

УДОСКОНАЛЕННЯ СПОСОБУ ВИЗНАЧЕННЯ МІТОТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ В КОРИНЦЯХ АМАРАНТУ

ГУДИМ О.В. – кандидат сільськогосподарських наук, доцент
orcid.org/0000-0002-0733-3006

Державний біотехнологічний університет

ГОПЦІЙ Т.І. – доктор сільськогосподарських наук, професор
orcid.org/0000-0003-0288-7592

Державний біотехнологічний університет

ЛИМАНСЬКА С.В. – кандидат біологічних наук, доцент
orcid.org/0000-0001-7049-4884

Державний біотехнологічний університет

Постановка проблеми. Одним із основних завдань мутаційної селекції рослин є вивчення генетичної активності мутагенних факторів з метою встановлення оптимальних умов для отримання максимальної кількості спадкових змін у вихідному рослинному матеріалі [1]. Як відомо, спонтанні мутації зумовлені змінами у молекулярній структурі генів, кількості або структурі хромосом. Вони є єдиним джерелом появи принципово нових ознак і властивостей живих організмів. Усі мутагенні фактори, що використовуються для створення нових форм, поділяються на фізичні, хімічні та біологічні. До фізичних мутагенів належать радіація, температурний фактор, ультразвук. Радіація представлена електромагнітним та корпускулярним випромінюванням. Найефективніше у практичній селекції використовується електромагнітне випромінювання, зокрема гамма-випромінювання.

Дослідження низки науковців [2; 3] переконливо демонструють, що за допомогою мутагенів можна змінювати такі ознаки, як урожайність, висота стебла, щільність колоса, забарвлення та якість зерна, стійкість до хвороб тощо, водночас зберігаючи основний комплекс властивостей вихідного сорту.

Однак отримання мутантів і їх застосування у селекційному процесі потребує вивчення генетичної природи виникаючих змін, що має велике значення для підбору ефективних і специфічно діючих мутагенів. Тому, велику увагу приділяють вивченню рівня мітотичної активності, частоти та спектра хромосомних аберацій у перших пострадіаційних мітотичних циклах клітин кореневої меристеми дозволяє отримати достовірну оцінку рівня первинних пошкоджень генетичних систем і активності репараційних процесів [2].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Одним із переконливих доказів впливу мутагенів та основних показників генетичної мінливості організмів на клітинному рівні є хромосомні аберації, поява яких залежить від природи та дози мутагена, а також від чутливості клітин різних генотипів до мутагенного впливу [3; 4]. Під впливом високих доз змінюються структура і функції геному, що проявляється у загальному збільшенні

частки клітин із хромосомними абераціями, пригніченні, затримці й навіть повному припиненні мітозів [5].

Цитологічними методами дослідження амаранту почав займатися F.W. Grant ще у 60-х роках XX століття, а у 1972 році цю роботу продовжили Т. N. Khoshoo та Pal M. [6], які зосередили увагу на більш детальному вивченні хромосом. Починаючи з 90-х років XX століття, науковці проводили дослідження з підрахунку кількості хромосом у різних видів амаранту та створення ідіограм. В Україні в 90-х рр. XX ст. вченими Харківського державного аграрного університету, під керівництвом Т. І. Гопцій [7], були проведені дослідження з вивчення протікання мітозу в кореневій меристемі різних видів амаранта та утворення хромосомних аберацій під впливом фізичного мутагенезу.

У 2013 році Bonarosa M. та співавтори [8] досліджували хромосомні аберації у мітозі, мінливість і розподіл гетерохроматину в клітинах амаранту.

Селекція амаранту ускладнена змішаною системою запилення [9] та прихованою мінливістю його геному [10]. Тому для цієї культури важливим є пошук методів, що дозволяють розширити та підвищити ефективність різних селекційно-генетичних програм. У зв'язку з цим необхідне вивчення генетики окремих ознак амаранту, що має велике значення для виявлення та збереження генетичного різноманіття культури, допомагає обрати найефективніші методи та напрями роботи зі створення нового селекційного матеріалу [11; 12; 13].

