

УДК 58.08:582.572.225

ИЗУЧЕНИЕ СУТОЧНОЙ ПЕРИОДИЧНОСТИ МИТОЗОВ В КЛЕТКАХ МЕРИСТЕМ ПРОРОСТКОВ ЛУКОВИЦЫ ЛУКА ALLIUM CEPA L.**Беждугова С.А., Гидова Э.М., Биттуева М.М., Хандохов Т.Х., Боготова З.И., Ситников М.Н., Паритов А.Ю., Киржинов Г.Х., Гогозуков Т.Х.***ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова»,
Нальчик, e-mail: elzagidova@mail.ru*

В работе приводятся результаты исследований по влиянию лазерного облучения на митотическую активность апикальной меристемы корешков лукавицы лука *Allium cepa*, сорта Штутгартен Ризен в контроле и при облучении лучами лазера длиной волны 532 нм, мощностью 2 Вт и различным временем экспозиции – 5 и 10 минут. Отмечено увеличение митотической активности в опытных вариантах. Установлена корреляция между митотической активностью клеток меристемы корня и ее длиной. У всех образцов из опытного варианта длина корня была достоверно выше, чем в контроле. Суточная ритмика митозов в корешках лука отличается двувёршинной кривой. Максимальные пики митотического индекса приходятся на 24 часа и 6 часов утра, независимо от варианта опыта. Абсолютные величины по всем изученным показателям выше в варианте, где время экспозиции было 10 мин. Полученные данные свидетельствуют о стимулирующем действии лазерного облучения лукавицы лука *Allium cepa*, влияющего на процессы роста и развития на начальном этапе онтогенеза. Знание пиков митотической активности может иметь практическое значение при проведении цитологического анализа при изучении митоза в клетках растений разных видов при выборе времени фиксации исходного материала.

Ключевые слова: лазерное излучение, лукавицы лука, митотический индекс, суточная периодичность**STUDY THE DAILY PERIODICITY OF MITOSES IN THE CELLS OF THE MERISTEM OF SEEDLINGS OF ONION ALLIUM CEPA L.****Bezhdugova S.A., Gidova E.M., Bittueva M.M., Khandokhov T.Kh., Bogotova Z.I., Sitnikov M.N., Paritov A.Yu., Kirzhinov G.Kh., Goguzokov T.Kh.***Kabardino-Balkarian State University named after Kh.M. Berbekov, Nalchik, e-mail: elzagidova@mail.ru*

The paper presents the results of studies on the effect of laser irradiation on the mitotic activity of the apical meristem on the roots of the Onion onion bulb, Stuttgart Riesen variety in control and irradiation with 532 nm laser radiation at a power of 2 W and a different exposure time of 5 and 10 minutes. An increase in mitotic activity in experimental variants was noted. A correlation was established between the mitotic activity of the root meristem cells and its length. In all samples from the experimental variant, the root length was significantly higher than in the control. The daily rhythm of mitoses in the roots of the onion is distinguished by a two-vertex curve. The maximum peaks of the mitotic index are at 24 hours and 6 am, regardless of the variant of the experiment. Absolute values for all the parameters studied were noted in the variant where the exposure time was 10 min. The data indicate a stimulating effect of laser irradiation on onion *Allium cepa* influencing the processes of growth and development of natural on-stage antigens. Knowledge of mitotic activity can be of practical importance in the analysis of Cytology in the study of Meristem in plant cells of different species when choosing the time of repair of the source material.

Keywords: laser radiation, onion bulbs, mitotic index, daily periodicity

В настоящее время внимание биологов привлекают различные физические факторы в связи с перспективой их использования как для создания ценного исходного материала для селекции, так и в качестве стимуляторов роста и развития растений.

Установлено, что физические факторы влияют на процесс прорастания семян, посевные качества, некоторые физиологические и цитологические изменения и, в частности, оказывают стимулирующее влияние на митотическую активность и рост растений [1–7].

Широкое применение как в медицине, так и в растениеводстве получило лазерное излучение. Показано, что синий и красный свет лазера оказывает достоверное улучшение энергии прорастания, всхожести,

силы роста и других показателей растения [1, 8–11].

Известно, что рост растений тесно коррелирует с процессами деления и растяжения клеток. Максимальное увеличение митотической активности, а также сокращение продолжительности клеточного цикла наблюдается в период наибольшей стимуляции роста и изучение данного вопроса открывает широкие возможности регулирования процессами органогенеза побега и растения в целом и, в конечном итоге – продуктивностью.

Основной ритмичности органообразовательных процессов является суточная периодичность митозов. Этот вопрос давно вызывал интерес исследователей. Не ослабевал он и в последующие годы продолжается и по сей день [12, 13].

