

РЕГУЛЯРНІСТЬ МІТОЗУ ТА МЕЙОЗУ ОЗИМОЇ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ ЗА ДІЇ ІНСЕКТИЦИДУ МОСПІЛАН

О. Л. Січняк, Т. Є. Верьовкіна

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова

Досліджували вплив інсектициду Моспілан на паростки та рослини м'якої пшениці. Обробка Моспіланом знижувала схожість насіння та порушувала регулярність плину мітозу та мейозу. Виявлені сортові відмінності досліджених пшениць за чутливістю до препарату. Спектр порушень мітозу та мейозу свідчить про утворення хромосомних перебудов внаслідок обробки Моспіланом.

Вступ. Озима пшениця є основною зерновою культурою в Україні, площі посіву якої сягають майже 6 млн. га [1]. Потенціальна врожайність культури складає понад 100 ц/га, однак у виробничих умовах вона не реалізується. Максимальна урожайність на сортовипробувальних ділянках становила 75,4-93,0 ц/га, а середня за п'ять років по горохово-вівсяній суміші – 47,5 ц / га [2]. Навіть при рекордному урожаї в 2008 р. середня урожайність пшениці у виробництві склала 36,7 ц / га. Протягом всього періоду вегетації рослини потерпають від шкідників, що суттєво знижує урожайність. Застосування засобів захисту дозволяє запобігти цьому. При застосуванні інсектициду циткор за 2003–2004 рр. вдалося отримати прибавку урожаю зерна ярої пшениці в середньому на 3,6 ц/га, застосування препарату карате зеон дозволило збільшити урожай зерна на 12,7 %, або 6,2 ц/га [3]. Для боротьби зі шкідниками застосовують як обприскування інсектицидами у критичні періоди, так і внесення їх у ґрунт або протруєння насіння перед сівбою [4, 5].

Інсектициди нового покоління позиціонуються як відносно безпечні. Моспілан (ацетаміпрід) належить до неоникотиноїдів. Це системний інсектицид контактної-шлункової дії, ефективний при боротьбі із представниками родин *Lepidoptera*, *Hemiptera*, *Thysanoptera*, *Coleoptera* і *Homoptera*. У шкідників не розвивається стійкість до Моспілану, він має низьку норму застосування, характеризується біологічною активністю при високих температурах, має тривалий (до 3-х тижнів) термін захисту, малотоксичний для теплокровних тварин, бджіл та джмелів. Моспілан активно застосовують у багатьох країнах для боротьби з шкідниками пшениці, ячменю, ріпаку, кукурудзи, цукрового буряку, інших культур [6].

Однак питання про мутагенну активність інсектицидів як і раніше залишається актуальним [7, 8]. Тому нами провадилося дослідження з метою визначення можливої мутагенної активності інсектициду Моспілан по відношенню до м'якої пшениці та встановлення відмінностей у реакції різних

сортів озимої м'якої пшениці на обробку препаратом.

Матеріал та методи. Матеріалом досліджень служила м'яка пшениця сортів Фантазія одеська, Дар Зернограду, Московська 39, Олімпія. Оцінювали вплив інсектициду Моспілан (діюча речовина ацетаміпрід), виробник – Ніппон Сода ЛТД, Японія), водорозчинний, робоча концентрація – 2,5 г / 1 л води. Класифікація ВООЗ: III клас [6]. Оцінювали вплив препарату на лабораторну схожість насіння, на регулярність мітозу в кореневій меристемі паростків та на регулярність мейозу. Для дослідів використовували насіння у віці 2 роки.

Для експерименту з насінням і паростками використовували два варіанти обробки пророщування у воді з додаванням 0,08 мг/мл (розведення робочого розчину 1 : 2) та 0,05 мг/мл (розведення 1 : 4). Для дослідження мейозу використовували обприскування розбавленим робочим розчином (розведення 1 : 2 та 1 : 4) приблизно за два тижні до мейозу. Як контроль використовували дистильовану воду.

