

УДК -581.3:633.16

О. Л. Шестопал, асп., Е. І. Мехова, студ., Е. А. Гочева, студ.

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,

кафедра генетики і молекулярної біології,

вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна e-mail: i.zambriborsh@paco.net

АНТИПОДАЛЬНИЙ КОМПЛЕКС ДВОРЯДНОГО ЯЧМЕНЮ ЗА РІЗНИХ УМОВ ВИРОЩУВАННЯ

Проведено порівняльне дослідження кількості та каріометричних показників клітин антипод сортів дворядного ячменю за різних умов вирощування. Виявлено, що кількість антипод у сортів розрізняється та залежить від умов вирощування. Середні об'єми ядер і ядерць антипод ячменю в польових умовах майже в півтора рази більші, ніж у оранжерейних рослин. Сумарні об'єми ядер і ядерць всіх клітин-антипод в зародковому мішку ячменю за умов вирощування в полі і в оранжереї співпадають.

Ключові слова: ячмінь, антиподи, каріометрія

Антиподи злаків є одним із елементів складної провідної системи насінневого зачатка, зав'язі, колоска, колоса і рослини в цілому. Основна їх функція — диференційне поглинання і направлений транспорт поживних речовин та метаболітів з материнського організму в зародковий мішок [1—4]. Число і форма антипод у зрілому зародковому мішку (ЗМ) злаків варіює як у межах видів та сортів, так і в межах одного колоса. Якщо в сформованому ЗМ їх звичайно буває три, то в зрілому комплекс антипод у більшості представників сімейства *Poaceae* складається з 30—60 клітин, а в бамбука — навіть з 300 [5].

Після припинення мітозів, тобто після завершення раннього диференціювання (за Івановською), відбувається політенізація хромосом — кінцеве диференціювання [6, 4]. Внаслідок цього ядра антипод збільшуються в 3—10 разів [7]. Антиподи відіграють важливу роль у синтезі і транспорті речовин, їхня кількість і розміри не можуть не позначитися на розвитку зародка, ендосперму і зернівки в цілому [8]. В одних видів та сортів антипод багато, але вони невеликі. В інших, навпаки, клітин-антипод менше, але вони мають більш значні розміри. Відомо, що за різних умов вирощування рослин (тепло, холод), темпи ембріогенезу та маса одержаного насіння відрізняються [7, 9, 10, 11]. Метою даної роботи було дослідити характер змін у будові антиподального комплексу ячменю за різних умов вирощування донорних рослин.

Матеріал та методи дослідження

Об'єктом дослідження були зав'язі дворядного ячменю (*Hordeum distichum* L.) — сортів Незалежний, Первенець та Екзотик, у яких

попередні дослідження [10] виявили різницю в кількості клітин в антиподальному комплексі та в їх об'ємах. Ячмінь вирощували в полі та в оранжереї (нічна температура — 14—16 °С, денна — 18—20 °С; освітлення — 2,5 тис. люкс).

Зав'язі із зрілим зародковим мішком фіксували за Навашиним, мікротомні зрізи 15—20 мкм завтовшки забарвлювали бромфеноловим синім [12]. Кількість клітин в антиподальному комплексі визначали, підраховуючи їх ядра на всіх зрізах зав'язі. У зв'язку з тим, що клітини антипод мають неправильну форму і їх об'єм визначити складно, розміри цих клітин оцінювали за об'ємом ядер, бо ядерно-цитоплазматичне співвідношення є постійною величиною [13]. Діаметри ядер та ядерця вимірювали за допомогою гвинтового окуляр-мікрометра МОВ-1-15Х.

Об'єми визначали за формулою для еліпсоїда:

$$V = 4/3 ab^2,$$

де a — велика, b — мала піввісь. Ядерно-ядерцеве співвідношення (далі ЯЯС) визначали за формулою:

$$\frac{V \text{ ядра} - V \text{ ядерця}}{V \text{ ядерця}}$$

Крім середніх об'ємів, визначали суму об'ємів ядер і ядерця всіх клітин-антипод зародкового мішка (сумарні об'єми). Одержані результати обробляли варіаційно-статистичним методом [14].