На кафедре физиологии, генетики и молекулярной биологии КБГУ в течение многих лет ведутся исследования по влиянию физических, химических факторов на ростовые и органообразовательные процессы культурных растений.

Активно изучается влияние постоянных и переменных магнитных полей, ультрафиолетового, инфракрасного и лазерного излучения с целью поиска таких путей воздействия на семена, органы растений, которые привели бы к стимуляции их роста и развития, поскольку в литературе встречаются разноречивые сведения: о наличии стимулирующего эффекта, об отсутствии ответа на воздействие, а в некоторых случаях их ингибирования [5].

Таким образом, условия, при которых происходит реализация стимулирующего эффекта конкретного физического фактора, а также происходящие в растении ответные реакции на облучение требуют дальнейшего их изучения.

Целью данной работы была оценка влияния лазерного излучения на динамику митотической активности апикальной меристемы корешков лука *Allium cepa* L., а также анализ ритма клеточного деления на протяжении суток.

Материалы и методы исследования

Наши исследования были проведены на стандартном тест-объекте, который был апробирован в течение длительного времени и известен как Alliumtest, сорт Штутгартен Ризен. *Allium-test* хорошо зарекомендовал себя как объект, на котором можно изучать эффект воздействия различных факторов на начальных этапах онтогенеза, а также использовать в цитогенетическом мониторинге окружающей среды.

Схема вариантов исследования была следующей:

- 1) контроль – необработанные луковички;
- 2) луковички, облученные лазером в течение 5 мин;
- 3) луковички, облученные лазером в течение 10 мин.

Облучение провели с использованием твердотельного гелий-неонового лазера, мощностью 2 Вт, длиной волны 532 нм. Опытные варианты отличались временем экспозиции.

Проращивание луковичек провели в пробирках, где донце луковички постоянно находилось на поверхности воды, при комнатной температуре (30–32 °) и естественном освещении. На каждый вариант опыта поставили по 10 луковичек. С момента появления корешков, а в последующем и надземной части луковичек, в течение двух недель, ежедневно, в одно и то же время, проводили промеры длины корешка и пера. Для получения точных результатов по показателю «длина корешка» измеряли все корешки на донце луковички, а затем вычисляли их среднее значение.

Для проведения цитофизиологического анализа были использованы корешки трех, пяти и семидневных проростков. Фиксацию корешков проводили в растворе Карнуа (уксусный алкоголь) в течение 12 часов, затем корешки переносили в 70° спирт и хранили их в холодильнике. Давленные пре-

параты готовили по методике, предложенной З.П. Паушевой [14], краситель – ацетокармин. В каждом варианте использовали по 10 корешков, просмотр вели в пяти полях зрения, в среднем по 100 клеток. Учитывали все клетки на стадии профазы, метафазы, анафазы и телофазы. Анализ препаратов провели на микроскопе Ломо «Микмед 5». Митотический индекс определяли по формуле

$$MI\% = \frac{П + М + А + Т}{И + П + М + А + Т} \cdot 1000.$$

Математическую проверку провели по Б.А. Доспехову [15].

Для установления суточной периодичности митозов на третий день проращивания фиксировали корешки длиной 5–6 мм через каждые 3 часа (6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 3, 6). Для каждой пробы брали по 5 корешков, просмотр вели в трех полях зрения.

Интенсивность ростовых процессов определяли по формулам

$$K = \frac{W2 - W1}{2 - 1},$$

где $W1$ – длина на предыдущую дату;
 $W2$ – длина на последующую дату;
 $2-1$ – число дней между предыдущим и последующим днем.

$$R = \frac{W2 - W1}{W1} \cdot 100\%,$$

где R – относительная скорость;
 $W2$ – длина на определенную дату;
 $W1$ – длина на предыдущую дату.

Основу цитологических исследований составлял изучение митотической активности клеток, так как при ее повышении обеспечивается более активный рост проростков, что и является одним из факторов урожайности. Изучив большое количество образцов различных видов культурных растений, автор сделал заключение, что, используя цитофизиологический анализ, можно уже на ранних этапах онтогенеза прогнозировать конечный результат – продуктивность растения.

Результаты исследования и их обсуждение

Как показали полученные нами результаты, в корешках луковичек, облученных лазером, митотический индекс выше, чем в контроле (рис. 1).

При этом он повышается от третьего дня к седьмому, достигая к этому дню максимальной величины. Однако внутри опытных вариантов абсолютные показатели митотического индекса выше в меристеме корешков луковичек, облученных в течение 10 мин.

Учитывая то, что рост органа в длину находится в тесной связи с уровнем митотической активности меристематической ткани был проведен анализ динамики роста как длины корешка, так и надземной части (пера). Полученные результаты показывают, что все образцы из опытного варианта имеют показатели выше, чем в контроле, и относительная скорость роста у них была достоверно выше, чем в третьем варианте (таблица).