Метою наших досліджень було удосконалити існуючу методику приготування тимчасових препаратів для огляду фаз мітозу і встановлення мітотичної активності в корінцях амаранту.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проводились на кафедрі генетики, селекції та насінництва Державного біотехнологічного університету. Вихідним матеріалом для дослідження були три сорти амаранту виду *Amaranthus hypochondriacus* (Сем, Харківський 1, Студентський). Проводили обробку насіння фізичним мутагеном (гамма-випромінюванням). Джерело опромінення – ⁶⁰Co. Дози опромінення: 15 Гр, 30 Гр, 40 Гр, 150 Гр, 400 Гр і 700 Гр. Місце проведення обробки – ННЦ

Інститут метрології (Україна, Харків). Установа – ДЕТУ 12-05-02.

Контролем слугувало необроблене насіння амаранту.

Для лабораторних цитогенетичних досліджень використовували 100 насінин кожного сорту, кожного варіанту опромінення. Для визначення мітотичної активності меристематичних тканин проростків амаранта у кожному варіанті аналізували 5000 клітин з 10 корінців. Підраховували кількість клітин в різних фазах мітозу (профаза, метафаза, анафаза, телофаза) відповідно до загальноприйнятої методики [7; 14].

Відомий спосіб приготування давлених тимчасових препаратів для огляду фаз мітозу полягає в наступних діях:

– насіння розміщують в чашках Петрі на зволожений 5 мл дистильованої води фільтрувальний папір, потім поміщають в термостат при температурі 22 °С–24 °С на 24 години. Воду зливають і поміщають насіння в холодильник на 5 годин при температурі 0 °С–2 °С. Потім знову в термостат поки корінці не досягнуть довжини 0,5 см. Зміна температурного режиму призводить до мітотичної активності в клітинах корінця;

– пінцетом корінці обривають і фіксують в бюксах з оцтовим алкоголем (3:1) на 12 годин, після цього матеріал промивають та зберігають в 70 % розчині спирту, далі пінцетом корінці розміщують на предметному склі,

лезом відокремлюють зону ділення, скляною піпеткою нанести 2–3 краплини ацетокарміну, накривають покривним склом, роздавлюють сірником корінець. Перегляд фаз починають на малому збільшенні далі переключають на середнє

Мітотичний індекс (MI) визначали в промілі, тобто кількість мітозів на 1000 клітин [7; 14].

Результати досліджень. Труднощі одержання якісних препаратів для проведення цитологічних досліджень у амаранта полягають в тому, що він чутливий до температури пророщування насіння, що впливає на характер протікання мітозу та його інтенсивність. Дослідження з *A. hypochondriacus* показали, що температура 20–25 °С уповільнює утворення меристематичних клітин, в той час як температура 35 °С сприяє активізації протікання мітозу. Крім того було встановлено, що характеру протікання мітозу у амаранта притаманна деяка періодичність. Підвищення мітотичної активності було вдень при температурі пророщування 35 °С, досягаючи свого піку о 12 годині дня при тридобовому пророщуванні. Потім спостерігається спад і найменша мітотична активність спостерігалась о 15 годині. При температурному режимі пророщування 25 °С спостерігалось уповільнення мітотичної активності, що призводить до збільшення профаз і телофаз. Мітотичний індекс визначався з урахуванням кожної фази мітозу [14; 15].

Таблиця 1

Мітотична активність у корінцях амаранту під впливом гамма-опромінення (t=25 °С)