Результати дослідження та їх аналіз

Головними показниками, що характеризують будову антиподального комплексу злаків, є кількість клітин, які входять до його складу, та їх каріометричні показники (середні об'єми ядер та ядерця).

В результаті проведених досліджень показано, що найбільший розбіг величин був у зародковому мішку сорту Первенець, де кількість антипод коливалась від 24 до 41 клітини (в умовах оранжереї) та від 14 до 25 (в полі). Коливання кількості антипод в зародковому мішку двох інших досліджених сортів — Незалежний і Екзотик — було незначним (рис. 1).

Середня кількість антипод в умовах оранжереї у сортів Первенець та Екзотик була достовірно більшою ($P < 0,001$ і $P < 0,05$ відповідно), ніж в польових умовах. Різниця між кількістю антипод в зародковому мішку польових та оранжерейних рослин була тим вищою, чим меншою була кількість клітин антипод у польових рослин. Так, для сорту Незалежний згадана різниця в кількості антипод взагалі не була достовірною, для сорту Екзотик ця достовірність (P) складала $< 0,05$, а для сорту Первенець — $P < 0,001$.

Таким чином, кількість антипод у зрілому зародковому мішку варіює як у різних сортів ячменю, так і у межах одного сорту за різних умов вирощування.

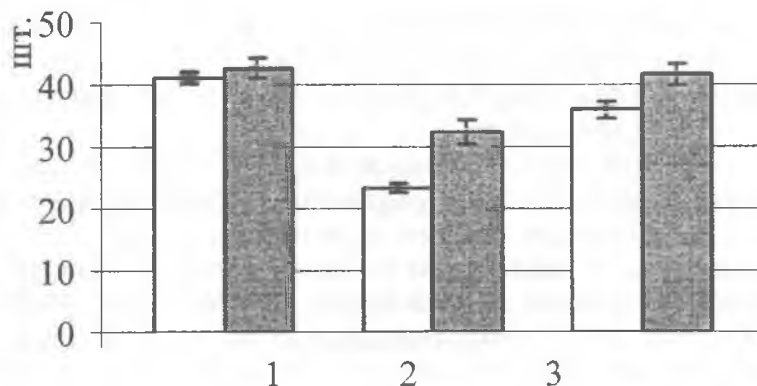


Рис. 1. Кількість клітин антипод в зародковому мішку сортів ячменю за різних умов вирощування донорних рослин:

□ — рослини, вирощені в полі; ■ — рослини, вирощені в умовах оранжереї
 1 — сорт Незалежний; 2 — сорт Первенець; 3 — сорт Екзотик

Аналіз розміру антипод виявив варіювання їх у межах одного зародкового мішка. Найбільший середній об'єм ядер і ядерць клітин антиподального комплексу в умовах поля спостерігали у зав'язях сорту Первенець (рис. 2 а, 2 б). Щодо двох інших сортів, то об'єми їх ядер не відрізнялися, а ядерця мали більший об'єм у сорту Екзотик ($P < 0,05$). В умовах оранжереї сорти за об'ємом ядер антипод розподілилися майже протилежно: більші ядра мали антиподи сорту Незалежний, а менші — сорту Первенець ($P < 0,001$ і $P < 0,02$ відповідно).

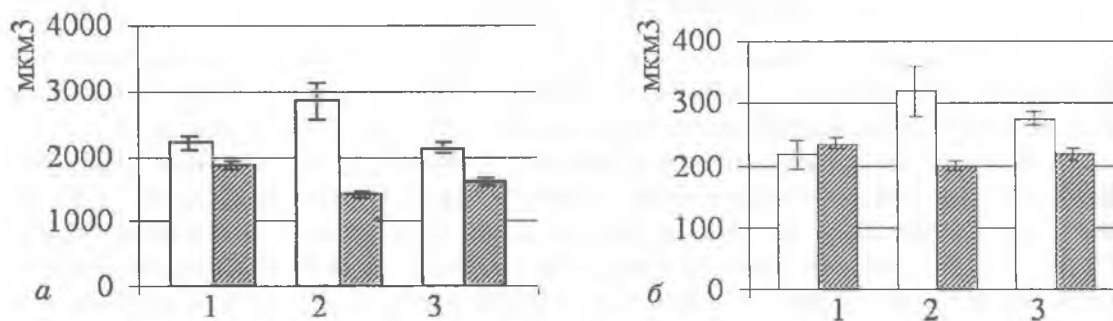


Рис. 2. Міжсорткові відмінності об'ємів ядер (а) та ядерць (б) антипод ячменю за різних умов вирощування рослин:

□ — рослини, вирощені в полі; ■ — рослини, вирощені в умовах оранжереї
 1 — сорт Незалежний; 2 — сорт Первенець; 3 — сорт Екзотик

Слід зазначити, що за оранжерейного вирощування рослин сортів Незалежний і Екзотик середній об'єм ядер їх антипод був меншим в середньому в 1,25 рази, ніж за вирощування цих рослин у полі. У сорту Первенець це зменшення розмірів ядер було більш значним — майже в 2 рази (рис. 2 а).

Вплив різних умов вирощування на розмір ядерець виявився неоднороззначним (рис. 2 б). Так, клітини сорту Незалежний мали найменший об'єм ядерця незалежно від умов вирощування рослин, і цей об'єм в умовах штучного клімату не змінювався. В протилежність цьому два інших сорти мали ядерця більш значні за розмірами і на умови оранжереї відповідали істотним зменшенням каріометричних показників.

Як було показано раніше для пшениці та ячменю [10, 15], необхідний рівень фізіологічної активності клітин антиподального комплексу кожного виду та сорту досягається за рахунок сумарної комбінації певної кількості клітин та розміру їх ядер та ядерець. Можна припустити, що за несприятливих умов навколишнього середовища (низька температура, слабке освітлення і т. п.) вихід на звичний рівень активності антиподального комплексу для виконання його функцій може досягатися двома шляхами — або збільшенням кількості клітин при зменшенні їх об'єму, або, навпаки, збільшенням об'єму клітин на фоні зменшення їх кількості. Наші дослідження підтверджують першу гіпотезу, яка узгоджується з розрахованою нами негативною кореляційною залежністю ($P < 0,05$) кількості антипод та їх об'єму ($r = -0,95$; $n = 5$).

Ефективність роботи антиподального комплексу найбільш інформативно визначається за сумарним об'ємом ядер і ядерець всіх антипод в одному зародковому мішку [11]. Величини сумарного об'єму ядер (рис. 3 а) сортів Незалежний і Екзотик співпадали і не залежали від умов вирощування донорних рослин. Лише у сорту Первенець сумарний об'єм ядер антипод був різним залежно від умов вирощування рослин ($P < 0,01$), що можна пов'язати з істотним зменшенням об'ємів ядер (майже удвічі) в умовах штучного клімату. Спостереження за показниками сумарного об'єму ядерець у сортів за різних умов вирощування рослин різниці не виявили (рис. 3 б).

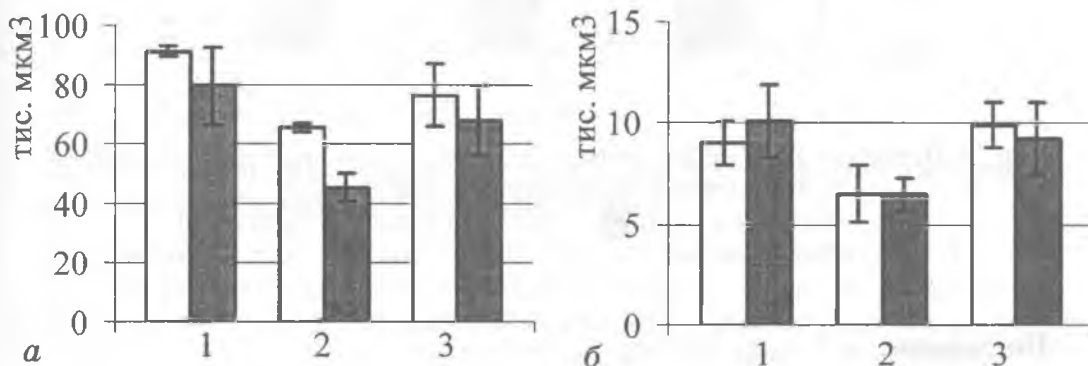


Рис. 3. Сумарні об'єми ядер (а) та ядерець (б) антипод ячменю за різних умов вирощування:

□ — рослини, вирощені в полі; ■ — рослини, вирощені в умовах оранжереї
 1 — сорт Незалежний; 2 — сорт Первенець; 3 — сорт Екзотик

Показники ЯЯС антипод у сортів Незалежний та Первенець за вирощування їх у полі не відрізнялися, а в оранжерейних рослин ці величини були достовірно меншими ($P < 0,01$ і $P < 0,05$ відповідно). Для сорту Екзотик величина ЯЯС залишалася незмінною незалежно від умов вирощування рослин (рис. 4). Невелике значення ЯЯС свідчить про високу функціональну активність клітин антипод перед заплідненням. Можливо, що у сортів з меншим значенням ЯЯС антипод у зародковому мішку будуть складатися більш сприятливі умови для подальших процесів ендоспермогенезу та ембріогенезу, що має позначитися на врожаї рослин. Отримані дані посередньо підтверджують це припущення: була виявлена достовірна ($P < 0,001$) негативна кореляція ($r = -0,99$; $n = 5$) між величиною показника ЯЯС і масою 1000 зерен (для рослин, вирощених у полі).

Зниження ЯЯС у оранжерейних рослин відбувається за рахунок більшого зменшення об'єму ядер, ніж об'єму ядерця. Цей факт дає підставу припустити, що інтенсивність процесу синтезу р-РНК зростає. Не виключено, що збереження досить великого об'єму ядерця в оранжерейних рослин за низьких температур та освітлення відбувається не за рахунок підтримки високого рівня експресії генів р-РНК, а за рахунок зміни інтенсивності процесингу РНК-попередників та збірки рибосомних субодиниць. Для вирішення цього питання необхідні подальші дослідження.

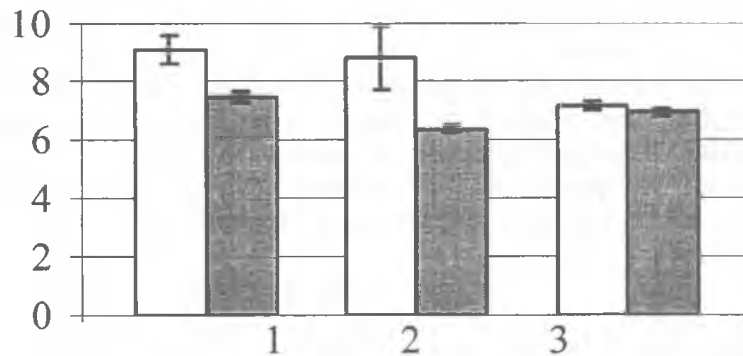


Рис. 4. Показник ЯЯС клітин антиподального комплексу сортів ячменю за різних умов вирощування донорних рослин:

□ — рослини в полі; ■ — рослини в умовах оранжереї
 1 — сорт Незалежний; 2 — сорт Первенець; 3 — сорт Екзотик

Висновки:

1. Умови вирощування рослин суттєво впливають на будову антиподального комплексу (на кількість клітин антипод, на розміри їх ядер і ядерця);
2. Сумарні об'єми ядер і ядерця антипод не залежать від умов вирощування рослин.

