЧКО, Ю.Я. ХРУНИК, Н.Д. РОМАНЮК,
О.І. ТЕРЕК**

Львівський національний університет ім. І. Франка,
вул. Грушевського, 4, 79005, м. Львів,

ЦИТОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ РОСТУ КОРЕНІВ ПШЕНИЦІ ЗА ДІЇ ЛАЗЕРНОГО ОПРОМІНЕННЯ ТА АГРОСТИМУЛІНУ

ключові слова: *Triticum aestivum L., агростимулін, лазерне опромінення, меристематична зона, мітотичний індекс, зона росту розтягом*

key words: *Triticum aestivum L., agrostymulin, laser irradiation, meristematic zone, mitotic index, zone elongation*

H. BUCHKO, R. BUCHKO, J. KHRUNYK, N. ROMANIUK, O. TEREK CYTOLOGY ANALYSIS OF WHEAT ROOTS GROWTH UNDER ACTION OF LASER IRRADIATION AND AGROSTYMLIN

Ivan Franko National University of Lviv
4 Hrushevskij str., Lviv, 79005, Ukraine

The action of laser irradiation and agrostymulin on growth of primary roots of wheat plants was analyzed. The large dose of irradiation (2 min, $E=0.046$ Joules) with agrostymulin $1:10^8$ inhibited roots growth on 3-15 days of germination. Positive influence was observed in variant when seeds were treated by laser irradiation in dose 1 min, $E=0.023$ Joules and agrostymulin. Cytological analysis of growth zone of the root initial cortex showed its increasing as result of increasing of the isodiametric and elongation zones. In meristematic zone, it was not marked of significant differences in meanings of mitotic index.

Проблемою сучасного ведення сільського господарства є необхідність застосування якісних ріст-регуляторних речовин із низькою токсичністю, які дозволяють впливати на процеси росту й розвитку рослин, знижувати дію шкідливих і стресових чинників середовища, підвищувати врожай та покращувати його якість. Такі властивості характерні для препаратів, створених в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України. Серед них агростимулін – екологічно безпечний та низьковитратний стимулятор росту рослин [1] з ауксиноюю та слабкою цитокініновою типами активності [12].

Сильним стимуляторним фактором на початкових етапах росту рослин є дія червоного світла, яке активує фітохромну систему, впливає на формування та ріст первинних листків проростків [4].

У попередніх наших дослідженнях показано позитивний сумісний ефект зеастимуліну та опромінення гелій-неоновим лазером (628,3 нм) на ріст і розвиток рослин кукурудзи [2].

Метою цієї роботи було з'ясувати можливість пришвидшення росту коренів рослин пшениці за сумісної дії двох різних за природою чинників – лазера та агростимуліну, які окремо здатні стимулювати ростові процеси.

Методи досліджень. Об'єктом досліджень були проростки пшениці (*Triticum aestivum* L.) сорту “Мерлебен”. Попередньо зволожені насіння (20% вологи) опромінювали гелій-неоновим лазером у сканованому режимі або обробляли агростимуліном. Частина насіння піддавали спільній дії двох вищезазначених чинників. Контролем були проростки пшениці, вирощені з необробленого й неопроміненого насіння. Дослідження виконували за такими варіантами: контроль (дистильована вода) – *K*; агростимулін у концентраційному розведенні (1:10⁸) – *A*; лазерне опромінення $E = 0,023$ Дж протягом 60 с – *Л1*; лазерне опромінення $E = 0,046$ Дж протягом 120 с – *Л2*; агростимулін + лазерне опромінення (60 с) – *A+Л1*; агростимулін + лазерне опромінення (120 с) – *A+Л2*.

Насіння пророщували в чашках Петрі на зволоженому фільтрувальному папері в темряві за температури $24 \pm 1^\circ\text{C}$. Тридобові проростки переносили на 50% середовище Гельрігеля з додаванням мікроелементів. У дослідах використовували 3-добові етиольовані проростки та 15-добові рослини, що росли у водній культурі в теплиці у контрольованих умовах (освітлення 90 Вт/м^2 , температура $24 \pm 1^\circ\text{C}$). Морфометричні показники – довжину й масу сирої речовини коренів аналізували на 3 та 15 добу росту.

З метою з'ясування дії фізичного (лазерне опромінення) та біохімічного (агростимуліну) факторів на проростки пшениці досліджували зону росту коренів на 36 годину проростання. На поздовжніх зрізах препаратів (товщиною 10 мкм) визначали довжину й ширину клітин 2-х рядів зовнішнього шару та 4-х рядів наступних шарів первинної кори кореня; довжину меристеми й зони росту розтягом клітин кореня. На давлених тимчасових препаратах меристеми кореня проводили підрахунок мітотичного індексу [11]. Для аналізу з кожного варіанту брали 5 коренів, досліди проводили в трикратній повторності. Отримані результати опрацьовували статистично [9].