Сорт	Доза	Досліджено клітин	Кількість клітин в фазах								Мітотичний індекс, ‰
			профаза		метафаза		анафаза		телофаза		
			клітин	%	клітин	%	клітин	%	клітин	%	
Студентський	K**	5000	281	5,6	171	3,4	161	3,2	262	5,2	17,5
	15 Гр	5000	265	5,3	164	3,3	146	2,9	232	4,6	16,1
	30 Гр	5000	242	4,8	144	2,8	139	2,8	214	4,2	14,8
	40 Гр	5000	221	4,4	132	2,6	133	2,6	189	3,8	13,5
	150 Гр	5000	181	3,6	115	2,2	122	2,4	152	3,1	11,4*
	400 Гр	5000	165	3,3	94	1,8	116	2,3	149	2,9	10,4*
	700 Гр	5000	158	3,2	92	1,3	111	2,2	146	2,8	10,1*
	HIP _{0,5}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,3
Харківський-1	K**	5000	268	5,3	159	3,2	157	3,6	254	5,1	16,7
	15 Гр	5000	252	5,1	142	2,8	154	3,1	259	5,2	16,1
	30 Гр	5000	238	4,8	139	2,7	147	2,9	231	4,6	15,1
	40 Гр	5000	222	4,4	118	2,3	136	2,7	220	4,4	13,9
	150 Гр	5000	189	3,8	109	1,8	114	2,3	206	4,1	12,2*
	400 Гр	5000	161	3,2	89	1,7	112	2,2	187	3,7	10,9*
	700 Гр	5000	156	3,1	86	1,6	104	2,1	163	3,2	10,2*
	HIP _{0,5}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,5
Сем	K**	5000	276	5,5	165	3,3	166	3,3	264	5,3	17,4
	15 Гр	5000	265	5,3	152	3,1	150	3,1	253	5,1	16,4
	30 Гр	5000	259	5,2	145	2,8	146	2,9	232	4,6	15,6
	40 Гр	5000	232	4,6	132	2,6	132	2,6	188	3,7	13,7
	150 Гр	5000	198	4,9	116	2,2	121	2,4	176	3,5	12,4*
	400 Гр	5000	164	3,3	93	1,8	118	2,3	153	3,1	10,6*
	700 Гр	5000	158	3,1	78	1,5	105	2,1	148	2,9	9,9*
	HIP _{0,5}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,1

Примітка. * – різниця з контролем достовірна при P=0,95, K** – контроль

Було встановлено, що максимум метафаз і анафаз спостерігався на третю добу пророщування о 12 годині дня, що дуже важливо враховувати при підготовці матеріалу для фіксації. Установлено також, що оптимальна довжина корінців 1,0–1,5 см. Корінці більшої або меншої довжини виявилися непридатними для дослідження [7; 15].

Результати дослідження мітотичної активності кореневої меристеми насіння амаранту після гамма-опромінення свідчать про відмінність сортів Студентський, Харківський-1 і Сем за кількістю клітин, які перебували в стадіях мітозу. При температурному режимі 25 °С було виявлено, що в усіх варіантах максимальна кількість клітин знаходилася в профазі (табл. 1). Так, наприклад, у сорту Студентський у контрольному варіанті кількість клітин в профазі становила 5,6 % від загальної кількості досліджених клітин, в дозі 15 Гр – 5,3 %, 150 Гр – 3,6 %, 700 Гр – 3,2 %. За температурного режиму 25 °С було відмічено зниження відсотку клітин в метафазі та анафазі порівняно з профазою. Тому, в контролі сорту Студентський ідентифіковано 3,4 % метафазних та 3,2 % анафазних клітин, при опроміненні дозою 150 Гр отримали 2,2 % метафаз і 2,4 % анафаз, а за дози 700 Гр – кількість метафазних клітин становила лише 1,3 %. При цьому мітотичний індекс варіював від 16,4 % при дозі 15 Гр

до 10,1 % за опромінення 700 Гр. Аналогічну ситуацію за досліджуваними показниками ми спостерігали і в інших сортів амаранта.

При температурному режимі 35 °С відмічалось збільшення кількості клітин у метафазах, анафазах та збільшення мітотичної активності в цілому (табл. 2) [15; 16]. Так, у сорту Студентський мітотичний індекс дозі 15 Гр склав 38 %, що на 0,6 % перевищував результат отриманий в контролі – 37,4 %. У той же час обробка насіння дозами 150 Гр, 400 Гр і 700 Гр негативно впливала на процес ділення клітин, а іноді і призводила до повного пригнічення мітотичної активності. Так, у сорту Студентський мітотичний індекс в дозі 150 Гр був меншим, ніж у контролі на 4,0 % і становив 33,4 %, а під дією дози опромінення 700 Гр – 29 %.

У результаті дослідження також було доведено, що забарвлення корінців амаранта розчином ацетокарміну шляхом підігріву викликає помутніння цитоплазми клітин, що ускладнює проведення цитологічних досліджень (рис. 1). Щоб одержати матеріал придатний для дослідження краще витримувати корінці амаранта в розчині ацетоарсеїну протягом 1–2 діб, що сприяє поступовому проникненню барвника в тканину [17; 18].