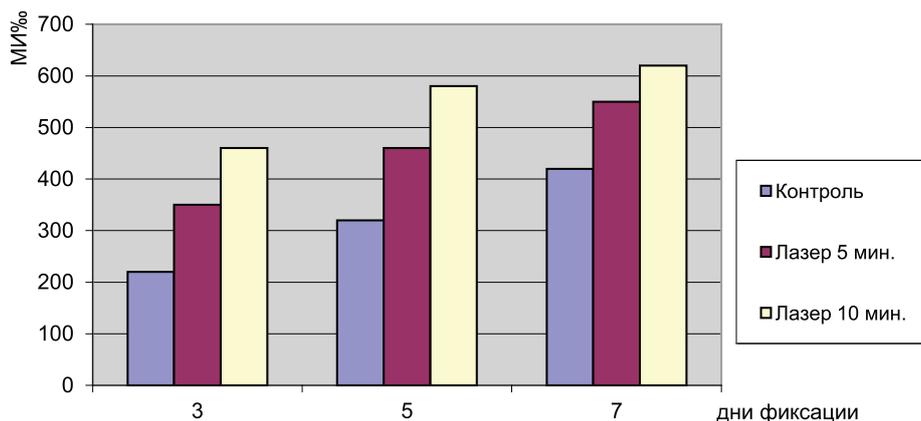


Рис. 1. Митотическая активность в меристеме корешков лука *Allium cepa* L.

Интенсивность ростовых процессов корешков луковички лука *Allium cepa* L.
в условиях опыта

Варианты	Дни измерений	Длина (мм) $\bar{x} \pm S\bar{x}$	Достоверность, t	Скорость роста	
				Абсолютная К (мм)	Относительная R (%)
1. Контроль	3	15,2 ± 0,5			
	5	21,0 ± 0,6		2,9	20,0
	7	30,0 ± 0,6		4,5	29,0
2. Лазер мощностью 2 Вт 5 мин	3	16,8 ± 0,1	3,1		
	5	23,5 ± 0,5	3,2	3,5	23,0
	7	35,6 ± 0,5	7,2	6,0	35,0
3. Лазер мощностью 2 Вт 10 мин	3	18,8 ± 0,4	5,6		
	5	30,2 ± 0,7	10,0	4,5	29,0
	7	44,4 ± 0,8	14,4	7,1	43,0

Промеры длины пера луковички сохранили аналогичную закономерность. Максимальные показатели по длине пера отмечены в варианте, где луковички облучались лазером в течение 10 мин, чуть ниже показатели во втором варианте. В контроле получены самые низкие величины.

Показано, что процессам роста свойственна периодичность, которая обуславливается как особенностями самих процессов роста, так и факторами внешней среды. У растений наиболее распространены циркадные ритмы с периодом около суток. С такой периодичностью изменяется и суточная динамика митозов [13].

Полученные нами результаты показали, что в условиях опыта в меристеме корней луковички лука на протяжении суток четко проявляется периодичность клеточных делений. Нужно отметить, что суточный ход митозов не является равномерным, так как наблюдаются колебания, выражающиеся в подъемах и спадах активности деления клеток (рис. 2).

Динамика митотической активности в меристеме корня в контроле отмечена дву-

вершинной кривой, где максимум делящихся клеток приходится на 24 и 6 часов утра и митотический индекс составил соответственно 420 и 320%. Снижение деления клеток после первого подъема пришлось на 3 часа, затем вновь резко повторилась. В последующее время суток наблюдается чередование спада и подъема митотической активности. Минимальные значения митотической активности приходятся на 12 и 15 часов. В остальное время показатели МИ варьировали незначительно от 280 до 300%, т.е. интенсивность клеточного деления в это время оставалось почти на одном уровне.

В целом во всех опытных вариантах характер изменения митотической активности в меристеме корешков луковички сохраняется, т.е. время подъема и спада митотического индекса такое же как в контроле и пики митотической активности приходятся на 24 и 6 часов, в то же время в количественном отношении митотический индекс имеет более высокие значения в опытных вариантах, а максимальные показатели – в третьем варианте (лазер 10 мин).

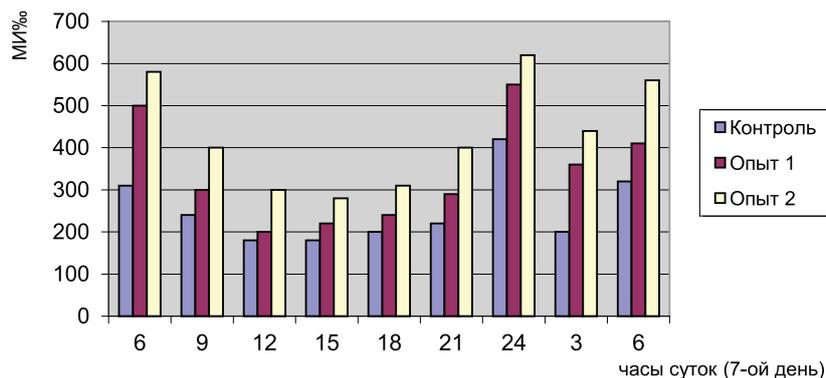


Рис. 2. Суточные изменения митотического индекса в условиях опыта

Анализ встречаемости отдельных фаз митоза показывает, что к 6 часам утра в клетках меристем корешков лукавицы в преобладающем количестве содержатся ана- и телофазы, в то время как в полночь – профазы.

