

9. *Попов К. В., Егорова Е. И., Иванов А. А., Громыко А. В., Жузе А. Л., Большеева Н. Л., Юркевич О. Ю., Муравенко О. В., Зеленин А. В.* Димерные бисбензимидазольные красители на основе НОЕСНСТ 33258 – новые ДНК-специфичные флуорохромы для цитогенетики человека и растений.// Биологические мембраны - 2008 - том 25, № 3.- С. 173-180.
10. *Fukui K. and Mukai Y.* Condensation pattern as a new image parameter for identification of small chromosomes in plants Jap. J. Genetics - 1988 -vol.63 , No.40. P.359-366
11. *Саматадзе Т. Е., Муравенко О. В., Зеленин А. В.* Сравнение С-окрашенных хромосом в кариотипах трех видов рода *Matricaria* L.// Генетика – 1998- т. 34, № 12.- С. 1720-1724.

### **Резюме**

Предложен подход к анализу кариотипов растений с небольшими хромосомами, который объединяет комплекс высокоразрешающих методов приготовления, окрашивания, физического картирования и анализа хромосом, позволяющий идентификацию хромосом, картирование хромосомных перестроек и исследование геномов мелкохромосомных растений в эволюции и селекции.

The approach to the analysis of small size chromosomes in plants has been developed. It combines high-resolution techniques of chromosome preparation, banding FISH and image analysis. Its application allows chromosome identification, mapping of chromosome rearrangements and comparative study of small-chromosome plant genomes in evolution and selection by the set of chromosome-molecular markers.

**НАУМЕНКО В.Д., ГУЩА М.І., ДЯЧЕНКО А.І., ДМИТРИЄВ О.П.**

*Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України  
Київ, 03143 вул.акад.Заболотного, 148, e-mail:dmyt@voliacable.com*

### **ВПЛИВ УФ-В ОПРОМІНЕННЯ ТА ПІДВИЩЕНОЇ ТЕМПЕРАТУРИ НА ФОРМУВАННЯ ТА АПЕРТУРУ ПРОДИХІВ У ОДНОДОЛЬНИХ ТА ДВОДОЛЬНИХ КУЛЬТУР**

Зростання потоку УФ-В випромінювання, пов'язане зі зменшенням концентрації озону в атмосфері, приводить до посилення негативного впливу на всі живі організми. У багатьох видів рослин підвищені рівні УФ-В опромінення викликають зменшення фотосинтетичної активності і продуктивності, гальмування активності ферментів циклу Кребса і т.п. Відомо, що при УФ-В опроміненні листків спостерігається генерація активних форм кисню (АФК) [1], які беруть участь у димеризації нуклеотидів ДНК, ініціюють перекисне окиснення ліпідів, викликають утворення дисульфідних містків у білках і т.п. [2]. Припускають, що такі сполуки, як H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NO, саліцилова (СК) та жасмонова кислоти (ЖК) діють як вторинні месенджери, які запускають реакції організму, які контролюються специфічними генами, у відповідь на дію УФ-В. При УФ-В опроміненні сигнальні системи запускають перебудову метаболізму опромінених тканин, що забезпечує відновлення пошкоджень та адаптацію до дії УФ-В радіації.

УФ-В опромінення справляє, також, істотний вплив на ріст та розвиток рослин і на багато фізіологічних процесів, зокрема, на моторику продохів (відкривання – закривання). Зміна функціональної активності продохового апарату листка є одним з найбільш важливих механізмів адаптації рослин до багатьох несприятливих факторів середовища, зокрема до посухи. У зв'язку з підвищенням рівня УФ-В опромінення та середньорічної температури довкілля важливо з'ясувати його роль в адаптації рослин до УФ-В опромінення.

Метою наших досліджень було вивчення формування продихового апарату за різних умов УФ-В опромінення і підвищеній температурі та з'ясування адаптивної відповіді замикаючих клітин продихів на дію УФ-В опромінення.