Висновки. Удосконалено спосіб приготування тимчасових давлених препаратів для визначення мітотичної активності в меристемах сортів амаранта. Суть

Таблиця 2

Мітотична активність у корінцях амаранту під впливом гамма-опромінення (t=35 °С)

Сорт	Доза	Досліджено клітин	Кількість клітин в фазах								Мітотичний індекс, %
			профаза		метафаза		анафаза		телофаза		
			клітин	%	клітин	%	клітин	%	клітин	%	
Студентський	K**	5000	380	7,6	570	11,4	560	11,2	361	7,2	37,4
	15 Гр	5000	364	7,3	565	11,3	549	10,9	331	6,6	38,0
	30 Гр	5000	341	6,8	543	10,8	538	10,8	311	6,2	34,7
	40 Гр	5000	320	6,4	530	10,6	530	10,6	288	5,8	33,4*
	150 Гр	5000	280	5,6	514	10,2	520	10,4	251	5,1	31,3*
	400 Гр	5000	264	5,3	493	9,8	517	10,3	248	4,9	30,1*
	700 Гр	5000	259	5,2	495	9,3	510	10,2	245	4,8	29,5*
	HIP _{0,5}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,6
Харківський 1	K**	5000	367	7,3	558	11,2	558	11,6	353	7,1	36,7
	15 Гр	5000	351	7,1	541	10,8	553	11,1	358	7,2	36,9
	30 Гр	5000	339	6,8	538	10,7	548	10,9	330	6,6	35,1
	40 Гр	5000	321	6,4	519	10,3	535	10,7	321	6,4	33,9
	150 Гр	5000	288	5,8	490	9,8	515	10,3	305	6,1	31,9*
	400 Гр	5000	260	5,2	488	9,7	511	10,2	286	5,7	30,9*
	700 Гр	5000	255	5,1	482	9,6	506	10,1	262	5,2	30,1*
	HIP _{0,5}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,1
Сем	K**	5000	375	7,5	564	11,3	564	11,3	363	7,3	37,3
	15 Гр	5000	364	7,3	551	11,1	551	11,1	352	7,1	37,4
	30 Гр	5000	358	7,2	544	10,8	544	10,9	331	6,6	35,5
	40 Гр	5000	331	6,6	531	10,6	531	10,6	287	5,7	33,6*
	150 Гр	5000	297	5,9	512	10,2	522	10,4	275	5,5	32,1*
	400 Гр	5000	263	5,3	491	9,8	516	10,3	252	5,1	30,4*
	700 Гр	5000	257	5,1	475	9,5	508	10,1	249	4,9	29,8*
	HIP _{0,5}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,4

Примітка. * – різниця з контролем достовірна при P=0,95, K** – контроль

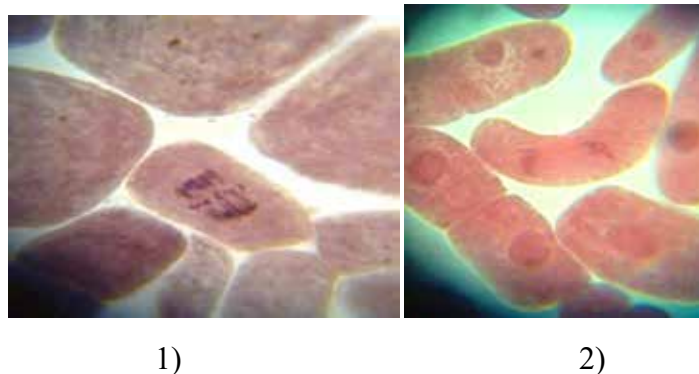


Рис. 1. Зображення меристематичних клітин амаранту (1 – барвник ацетоарсеїн; 2 – барвник ацетокармін)

удосконалення полягає в тому, що що насіння пророщують в термостаті при температурі 35 °C 24 години, корінці фіксують в оцтовому алкоголі протягом 12 годин, послідовно промивають 70 % розчином спирту і поміщають в бюкси з ацетоарсеїном на 1–2 доби, забарвлений матеріал розміщують на предметному склі, додають 1–2 краплини 45 % оцтової кислоти, накривають покривним склом, підігрівають над спиртівкою декілька секунд роздавляють сірником, при роботі з мікроскопом на збільшенні 100 використовують імерсійне масло. Запропоноване вдосконалення сприяє визначенню достовірної об'єктивної оцінки селекційного матеріалу за мітотичною активністю.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