Следует заметить, что ритм суточной активности может отличаться у разных видов растений и зависеть от разных причин. Так, у березы повислой максимальные значения МИ зафиксированы в 9 и 21 час, а в остальное время варьирование незначительное- от 3,6 до 4,8‰ [13], у пшеницы максимум делящихся клеток приходится на 8 и 16 часов.

Есть предположение, что суточная ритмика митотической активности может быть обусловлена ритмом биосинтеза белка и нуклеиновых кислот.

Заключение

Таким образом, лазерное облучение лукавицы лука *Allium* сера длиной волны 532 нм, мощностью 2 Вт, временем экспозиции 5 и 10 мин показал наличие стимулирующего эффекта, влияющего на процессы роста и развития на начальном этапе онтогенеза. Суточная ритмика апикальной меристемы корешка лукавицы отличается двувёршинным пиком. Максимальная митотическая активность у лука отмечена в полночь-24 часа и раннее утро 6 часов.

Знание пиков митотической активности может иметь практическое значение при проведении цитологического анализа при изучении митоза в клетках растений разных видов при выборе времени фиксации исходного материала.

Список литературы

1. Букатый В.И., Кармашков В.П. Воздействие лазерного излучения на семена сельскохозяйственных культур. 3 кн. лазер и урожай. – Барнаул: АТУ, 2009. – С. 38.
2. Беляченко Ю.А., Усанов А.Д., Тырнов Д.А., Усанов Д.А. Угасание эффекта стимуляции митотической ак-

тивности меристемы при увеличении сроков хранения сухих семян после экспозиции в низкочастотном магнитном поле // Бюллетень Ботанического сада Саратовского государственного университета. – Саратов Изд-во: Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, 2010. – № 9. – С. 132–136.

3. Лаврский А.Ю., Лебединский И.А. Влияние некоторых физических факторов на процессы митоза // Сб. научных трудов. – Екатеринбург, 2014. – С. 42–45.

4. Мизун Ю.Г. Влияние магнитного поля на растительный и животный мир // Космос и здоровье. – М., 2009. – С. 11–38.

5. Симонян Р.К., Хачатрян А.О. Влияние лазерной обработки семян на рост и развитие томата и перца // Научный журнал. – 2016. – № 03/30. – С. 61–68.

6. Nozaun M. Влияние магнитного поля на прорастание проростков и цитогенетические показатели лука *Allium* сера L. // Африк. журнал с/х исследований. – 2015. – Т (9). – С. 840–857.

7. Tedesco S.A., Langhinhaus H.D Bioindicator of genotoxicity: The *Allium cepa* test.-Environmental contamination. – 2012. – P. 137.

8. Гаджимусиева И.Т., Асварова Т.А., Абдулаева А.С. Эффект воздействия инфракрасного лазерного облучения на всхожесть семян пшеницы // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 11–9. – С. 1939–1943.

9. Крылов О.Н., Долговых О.Г., Кузнецов С.И. Исследование влияния лазерного излучения на семена овощных культур // Вавилонские чтения. – Саратов, 2017. – С. 159–163.

10. Лаврский А.Ю., Лебединский И.А., Кузаев А.Ф., Четанов Н.А., Артамонова О.А. Влияние электромагнитных колебаний различных частот на деление клеток в меристеме корня *Allium* сера // Международный научно-исследовательский журнал. Биологические науки. – 2013. – № 5–1 (12). – С. 43–44.

11. Шашурин М.М., Прокопьев И.А. Ответная реакция подорожника среднего на действие электромагнитного поля промышленной частоты // Физиология растений. – 2014. – Т. 61, № 4. – С. 517–521.

12. Буторина А.К. Ритмы суточной митотической активности у золотистой фасоли // Цитология. – 2008. – Т. 50, № 2. – С. 10–14.

13. Вострикова Т.В., Девятова Т.А. Суточная ритмика некоторых цитогенетических показателей у березы повислой // Кариология и молекулярная систематика. – 2009. – № 6. – С. 19–21.

14. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Агропромиздат, 1988. – С. 271.

15. Доспехов Б.А. Методика опытного дела. – М.: Агропромиздат, 1986. – 196 с.