Література

1. Батыгина Т. Б. Хлебное зерно: Атлас. — Л.: Наука, 1987. — 102 с.
2. Ивановская Е. В., Прокофьева З. Д. Политения в ядрах антипод пшеницы // ДАН СССР. — 1963. — Т. 152, № 2. — С. 446—449.
3. Жукова Г. Я., Батыгина Т. Б. Антиподы // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепция. Генеративные органы цветка — Санкт-Петербург: Мир и семья, 1994. — Т. 1. — С. 199—202.
4. Симоненко В. К., Мусатова Л. А. Структура политенных хромосом антипод тритикале, пшеницы и ржи // Трета Национал. конф. по цитогенетика. — София, 1984. — Т. 1. — С. 134—141.
5. Кордюм Е. Л. Эволюционная цитоэмбриология покрытосеменных растений. — Киев: Наук. думка, 1978. — 219 с.
6. Ивановская Е. В. Цитоэмбриологическое исследование дифференцировки клеток растений. — М.: Изд-во МГУ, 1983. — 152 с.
7. Бланковская Т. Ф. Морфо-функциональные аспекты развития генеративных структур хлебных злаков: Автореф. дис. д-ра биол. наук. — Санкт-Петербург, 1992. — 31 с.
8. Engell K. Embryology of barley. IV. Ultrastructure of the antipodal cell of *Hordeum vulgare* L. cv. Vomi before and after fertilization of the egg cell // Sexual Plant Reproduction. — 1994. — V. 7, № 6. — P. 333—346.
9. Бланковська Т. Ф., Трочинська Т. Г. Розвиток зародкового мішка у другого та третього поколінь пшенично-житніх гібридів // Вісник ОДУ. — 2002. — Т. 7, № 1. — С. 243—248.
10. Бланковська Т. Ф., Шестопад О. Л. Кількість та розміри антипод шестирядного та дворядного ячменю // Вісник ОДУ. — 2002. — Т. 7, № 1. — С. 249—253.
11. Бланковская Т. Ф., Сурикова Е. С. Количество и размер клеток антиподального комплекса в зрелом зародышевом мешке пшеницы // Научно-технич. бюлл. Сел.-генетического ин-та. — 1993. — № 2 (84), — С. 43—46.
12. Паламарчук И. А., Веселова Т. Д. Учебное пособие по ботанической гистохимии. — М., — 1965. — 108 с.
13. Hertwig R. Uber Korrelationen von Zell — und Kerhgro?e und ihre Bedeutung fur die geschlechtlichen Differenzierung und die Teilung der Zelle // Biol. Zbl. — 1903. — V. 23, № 2. — P. 8—14.
14. Плохинский Н. А. Алгоритмы биометрии. — М.: Из-во МГУ, 1980. — 150 с.
15. Бланковська Т. П., Білодід Л. М. Розміри ядерць клітин зародкового мішка багаторядного ячменю // Вісник ОДУ. — 1998. — № 2. — С. 115—117.

О. Л. Шестопад, Е. И. Мехова, Е. А. Гочева

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, кафедра генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина, e-mail: i.zambriborsh@paso.net

АНТИПОДАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС ДВУРЯДНОГО ЯЧМЕНЯ ПРИ РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ ВЫРАЩИВАНИЯ

Резюме

Проведено сравнительное исследование количества и кариометрических показателей клеток антипод сортов двурядного ячменя в разных условиях выращивания. Установлено, что количество антипод у сортов различно и зависит от условий выращивания. Средний объём ядер и ядрышек антипод ячменя в полевых условиях почти в полтора раза больше, чем эти показатели у оранжерейных растений. Суммарные объёмы ядер и ядрышек всех клеток-антипод в зародышевом мешке ячменя при выращивании в поле и в оранжерее совпадают.

Ключевые слова: ячмень, антиподы, кариометрия.

O. L. Shestopal, E. I. Mehova, E. A. Gocheva

Odessa State University, Department of Genetics and Molecular Biology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine, e-mail: i.zambriborsh@paco.net

**ANTIPODAL COMPLEX OF TWO — ROWED BARLEY UNDER
DIFFERENT GROWING CONDITIONS**

Summary

The comparative research of number and karyometrical parameters of antipodal cells under different growing conditions of two-rowed barley cultivars has been performed. It is shown that the number of antipodes varies in different cultivars and depends on growing conditions. The average volumes of antipodal nuclei and nucleoli of plants having been grown under the field conditions are in 1,5 times higher then those of plants grown under greenhouse conditions. The total volumes of nuclei and nucleoli in the embryo sac coincide under the field and greenhouse conditions.

Keywords: barley, anti poded, karyometriya.