- Mekonnen G., Woldeesenbet M., Teshale T. et. al. *Amaranthus caudatus* Production and Nutrition Contents for Food Security and Healthy Living in Menit Shasha, Menit Goldya and Maji Districts of Bench Maji Zone, South Western Ethiopia. *Nutrition & Food Science International Journal*. 2018. Vol. 7, No 3. doi.org/10.19080/NFSIJ.2018.07.555712.
- Tang Y., Tsao R. Phytochemicals in quinoa and amaranth grains and their antioxidant, anti inflammatory, and potential health beneficial effects: a review. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2017. Vol. 61. No 7. P. 1600767 (1–16). doi: 10.1002/mnfr.201600767
- Topwal M. Review on Amaranth: Nutraceutical and Virtual Plant for Providing Food Security and Nutrients. *Acta scientific agriculture*. 2019. Vol. 3, No. 1. P. 9–15.
- Karamać M., Gai F., Longato E. et. al. Antioxidant Activity and Phenolic Composition of Amaranth (*Amaranthus caudatus*) during. *Plant Growth. Antioxidants*. 2019. Vol. 8, No. 6. doi.org/10.3390/antiox8060173.
- Stankevich G., Valentiuk N., Ovsianynkova L., Zhygunov D. Changes in quality of amaranth grain in the process of post-harvesting processing and storage. *Food Science and Technology*. 2021. 15 (1). С. 80–90.
- Khosho, T. N., Pal, M., Lewis, K. R. Cytogenetic patterns in *Amaranthus* // *Chromosomes Today*. – New York, 1972. – P. 259–267.
- Гопцій, Т. І. *Амарант: біологія, вирощування, перспективи використання, селекція: монографія*. – Харків : ХДАУ, 1999. – 273 с.
- Bonarosa, M., Poggio, L., Greizerstein, E. Cytogenetic studies in four cultivated *Amaranthus* (*Amaranthaceae*) species. – USA: Comp Cytogenet, 2013. – V. 7(1). – 114 p.
- Guardianelli L. M., Salinas M. V., Puppo M. C. Hydration and rheological properties of amaranth-wheat flour dough: Influence of germination of amaranth seeds. *Food Hydrocolloids*. 2019. Vol. 97. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105242
- Sanz-Penella J. M., Laparra J. M., Sanz Y. et. al. Bread Supplemented with Amaranth (*Amaranthus cruentus*): Effect of Phytates on In Vitro Iron Absorption. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2012. Vol. 67 Iss. 1. P. 50–56. doi.org/10.1007/s11130-011-0269-6.
- Liu S., Chen D., Xu J. Characterization of amaranth and bean flour blends and the impact on quality of gluten-free breads. *Journal of food measurement and characterization*. 2019. Vol. 13, Iss. 2. P. 1440–1450. doi.org/10.1007/s11694-019-00060-4
- Iftikhar M., Khan M. Amaranth. *Bioactive Factors and Processing. Technology for Cereal Foods*. 2019. P. 217–232. doi.org/10.1007/978-981-13-6167-8_13.
- Guardianelli L. M., Salinas M. V., Puppo M. C. Chemical and thermal properties of flours from germinated amaranth seeds. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2019. Vol. 13. P. 1078–1088.
- Гопцій, Т. І., Воронков, М. Ф., Бобро, М. А. та ін. *Амарант: селекція, генетика та перспективи вирощування: монографія*. – Харків: ХНАУ, 2018. – 362 с.
- Гудим, О. В., Гопцій, Т. І. Вплив передпосівної обробки насіння амаранту гамма-променями на частоту виникнення мітотичних порушень в кореневій меристемі рослин. *Селекція і насінництво: міжвідомчий тематичний науковий збірник* / НААН, Ін-т рослинництва ім. В. Я. Юр'єва. – Харків, 2016. – Вип. 109. – С. 119–124.
- Гудим, О. В. Спосіб визначення мітотичних порушень в корінцях амаранту для використання в мутаційній селекції: пат. 05276 Україна № 124674 / заявл. 29.05.2017; опубл. 24.05.2018, Бюл. № 8. – 4 с.