### Матеріали і методи

Об'єктом дослідження були рослини однодольних (ячмінь сорту Скарлет, пшениця сорту Поліська 70, кукурудза сорту Титан) та дводольних (*Vicia faba*) культур. Насіння пророщували до накльовування на вологому фільтрувальному папері в чашках Петрі, після чого висаджували в ґрунт у пластикові посудини і вирощували за стандартних умов (освітлення лампами денного світла - 16 год, темрява – 8 год). Після появи перших сходів починалося УФ-В опромінення. Для цього скористалися лампами Philips TL20W/12RS, у спектрі яких переважає УФ-В випромінювання (280-320 нм). Опромінення проводили щодня протягом місяця за наявності фільтра, який відсікає короткохвильову частину УФ-В випромінювання ламп ( $\lambda=295\text{-}320\text{ нм}$ , 11 кДж/м<sup>2</sup>/д) або без фільтра ( $\lambda=280\text{-}320\text{ нм}$ , 40 кДж/м<sup>2</sup>/д).

На 11-й, 18-й та 25-й день опромінення відбирали середню частину 1-го, 2-го та 3-го листків, фіксували в розчині Бродського і підраховували кількість продихів та продиховий індекс (ПІ) – кількість продихів на 100 епідермальних клітин, виражений у процентах. Підрахунки проводили на адаксіальній (верхній) і абаксіальній (нижній) поверхнях листка.

Для вивчення впливу підвищених температур проростки щодоби зазнавали двогодинної обробки при температурі 40°C до початку УФ-В опромінення (295-320нм, 11 кДж/м<sup>2</sup>/д), або ж при 50°C (280-320нм, 40 кДж/м<sup>2</sup>/д, протягом тижня). Фіксацію листків проводили на 11-й та 18-й день. Вивчення ролі сигнальних систем в адаптивній відповіді замикаючих клітин продихів на дію УФ-В проводили на епідермальних клітинах листків кінського боба.

### Результати та обговорення

Під впливом пролонгованого УФ-В опромінення (295 - 320 нм, 11 кДж/м<sup>2</sup>/д) в листках проростків кінського боба спостерігали зміни ПІ як у бік зменшення, так і в бік незначного підвищення, порівняно з одновіковими неопроміненими проростками, хоча, переважала тенденція до зниження ПІ на 5 – 15 % як на адаксіальній, так і на абаксіальній поверхнях (рис.1). Схожі зміни ПІ спостерігали також у проростків ячменю, пшениці та кукурудзи. Особливо значне зростання ПІ виявлено на адаксіальній поверхні листків кукурудзи.

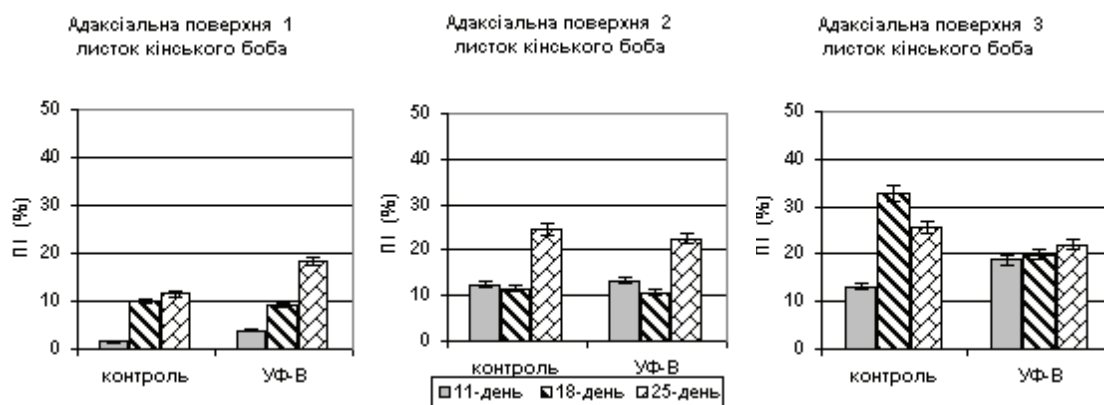


Рисунок 1. Вплив УФ-В опромінення на кількість продихів на адаксіальній поверхні різновікових листків кінського боба

Отже, динаміка формування продихів у рослин, які ростуть в умовах тривалого УФ-В опромінення, відрізняється від тієї, що спостерігається в контролі, причому, як на адаксіальній так і на абаксіальній поверхнях листка. Найбільш адекватним критерієм для кількісної оцінки щільності продихів є продиховий індекс. Тому, у всіх подальших дослідках визначали ПІ у 2-го листка, умови опромінення якого були найбільш однорідними.