Лабораторну схожість оцінювали пророщуючи у ростильнях по 200 насінин у кожному варіанті досліду. Вплив препарату на кореневу меристему оцінювали за допомогою анафазного методу [9]. Насіння пророщували чергуючи тепло та холод, фіксували в оцтовому алкоголі, провадили гідроліз у 1 N HCl та забарвлювали 1 % ацетокарміном. Для оцінки впливу препарату на регулярність мейозу молоді колосся фіксували в оцтовому алкоголі, провадили передобробку 4 % розчином залізоамонійного галуноу та забарвлювали 1 % ацетокарміном [10]. Враховували частоту нормальних та дефектних тетрад мікроспор. Статистичну обробку виконували за допомогою критерію Стьюдента [11].

Результати і обговорення. Було виявлено, що обробка насіння розчинами інсектициду різної концентрації призводила до зниження схожості у всіх досліджуваних сортів м'якої пшениці прямо пропорційно збільшенню концентрації препарату (табл. 1) з високим ступенем вірогідності ($P \leq 0,001$).

Таблиця 1. Лабораторна схожість (%) насіння озимої м'якої пшениці за умов дії Моспілану

Назва сорту	Контроль	Розведення 1 : 4	Розведення 1 : 2
Дар Зернограду	87,0 ± 2,4	68,0 ± 3,3	21,0 ± 2,9
Олімпія	80,5 ± 2,8	53,5 ± 3,5	36,5 ± 3,4
Московська 39	96,0 ± 1,4	57,0 ± 3,5	41,5 ± 3,5
Фантазія одеська	97,0 ± 1,2	78,0 ± 2,9	51,0 ± 3,5

Зниження схожості, як правило відповідає зростанню кількості мутацій [12]. Привертає увагу відмінність у реакції сортів на обробку препаратом. Сорт Фантазія одеська виявився найменш чутливим до дії Моспілану. Схожість його насіння у більшості випадків в кожному з варіантів досліду була достовірно кращою, ніж у інших сортів ($P \leq 0,05$) і зменшувалась з ростом концентрації інсектициду поступово. Схожість насіння сортів Московська 39 та Олімпія при додаванні препарату зменшилася більш ніж на третину, а при збільшенні концентрації отрути зменшення схожості дещо уповільнювалось. Насіння сорту Дар Зернограду при розведенні 1 : 4 зменшувало схожість у

приблизно у такому ж ступені, як і сорт Фантазія одеська (при цьому абсолютні значення цього показника в контролі і при додаванні препарату для сорту Дар Зернограду були меншими). Однак при збільшенні концентрації Моспілану схожість насіння сорту Дар Зернограду зменшилася різко і непропорційно збільшенню концентрації отрути.

Відмінності сортів у мінливості схожості насіння можуть бути обумовлені різною проникністю покривів зернівки та паростку або функціонуванням ферментних систем, які забезпечують руйнацію отрути, що проникла. Однак беззаперечною є необхідність добору сортів для тих випадків, коли технологія вимагає протруювання насіння інсектицидом при сівбі на полях з поганим фітосанітарним станом.

Результати анафазного тесту наведені у табл. 2. В контролі частка нормальних анафаз складала 88,4 – 95,0 %. Аномальні анафази були представлені переважно анафазами з мостами (рис. 1а), та анафазами з відставаннями хромосом. Анафази з фрагментами (рис. 1б) були представлені поодинокими клітинами. При обробці розчином Моспілану частка нормальних анафаз високо достовірно ($P \leq 0,001$) зменшувалася прямо пропорційно концентрації препарату. Зменшення частки нормальних анафаз відбулося переважно за рахунок збільшення частки анафаз з мостами. Дещо менше зросла частка клітин з відставаннями хромосом під час анафази. Що до клітин з фрагментами, то їх частка змінювалася несуттєво.

Таблиця 2. Частота (%) нормальних та аномальних анафаз мітозу в кореневій меристемі паростків пшениці за впливу різних концентрацій інсектициду Моспілан