Результати досліджень. У попередніх роботах з дослідження впливу агростимуліну на проростання насіння і початковий ріст рослин пшениці було встановлено, що оптимальною концентрацією для обробки насіння є розведення препарату 1:10⁸ [3]. Так, на 15 добу росту рослин було виявлено збільшення довжини та маси сирої речовини

кореня, відповідно, на 68% і 46,5% та пагона на 16% і 9% щодо контролю.

У цій роботі дослідження впливу різних доз опромінення показало, що сканований режим і короткочасне опромінення (1 та 2 хв.) забезпечують пролонгований ефект стимуляції росту коренів пшениці (рис. 1) та зростання маси сирі речовини коренів (рис. 2). Спільна дія різних доз опромінення та агростимуліну вже на 3 добу росту проростків була неоднаковою. Так, у варіанті *Л2+А* спостерігали нагромадження маси сирі речовини кореня – 135% щодо контролю (рис. 2) за незначного збільшення його довжини – на 8% (рис. 1). У той же час у варіанті *Л1+А* збільшувалася довжина кореня на 31% (рис. 1) і на 37% зростала маса сирі речовини, порівняно з контролем (рис. 2). На 15 добу росту довжина коренів пшениці варіанту *Л1+А* була на 40% більша, ніж у контролі, у той час як у варіанті *Л2+А* спостерігали

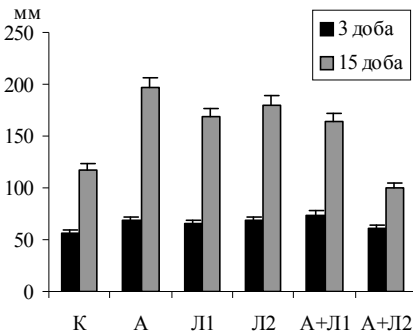


Рис. 1. Довжина коренів проростків пшениці сорту Мерлебен за дії лазерного опромінення та агростимуліну

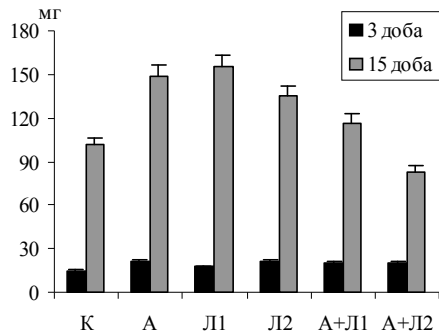


Рис. 2. Маса сирі речовини коренів проростків пшениці сорту Мерлебен за дії лазерного опромінення та агростимуліну

пригнічення росту та зменшення маси сирі речовини на 18%. У зв'язку з цим подальші дослідження проводили з рослинами варіантів *Л1*, *А* та *Л1+А*.

Вивчення закономірностей клітинної організації росту рослин – багатогранна область дослідження, яка включає аналіз поділу й росту клітин в окремих їх органах. Швидкість росту рослин пов'язана зі швидкістю утворення нових клітин у меристемі, що корелює з розмірами меристеми й числом меристематичних клітин і видовженням клітин у зоні розтягу [7]. Тому, було доцільним проаналізувати розміри зони росту та мітотичну активність клітин меристеми коренів пшениці. Показано, що на відстані до 100 мкм від ініціалей довжина клітин кон-

трольних рослин та у варіанті з агростимуліном не перевищувала $11,4 \pm 1,0$ мкм і незначно зростала в опромінених – до $13,3 \pm 1,0$ та у випадку подвійної обробки – до $14,2 \pm 0,4$ мкм (табл. 1). Ділянка до 600 мкм характеризувалася значним збільшенням довжини клітин у варіанті *A* – до $39,5 \pm 1,4$ мкм, в інших варіантах була на рівні контролю. Ширина клітин приблизно дорівнювала довжині. Аналіз мітотичної активності в клітинах меристематичної зони (на відстані 1-600 мкм від ініціалей) показав, що контрольний і дослідні варіанти відрізнялися незначно. У контролі приблизно $5,8 \pm 0,3\%$ клітин перебували на різних фазах мітозу, у варіанті *A* – $6,9 \pm 0,3\%$, у *ЛІ* – $7,7 \pm 0,4\%$ і у *ЛІ+A* – $8,0 \pm 0,4\%$ клітин. На відстані до 900 мкм від ініціалей спостерігали значне збільшення як довжини, так і ширини клітин. У варіантах *A* та *ЛІ+A* довжина клітин становила $75,0 \pm 2,3$ мкм і ширина – $63,2 \pm 4,9$ мкм відповідно, тоді як у *K* та *ЛІ* – $63,4 \pm 2,5$ і $51,5 \pm 3,7$. За даними Ф.Балушка [14] ця ділянка є зоною ізодіаметричного розтягу, що характеризується рівномірним збільшенням розмірів клітини в усіх напрямках. Ця коротка ділянка може бути початком зони росту розтягом [13, 15].