REFERENCES:

- Mekonnen, G., Woldeesenbet, M., Teshale, T., et al. (2018). *Amaranthus caudatus* production and nutrition contents for food security and healthy living in Menit Shasha, Menit Goldya, and Maji districts of Bench Maji Zone, South Western Ethiopia. *Nutrition & Food Science International Journal*, 7(3). doi.org/10.19080/NFSIJ.2018.07.555712

2. Tang, Y., & Tsao, R. (2017). Phytochemicals in quinoa and amaranth grains and their antioxidant, antiinflammatory, and potential health beneficial effects: A review. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(7), 1600767. doi.org/10.1002/mnfr.201600767
 3. Topwal, M. (2019). Review on amaranth: Nutraceutical and virtual plant for providing food security and nutrients. *Acta Scientific Agriculture*, 3(1), 9–15.
 4. Karamać, M., Gai, F., Longato, E., et al. (2019). Antioxidant activity and phenolic composition of *Amaranthus caudatus* during plant growth. *Antioxidants*, 8(6). doi.org/10.3390/antiox8060173
 5. Stankevich, G., Valentiuk, N., Ovsianynkova, L., & Zhygunov, D. (2021). Changes in quality of amaranth grain in the process of post-harvesting processing and storage. *Food Science and Technology*, 15(1), 80–90.
 6. Khoshoo, T. N., Pal, M., & Lewis, K. R. (1972). Cytogenetic patterns in *Amaranthus*. In *Chromosomes Today* (pp. 259–267). New York.
 7. Hoptsi, T. I. (1999). Amaranth: biologiya, vyroshchuvannya, perspektyvy vykorystannia, selektsiia: monohrafiia. [Amaranth: biology, cultivation, usage prospects, breeding: monograph]. Kharkiv: KhDAU, 273 p. [in Ukrainian].
 8. Bonarosa, M., Poggio, L., & Greizerstein, E. (2013). Cytogenetic studies in four cultivated *Amaranthus* (Amaranthaceae) species. *Comparative Cytogenetics*, 7(1), 114.
 9. Guardianelli, L. M., Salinas, M. V., & Puppo, M. C. (2019). Hydration and rheological properties of amaranth-wheat flour dough: Influence of germination of amaranth seeds. *Food Hydrocolloids*, 97. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105242
 10. Sanz-Penella, J. M., Laparra, J. M., Sanz, Y., et al. (2012). Bread supplemented with amaranth (*Amaranthus cruentus*): Effect of phytates on in vitro iron absorption. *Plant Foods for Human Nutrition*, 67(1), 50–56. doi.org/10.1007/s11130-011-0269-6
 11. Liu, S., Chen, D., & Xu, J. (2019). Characterization of amaranth and bean flour blends and the impact on quality of gluten-free breads. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(2), 1440–1450. doi.org/10.1007/s11694-019-00060-4
 12. Iftikhar, M., & Khan, M. (2019). Amaranth: Bioactive factors and processing. In *Technology for Cereal Foods* (pp. 217–232). doi.org/10.1007/978-981-13-6167-8_13
 13. Guardianelli, L. M., Salinas, M. V., & Puppo, M. C. (2019). Chemical and thermal properties of flours from germinated amaranth seeds. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13, 1078–1088.
 14. Hoptsi, T. I., Voronkov, M. F., Bobro, M. A. et al. (2018). Amaranth: selektsiia, henetyka ta perspektyvy vyroshchuvannya: monohrafiia. [Amaranth: breeding, genetics, and cultivation prospects: monograph]. Kharkiv: KhNAU, 362 p. [in Ukrainian].
 15. Hudym, O. V., Hoptsi, T. I. (2016). Vplyv peredposivnoi obrobky nasinnia amaranthu hamma-promeniama na chastotu vynykennia mitotichnykh porushen v korenevii merystemi roslyn [Effect of pre-sowing treatment of amaranth seeds with gamma rays on the frequency of mitotic disorders in root meristem of plants]. *Breeding and seed production: interdepartmental thematic scientific collection / NAAS, V.Ya. Yuriev Institute of Plant Production, Kharkiv, Issue 109*, pp.119–124. [in Ukrainian]
 16. Hudym, O.V. (2018). Sposib vyznachennia mitotichnykh porushen v korintsakh amaranthu dlia vykorystannia v mutatsiyni selektsii: pat. 05276 Ukraina № 124674 / zaiavl. 29.05.2017; opubl. 24.05.2018, Biul. № 8 – 4 s. [Method for determining mitotic disorders in amaranth roots for use in mutation breeding: patent 05276 Ukraine No. 124674 / appl. 29.05.2017; publ. 24.05.2018, Bull. No. 8 – 4 p.] [in Ukrainian].
- Гудим О.В., Гопцій Т.І., Лиманська С.В.**
Удосконалення способу визначення мітотичної активності в корінцях амаранту
- Мета.** Мета дослідження – удосконалити існуючу методику приготування препаратів для встановлення мітотичної активності у меристематичних клітинах амаранта.
- Методи.** Вихідним матеріалом для дослідження були три сорти амаранту виду *Amaranthus hypochondriacus* (Сем, Харківський 1, Студентський). Проводили обробку насіння фізичним мутагеном (гамма-випромінюванням). Джерело опромінення – ^{60}Co . Дози опромінення: 15 Гр, 30 Гр, 40 Гр, 150 Гр, 400 Гр і 700 Гр. Місце проведення обробки – ННЦ Інститут метрології (Україна, Харків). Установка – ДЕТУ 12-05-02. Контролем слугувало необроблене насіння амаранту. Для лабораторних цитогенетичних досліджень використовували 100 насінин кожного сорту, кожного варіанту опромінення. Для визначення мітотичної активності меристематичних тканин проростків амаранта використовували тимчасові давлені препарати, які готували відповідно до загальноприйнятої методики. У кожному варіанті аналізували 5000 клітин з 10 корінців. Підраховували кількість клітин в різних фазах мітозу (профаза, метафаза, анафаза, телофаза).
- Результати.** Дослідження з *A. hypochondriacus* показали, що температура 20–25 °C уповільнює утворення меристематичних клітин, в той час як температура 35 °C сприяє активізації протікання мітозу. Також було доведено, що забарвлення корінців амаранта розчином ацетокарміну шляхом підігріву викликає помутніння цитоплазми клітин, що ускладнює проведення цитологічних досліджень. Щоб одержати матеріал придатний для дослідження краще витримувати корінці амаранта в розчині ацетоарсеїну протягом 1–2 діб, що сприяє поступовому проникненню барвника в тканину.
- Висновки.** Використання для амаранта в якості барвника ацетоарсеїну та пророщування насіння в термостаті при температурі 35 °C дає змогу для кращого огляду фаз мітозу, що призводить до більш точного вивчення впливу різних доз гамма-опромінення на мітотичну активність в клітинах кореневої меристеми різних сортів амаранту.
- Ключові слова:** амарант, мітотична активність, гамма-опромінення, сорт, клітина.
- Hudym O.V., Hoptsi T.I., Lyman'ska S.V. Improvement of the method for determining mitotic activity in amaranth roots**
- Purpose.** The purpose of the study was to improve the existing methodology for preparing samples to determine mitotic activity in meristematic cells of amaranth.
- Methods.** The initial material for the study included three varieties of *Amaranthus hypochondriacus* (Sem, Kharkivskyi 1, Studentskyi). Seeds were treated with a physical mutagen (gamma radiation). The radiation source