Сорт	Варіант дослідження	Нормальних анафаз	Анафаз з мостами	Анафаз з фрагментами	Анафаз з відставаннями хромосом
Дар Зернограда	Контроль	92,4 ± 1,3	4,4 ± 1,0	–	3,2 ± 0,9
	Розведення 1 : 4	58,8 ± 2,5	34,2 ± 2,4	1,0 ± 0,5	6,0 ± 1,2
	Розведення 1 : 2	48,9 ± 2,5	39,5 ± 2,5	2,8 ± 0,8	8,8 ± 1,4
Олімпія	Контроль	88,4 ± 1,6	6,7 ± 1,3	1,3 ± 0,6	3,6 ± 0,9
	Розведення 1 : 4	76,5 ± 2,1	20,8 ± 2,0	1,0 ± 0,5	1,8 ± 0,7
	Розведення 1 : 2	62,0 ± 2,4	29,5 ± 2,3	2,0 ± 0,7	6,6 ± 1,2
Московська 39	Контроль	95,0 ± 1,1	2,0 ± 0,5	1,3 ± 0,3	1,7 ± 0,6
	Розведення 1 : 4	69,5 ± 2,3	24,0 ± 2,1	0,3 ± 0,3	6,3 ± 1,2
	Розведення 1 : 2	53,6 ± 2,5	34,5 ± 2,4	2,5 ± 0,8	9,4 ± 1,5
Фантазія одеська	Контроль	92,7 ± 1,3	3,0 ± 0,9	0,8 ± 0,4	3,5 ± 0,9
	Розведення 1 : 4	78,1 ± 2,1	18,4 ± 1,9	0,7 ± 0,4	2,7 ± 0,8
	Розведення 1 : 2	66,8 ± 2,3	28,7 ± 2,2	1,5 ± 0,6	2,9 ± 0,8

Серед анафаз з мостами спостерігали головним чином клітини з одиночними мостами. Це свідчить про здійснення переважно хроматидних асиметричних обмінів [13].

Досліджувані сорти відрізнялися за реакцією на Моспілан. Найменш чутливим до мутагенної дії препарату виявився сорт Фантазія одеська. В обох

варіантах експерименту у нього спостерігалось достовірно ($P \leq 0,001$ і $P \leq 0,01$) більше клітин з нормальним протіканням анафази, ніж у сортів Дар Зернограда і Московська 39. Відмінності з сортом Олімпія, який мав дещо менше нормальних анафаз, виявилися недостовірними. Найбільш чутливою до дії препарату виявилася коренева меристема сорту Дар Зернограда, який в більшості випадків мав достовірно ($P \leq 0,001$ і $P \leq 0,01$) менше нормальних анафаз.

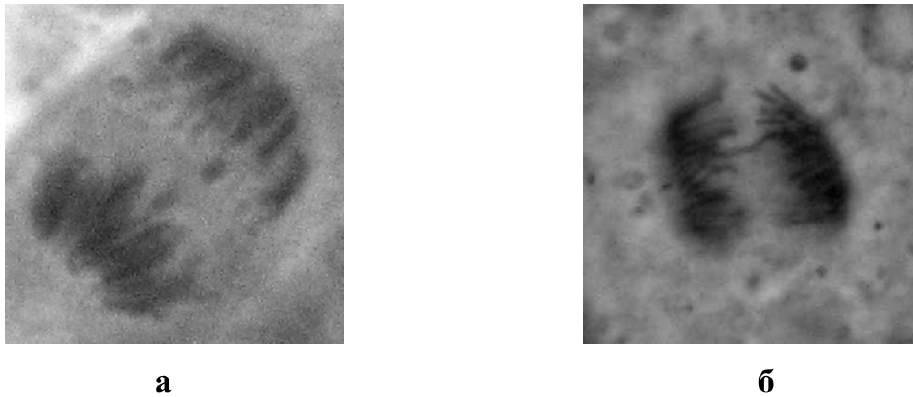


Рис. 1. Анафаза мітозу з мостом (а) та двома фрагментами (б) в екваторіальній площині клітини. Об. $\times 40$, ок. $\times 10$.

Результати вивчення ефекту Моспілану на плин мікроспорогенезу наведені у табл. 3.