Таблиця 1.

Мітотичний індекс та співвідношення фаз мітозу у зоні поділу первинної кори кореня 36-годинних проростків пшениці за дії лазерного опромінення та агростимуліну

Варіант	Відстань від ініціалей, мкм	Мітоз, %	Частка клітин, що перебувають на різних фазах мітозу, %			
			профаза	метафаза	анафаза	телофаза
К	1-200	6,0	39,3	25,0	21,4	14,3
	201-400	7,2	43,8	31,2	15,6	9,4
	401-600	4,2	50,0	28,6	14,3	7,1
	601-800	0,8	33,3	–	33,3	33,4
A	1-200	7,0	28,0	43,8	18,8	9,4
	201-400	8,8	36,6	29,2	24,4	9,8
	401-600	4,8	43,8	31,2	12,5	12,5
	601-900	0,9	–	–	66,6	33,4
ЛІ	1-200	6,8	45,2	29,0	19,4	6,4
	201-400	10,8	41,9	27,8	16,3	14,0
	401-600	5,5	31,6	26,3	26,3	15,8
	601-900	1,4	20,0	20,0	40,0	20,0
A+ЛІ	1-200	7,4	30,3	39,4	15,2	15,1
	201-400	11,5	36,7	28,6	18,4	16,3
	401-600	5	44,4	38,9	5,6	11,1
	601-900	1,2	25,0	–	50,0	25,0

Таким чином, ділянку кореня від 1 до 600 мкм у контролі та в дослідних варіантах слід вважати зоною поділу в усіх шарах первинної кори. На цій ділянці частка інтерфазних клітин і клітин, що перебували на різних фазах мітозу, змінювалася незначно.

Водночас, на відстані до 900 мкм від ініціалей спостерігали значне збільшення як довжини, так і ширини клітин дослідних варіантів. Порівнюючи отримані результати з даними літератури слід відзначити, що визначені розміри клітин у контролі практично збігаються [5; 6].

Незначні зміни в розмірах меристеми коренів проростків варіанту А відбувалися, очевидно, за рахунок зростання активності фітогормонів (зокрема, цитокінінів та ауксинів), що спричинює активніший поділ клітин [10].

Таблиця 2.

Розміри клітин зони росту у первинній корі коренів 36-годинних проростків пшениці за дії лазерного опромінення та агростимуліну

Варіант	Відстань від ініціалей, мкм	Довжина клітин, мкм		Ширина клітин, мкм	
		М	m	М	m
К	1-120	11,4	1,0	10,1	0,9
	121-600	24,5	0,4	23,1	1,7
	601-800	63,4	2,5	51,5	3,7
	801-2800	95,0	2,3	53,9	2,5
А	1-120	11,8	0,6	10,4	1,1
	121-600	39,5	1,4	33,2	4,9
	601-900	75,0	2,3	63,2	4,9
	901-1800	98,0	3,3	63,8	3,9
	1801-3200	138,2	4,6	64,5	3,9
Л1	1-120	13,3	1,0	12,0	0,6
	121-600	27,1	1,5	25,0	2,8
	601-900	67,1	5,4	53,0	3,8
	901-1800	133,0	3,5	80,2	4,2
	1801-3400	213,3	3,2	168,0	9,0
Л1 + А	1-120	14,2	0,5	11,3	1,5
	121-600	24,2	0,6	20,5	2,3
	601-900	76,0	3,4	63,7	5,1
	901-1800	155,2	8,9	70,2	4,8
	1801-4200	245,2	13,4	72,1	5,3

У літературі є також відомості про підсилення дії червоного світла на насіння у випадку екзогенного внесення цитокінінів [8]. Це, очевидно, і є причиною збільшення розміру клітин і підвищення мітотичної активності у варіанті з сумісною дією двох чинників. Окрім цього, у дослідних варіантах відбувалося збільшення зони ізодіаметричного розтягу на 100 мкм, ніж у контролі.