УФ-В опромінення з вказаними вище параметрами викликало, як можна бачити, лише незначні коливання ПІ. Ціково було з'ясувати як зміниться динаміка формування продохів у присутності інших стресових факторів доквілля, зокрема, підвищеної температури.

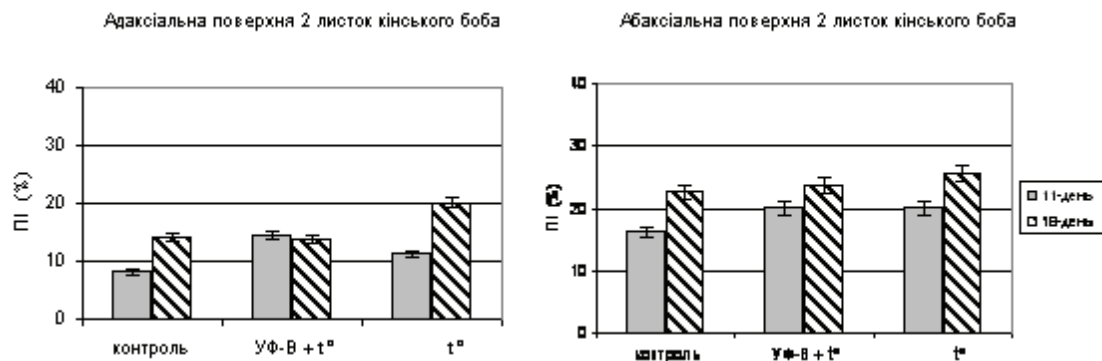


Рисунок 2. Комбінований вплив УФ-В опромінення (295-320 nm) та гіпертермії (40° С) на формування продохового апарату в листках кінського боба

При двогодинній щоденній обробці проростків (40°С) ПІ на адаксіальній поверхні листків ячменю практично не змінювався, а в листках кінського боба (під впливом як гіпертермії так і комбінованого впливу) від дещо підвищувався – до 10 % (рис. 2). На абаксіальній поверхні листків ячменю кількість продохів, а також ПІ зростала як під комбінованим впливом УФ-В опромінення і гіпертермії (особливо на 18-й день опромінення), так і під впливом лише підвищеної температури.

Отже, комбінований вплив УФ-В та помірної гіпертермії не викликає істотних змін ПІ у пшениці та кукурудзи. У ячменю та кінського боба також виявлено лише незначні зміни ПІ, хоча дещо більшими вони були на нижній поверхні листка. Слід зазначити, що зміни ПІ, які спостерігали в листках різного віку як у однодольних так і у дводольних, можуть бути пов'язані не тільки з впливом УФ-В або гіпертермії, але також і з фазою розвитку рослини і листка.

Вплив більш жорсткої гіпертермічної обробки (50°С, 2 години на добу) і більших доз УФ-В опромінення (40 кДж/м<sup>2</sup>/д, протягом тижня) з іншим спектром випромінювання, в якому присутня короткохвильова, найбільш біологічно ефективна, частина (280 - 320 nm) вже протягом тижня приводив до значного ушкодження рослин. Облік продохів та ПІ проводили на 11-й та 18-й день вирощування у 1-го та 2-го листків у рослин, які не зазнали суттєвих ушкоджень.

В листках рослин, які сформувалися за даних умов, ПІ зазнає значних змін, як на адаксіальній, так і на абаксіальній поверхнях, особливо у кінського боба (рис.3).

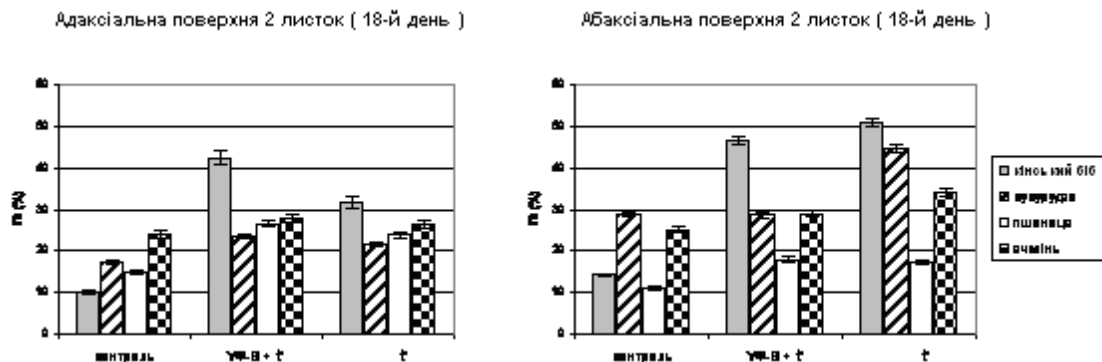


Рисунок 3. Комбінований вплив УФ-В опромінення (280 - 320 нм) та гіпертермії (50° С) на формування продихового апарату в листках рослин