Таблиця 3. Частота (%) нормальних та дефектних продуктів мейозу за впливу різних концентрацій інсектициду Моспілан

Сорт	Варіант досліджу	Нормальних тетрад	Тетрад з мікроядрами	Нетипових тетрад	Поліад
Дар Зернограда	Контроль	90,3 \pm 1,7	2,3 \pm 0,9	3,3 \pm 1,0	4,0 \pm 1,1
	Розведення 1 : 4	77,0 \pm 2,4	3,7 \pm 1,1	6,3 \pm 1,4	13,0 \pm 1,9
	Розведення 1 : 2	85,3 \pm 2,0	5,3 \pm 1,3	2,3 \pm 0,9	7,0 \pm 1,5
Олімпія	Контроль	91,7 \pm 1,6	4,7 \pm 1,2	1,7 \pm 0,7	2,0 \pm 0,8
	Розведення 1 : 4	84,0 \pm 2,1	7,7 \pm 1,5	2,3 \pm 0,9	6,0 \pm 1,4
	Розведення 1 : 2	86,7 \pm 2,0	7,0 \pm 1,5	–	6,3 \pm 1,4
Московська 39	Контроль	85,0 \pm 2,1	2,7 \pm 0,9	4,3 \pm 1,2	8,0 \pm 1,6
	Розведення 1 : 4	77,7 \pm 2,4	11,3 \pm 1,8	5,7 \pm 1,3	5,3 \pm 1,3
	Розведення 1 : 2	67,7 \pm 2,7	17,0 \pm 2,2	1,3 \pm 0,7	14,0 \pm 2,0
Фантазія одеська	Контроль	99,0 \pm 0,6	1,0 \pm 0,6	–	–
	Розведення 1 : 4				
	Розведення 1 : 2				

В контролі найбільш регулярний мейоз був у місцевого сорту Фантазія одеська. У трьох інших сортів спостерігався певний ступінь порушень мейозу. Величина мейотичного індексу (частка нормальних тетрад мікроспор) цих сортів достовірно ($P \leq 0,05$ та $P \leq 0,001$) поступалася даному показнику Фантазії одеської. Сорт Московська 39 мав найбільший ступінь порушень – в контролі спостерігалось лише 85 % нормальних тетрад мікроспор. Сорти Дар Зернограда, Олімпія та Московська 39 відрізнялися за спектром дефектних продуктів мейозу. У сортів Дар Зернограда та Московська 39 переважали пору-

шення веретена поділу, внаслідок чого основну частку порушень складала нетипові тетради та поліади. У сорту Олімпія основну частку дефектних продуктів мейозу складала тетради з мікроядрами, що свідчить про більший вклад в порушення мейозу хромосомних перебудов та порушень кон'югації хромосом.

Обприскування рослин розчином Моспілану в більшості випадків привело до достовірного зменшення частки нормальних тетрад. Чітких закономірностей у зміні спектру дефектних продуктів мейозу немає, однак частіше збільшувалася частка тетрад з мікроядрами та поліад. Частка нетипових тетрад змінювалася менш суттєво.

Обробка Моспіланом по різному вплинула на плин мікроспорогенезу у досліджених сортів. Як і у попередніх випадках, найменш чутливим до дії препарату виявився сорт Фантазія одеська. В більшості випадків у нього спостерігалася достовірно ($P \leq 0,05$ та $P \leq 0,001$) більша частка нормальних тетрад. Найбільш чутливим виявився сорт Московська 39 при обприскуванні препаратом у розведенні 1 : 2. Частка нормальних тетрад у нього була достовірно ($P \leq 0,001$) меншою ніж у трьох інших сортів. Слід зазначити, що при дослідженні мейозу не спостерігалось раніше відміченої прямо пропорційної залежності між ростом концентрації препарату і збільшенням аномалій. В ряді випадків при обробці розчином Моспілану у розведенні 1 : 4 мейоз був порушений більше, ніж при розведенні 1 : 2. Ми бачимо дві можливі причини цього. По-перше, можлива нерівномірна обробка рослин при обприскуванні, внаслідок чого до спорогенної тканини дісталися різні кількості діючої речовини. По-друге, не можна виключити нерівномірність розвитку рослин, внаслідок чого при обробці не всі рослини знаходилися у критичній стадії розвитку щодо чутливості до несприятливих умов середовища. Наприклад, при дослідженні впливу високої температури на плин мейозу [14] встановлено наявність певного проміжку часу (приблизно за два тижні до початку мейозу), коли рослини чутливі до температури, наслідком чого є порушення мейозу. Крім того, на регулярність мейозу у пшениці крім пестицидів здатні впливати і грибкові захворювання, і шкідники [15]. Зрозуміло, що після обробки Моспіланом шкідників не було, але до обробки рослини могли різнитися за ступенем ураження.