Значні зміни в розмірах клітин кореня відзначалися в зоні росту розтягом (табл. 2). Так, зокрема, середня довжина й ширина клітин у контролі була $95,0 \pm 2,3$ та $53,9 \pm 2,5$, а сама зона – від 800 до 2800 мкм. У варіанті А ця ділянка значно довша – до 3200 мкм і довжина клітин у 1,5 рази більша, ніж у контролі. Варіант ЛІ відзначався збільшенням зони до 3400 мкм і розміри клітин у дистальній ділянці перевищували вдвічі за довжиною і втричі за шириною клітини контрольної групи. У варіанті зі спільним впливом на насіння двох чинників спостерігали збільшення зони росту розтягом до 4200 мкм. Особливо великими були клітини на ділянці 1800-4200 мкм, де їхня довжина становила $245,2 \pm 13,4$ мкм і ширина $72,1 \pm 5,3$ мкм.

Видовження клітин зони росту розтягом у дослідних варіантах, очевидно, можна пояснити наявністю в агростимуліні ауксинподібної активності, яка й призводить до інтенсивного росту розтягом. У проростках, насіння яких опромінювали, очевидно індукується синтез і зростає активність ендогенних ауксинів.

Таким чином, за сумісної дії агростимуліну та лазерного опромінення на проростки пшениці стимулюється ріст їхніх коренів. У коренях спостерігається незначне підвищення мітотичної активності, збільшення розмірів зони ізодіаметричного розтягу; значних змін знає зона росту розтягом.

ЛІТЕРАТУРА

1. Боровикова Г.С., Драга М.В. та ін. Вплив регуляторів росту на врожайність і якість озимої пшениці та зменшення пестицидного навантаження на угіддя // Елементи регуляції в рослинництві. – К.: ВВП “Компас”, 1998. – С. 41-45.
2. Бучко Г., Терек. О., Романюк Н., Бучко. Н. Ростові процеси у рослин кукурудзи під впливом зеастимуліну та лазерного опромінення // Вісник Львівського ун-ту. Серія біологічна. – 2000. – С. 153-158.
3. Бучко Р., ШибівськаТ., Баранов В., Терек О. Морфо-фізіологічні особливості росту рослин пшениці *Triticum aestivum* L. за дії агростимуліну // Студентська молодь і прогрес в АПК: Тези доп. студентської міжнар. наук. конф. (Дубляни, жовтень, 2001). – Львів, 2001. – С. 45-46.
4. Василенко В.Ф., Кузнецов Е.Д., Веселова Т.В., Веселовский В.А. Ускорение формирования фотосинтетического аппарата у проростков пшеницы красным светом и синтетическими регуляторами роста ретардантного действия // Физиол. и биохим. культ. раст. – 1991. – 23, № 2. – С. 107-111.

5. **Демченко Н.П.** Митотический и эндоредупликационный циклы в развитии линии клеток метаксилемы корня пшеницы // Физиол. раст. – 1984. – 26, № 4. – С. 382–391.
6. **Демченко Н.П.** Цитофотометрическое и автордиографическое изучение распределения по периодам митотического цикла клеток корня пшеницы // Цитология. – 1981. – 23, № 11. – С. 1247-1251.
7. **Иванов В.Б.** Некоторые проблемы изучения роста растений на клеточном уровне: Рост растений и его регуляция. – Кишнев: Штиинца, 1985. – С. 66-75.
8. **Кефели В.И.** Рост растений и фотоморфогенез // Физиол. раст. – 1987. – 34, вып 4. – С. 685-695.
9. **Кучеренко М.С., Бабенюк Ю.Д., Войцицкий В.М.** Сучасні методи біохімічних досліджень. – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 423 с.
10. **Мокронос А.Т.** Интеграция функций роста и фотосинтеза // Рост растений и его регуляция. – 1985. – 222 с.
11. **Паушева З.П.** Практикум по цитологии растений. М.: Агропромиздат, 1988. – 255 с.
12. **Романюк Н.Д., Терек О.І., Троян В.М., Терек К.В.** Дослідження фізіологічної активності регуляторів росту – івіну, емістиму й агростимуліну // Фізіолого-біохімічна оцінка дії техногенних факторів на рослини. Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 1997. – вип. 24. – С. 39-45.
13. **Цвілинюк О.М.** Морфогенез коренів кукурудзи під впливом 6-БАП і α -НОК. Автореферат дис. ... канд. біол. наук. – Київ, 1998. – 19 с.
14. **Balushka F., Kubica S., Hauskrecht M.** Postmitotic “isodiametric” cell growth in the maize root apex // Planta. – 1990. – 181. – P. 269-274.
15. **Ishikawa H., Evans M.L.** Specialized Zones of Development in Roots // Plant Physiology. – 1995. – 109. – P. 725-727.