На адаксіальній поверхні листка III був істотно більший (до 30%), ніж в контролі і ще більший на його нижній поверхні. Динаміка формування продихів в листках однодольних (ячменю, пшениці, кукурудзи) та дводольних (у кінського боба) культур істотно змінюється в умовах жорсткого комбінованого стресу.

III адаксіальної поверхні другого листка у рослин ячменю, пшениці, кукурудзи, і, особливо, кінського боба, які сформувалися в цих умовах ( $T^0 + \text{УФ}$ ), більший, ніж в контролі під час 1-го і 2-го відбору зразків. На абаксіальній поверхні очевидне зростання III виявлене лише у листків кінського боба на час обох відборів зразків і у листків пшениці під час першого відбору. Цікаво, що в даному випадку вплив однієї лише гіпертермії викликав більше зростання III, ніж у випадку комбінованої дії двох стресових факторів.

Дані інших дослідників неоднозначні. Так, при природному і підвищених рівнях УФ-В опромінення листків бавовни кількість продихів зростала як на адаксіальній так і на абаксіальній поверхнях [3]. В той же час за даними [4] після 4-х недільного УФ-В опромінення проростків рису щільність продихів значно зменшувалась, особливо на верхній частині листка.

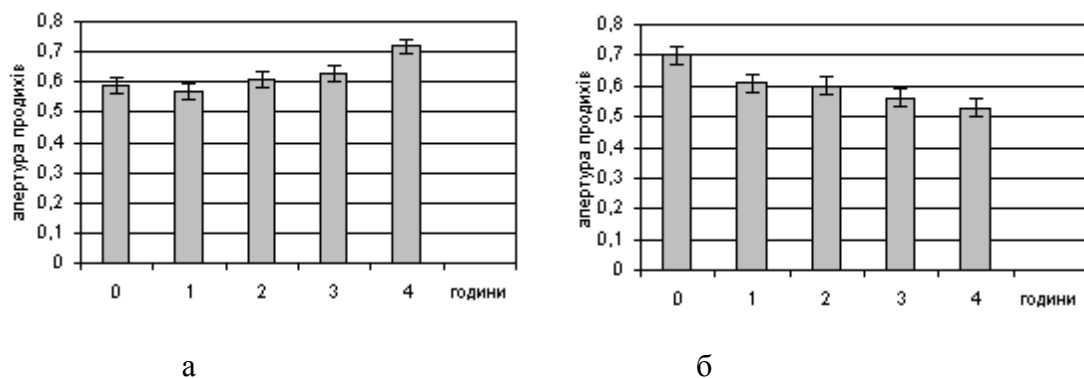


Рисунок 4. Вплив білого світла та УФ-В опромінення (280-320 нм) на функціональну активність продихового апарату у кінського боба

Важливим фактором адаптації рослин до несприятливих факторів середовища є зміна не тільки кількості продихів, але й ступеня їх розкривання - апертури продихів. Для з'ясування ролі різних сигнальних систем в адаптивній регуляції руху замикаючих клітин продихів фрагменти епідермісу з листка кінського боба інкубували певний час в чашках Петрі з розчинами інгібіторів сигнальних систем і опромінювали їх білим світлом або УФ-В. Чотиригодинна експозиція епідермісу кінського боба на білому світлі приводила до зростання апертури продихів (рис. 4а). УФ-В опромінення (280 - 320 нм) протягом 4-х годин, навпаки, приводило до її зменшення (рис.4б). УФ-В опромінення в діапазоні довжин хвиль 295 - 320 нм не впливало на апертуру продихів. Аналіз впливу інгібіторів сигнальних систем на здатність замикаючих клітин продихів реагувати зміною апертури буде наведено в наступній публікації.