Таким чином, зважаючи на зменшення схожості насіння, збільшення частки аномальних анафаз в кореневій меристемі та частки аномальних продуктів мікроспорогенезу можна зробити висновок про мутагенний вплив Моспілану. Виявлені сортові відмінності в чутливості до такого впливу роблять актуальною проблему добору найбільш придатних для конкретних сортів препаратів. Не менш актуальним є питання дотримання правил безпеки при роботі з препаратом, оскільки не виключена його мутагенна дія на персонал, тим більше, що є багато інформації на цю тему [12].

Висновки

1. Обробка інсектицидом Моспілан знижувала схожість насіння та порушувала регулярність плин мейозу та мейозу. Виявлені сортові відмінності досліджених пшениць за чутливістю до препарату.

2. Спектр порушень мітозу та мейозу свідчить про утворення хромосомних перебудов внаслідок обробки Моспіланом.

Література

1. Структура посівних площ зернових культур у 2006-2007 рр. [Електронний ресурс] // www.minagro.gov.ua/page/?4520
2. Литвиненко Н.А. Одесские сорта озимой пшеницы // Хранение и переработка зерна [Електронний ресурс] // www.apk-inform.com/showart.php?id=9264
3. Званкович В. К. Защита яровой пшеницы от основных листогрызущих вредителей // Весці нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Сер. агр. нав. – 2005. – № 5 – С. 106-108.
4. Защита и питание растений [Електронний ресурс] // www.planta-company.ru/catalogue/insekticid/aktara.html
5. Довгань С. В. Озимині – надійний захист // Головна державна інспекція захисту рослин [Електронний ресурс] // [golovdergzahist.com.ua / ozimini_nadiijnij_zahist_05.08.2008r_html.html](http://golovdergzahist.com.ua/ozimini_nadiijnij_zahist_05.08.2008r_html.html)
6. Югагро. Защита растений. Инсектициды : Моспилан [Електронний ресурс] // www.ugagro.biz/protect/insecticide/mospilan/
7. Айрапетян Р.Б. Цитогенетическая активность некоторых инсектицидов на хромосомный аппарат лука. //Биологический журнал Армении. – 1987. – № 2. – С. 14-18.
8. Кравчук О.П. Принципові підходи до гігієнічного регламентування пестицидів з урахуванням їх мутагенної активності. Матеріали науково-практичної конференції "Актуальні проблеми екогігієни і токсикології". – Київ, 1998. – Ч. 1. – С. 136-142.
9. Практикум по цитогенетике / Гостимский С.А., Дьякова М.И., Ивановская Е.В., Монахова М.А. – М.: Изд-во МГУ, 1974. – 172 с.
10. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Агропромиздат 1988. – 271 с.
11. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – Минск: Вышэйшая школа, 1973. – 319 с.
12. Ауэрбах Ш. Проблемы мутагенеза. – М.: Мир, 1978. – 464 с.
13. Бочков Н.П., Демин Ю.С., Лучник Н.В. Классификация и методы учета хромосомных aberrаций в соматических клетках // Генетика. – 1972. – Т. 8, № 5. – С. 133-141.
14. Kato T., Yamagata H.E. Stage dependency of high-temperature effect on homoeologous chromosome pairing in wheat-rye F₁ plants // Jap. J. Genet. – 1982. – V. 57, № 2. – P. 155-162.
15. Serena M.J.C., Fernandes M.I., Zanettini M.H.B. Effects of pesticides, fungal diseases and pests on the meiotic behavior of wheats // Rew. brazil. genet. – 1981. – V. № 4. – P. 593-609.

Изучали влияние инсектицида Моспилан на проростки и растения мягкой пшеницы. Обработка Моспиланом снижала всхожесть семян и нарушала регулярность течения митоза и мейоза. Выявлены сортовые отличия исследованных пшениц по чувствительности к препарату. Спектр нарушений митоза и мейоза свидетельствует о наличии хромосомных перестроек в результате обработки Моспиланом.

The influence of insecticide Mospilan on plantlets and plants of bread wheat was studied. Treatment with Mospilan reduced germination capacity of seeds and broke a regularity current of mitoses and meioses. The varieties differences of investigated wheats on sensitivity a preparation are revealed. The spectrum of infringements of mitoses and meioses testifies to presence of chromosomal reorganizations as a result of treatment with Mospilan.