was ^{60}Co . Radiation doses: 15 Gy, 30 Gy, 40 Gy, 150 Gy, 400 Gy, and 700 Gy. The treatment was carried out at the National Scientific Center "Institute of Metrology" (Kharkiv, Ukraine). Equipment used: DETU 12-05-02. Untreated amaranth seeds were used as the control. For cytogenetic laboratory research, 100 seeds of each variety were used for every radiation variant. Temporary squash preparations were used to determine the mitotic activity of meristematic tissues in amaranth seedlings, following a generally accepted methodology. In each variant, 5000 cells from 10 roots were analyzed. The number of cells in different mitotic phases (prophase, metaphase, anaphase, telophase) was counted.

Results. Studies on *A. hypochondriacus* showed that a temperature of 20–25 °C slowed the formation of

meristematic cells, whereas 35 °C stimulated mitotic activity. It was also found that staining amaranth roots with acetocarmine solution using heating caused cytoplasmic turbidity, which complicated cytological examination. In contrast, soaking the roots in acetoorcein solution for 1–2 days proved more effective, as it allowed gradual dye penetration into the tissues and provided material suitable for analysis.

Conclusions. The use of acetoorcein as a stain for amaranth and seed germination in a thermostat at 35 °C allows for better visualization of mitotic phases, leading to a more accurate assessment of the effects of different gamma radiation doses on mitotic activity in the root meristem cells of various amaranth varieties.

Key words: amaranth, mitotic activity, gamma radiation, variety, cell.