### Висновки

1.УФ-В опромінення однодольних і дводольних рослин у природному діапазоні довжин хвиль (295-320 нм) і при низькій інтенсивності викликало лише незначні зміни щільності продихів і продихового індексу (на 5 – 15 %) на 11-у, 18-у і 25-у добу з початку опромінення,

переважно в бік зниження, як на адаксіальній, так і на абаксіальній поверхнях. Найістотніші УФ-індуковані зміни ПІ виявлені у другого листка.

2. Комбінований вплив УФ-В опромінення з вказаними характеристиками та помірної гіпертермії (40<sup>0</sup> C) не викликав істотних змін ПІ у всіх досліджених культур.

3. Комбінований вплив більш жорстких гіпертермії (50<sup>0</sup> C) та УФ-В опромінення (280-320 нм) приводив до зростання ПІ особливо на абаксіальній поверхні листків усіх культур.

#### Література

1. Mackerness S.A.-H., John C.F., Jordan B., Thomas B. Early Signalling Components in Ultraviolet-B Responses: Distinct Role for Different Reactive Oxygen Species and Nitric Oxide // FEBS Lett. 2001. -vol. 489. P. 237 - 242.

2. Salmeen A., Andersen J.N., Myers M.P., Meng T.-C., Hinks J.A., Tonks N.K., Barford D. Redox Regulation of Protein Tyrosine Phosphatase 1B Involves a Sulfenil-Amide Intermediate // Nature.-2003.- vol. 423. P. 769 -773.

3. Kakani V.G., Reddy K.R., Zhao D. and Mohammed A.R. Effects of Ultraviolet B Radiation on Cotton ( Gossypium hirsutum L.) Morphology and Anatomy // Ann. Bot. 2003. V. 91 (7). P. 817 - 826.

4. Quiujie Dai, Shaobing Peng, Arlene Q. Chavez and Benito S. Vergara. Effects of UV-B Radiation on Stomatal Density and Opening in Rice (Oryza sativa L.) // An.Bot.1995.- vol. 76 (1). P.65 -70.

#### Резюме

Вивчали вплив УФ-В опромінення на формування продихів в листках різних рослин. Показано, що у рослин, які протягом двох - трьох тижнів опромінювалися низькоінтенсивним УФ-В з природними характеристиками (295-320нм) щільність продихів зменшилася на 5 – 15%. При жорстких умовах гіпертермії (50 C<sup>0</sup>) та УФ-В опромінення (280-320 нм) показано зростання щільності продихів.

Изучали влияние УФ-В облучения на формирование устьиц в листьях разных растений. Показано, что у растений, которые на протяжении двух - трех недель облучались низкоинтенсивным УФ-В с природными характеристиками (295-320 нм) плотность устьиц снизилась на 5 – 15%. При жестких условиях гипертермии (50 C<sup>0</sup>) и УФ-В облучения (280-320 нм) показано увеличение плотности устьиц.

The effect of UV-B - radiation on the stomata formation in the leaves of different plants was investigated. It was shown the decrease of stomata density (5-15%) in plants, irradiated two - three weeks with low intensive UV-B with natural characteristics (295-320 nm). The increase of stomata density was shown at hard condition of UV-B - irradiation (280-320nm) and hyperthermia (50 C<sup>0</sup>).

**ОПАЛКО А.І.<sup>1,2</sup>, САВЧЕНКО С.П.<sup>2</sup>, КОВАЛЬЧУК І.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Національний дендрологічний парк „Софіївка-5” НАН України

Україна, 20300, Умань, Черкаської обл., вул. Київська, 12А, e-mail: opalko\_a@ukr.net

<sup>2</sup> Уманський державний аграрний університет

Україна, 20305, Умань, Черкаської обл., п/в „Софіївка-5”, e-mail: usau@usau.ic.uk.ua

### ХАРАКТЕР УСПАДКУВАННЯ СТІЙКОСТІ ПРОСТИХ ГІБРИДІВ КУКУРУДЗИ ЩОДО ЛАМКОСТІ Й ВИЛЯГАННЯ СТЕБЛА

Кожна рослина є цілісним живим організмом, всі ознаки якого взаємопов'язані. Варіабельність будь-якої ознаки більшою чи меншою мірою корелює з мінливістю решти ознак цього організму. Залежно від сили взаємозв'язку зміна прояву одних ознак супроводжується зміною прояву інших по-різному. Для оцінювання зв'язку між ознаками, одна з яких (або й декілька) цікавлять селекціонера як господарсько-цінні, виконують