

УДК 576.315:575.222.73:633.1

Т. Г. Трочинська, ст. лаб., **Т. Ф. Бланковська**, д-р біол. наук, проф.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра генетики і молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИН АНТИПОДАЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ ДЕЯКИХ ФОРМ ЗЛАКІВ

Проведено порівняльний аналіз морфології клітин антиподального комплексу пшениці, жита та пшенично-житніх гібридів другого та третього поколінь. Особливу увагу звертали на морфологічні параметри ядерця та динаміку їх змін в залежності від форми злаку та етапу онтогенезу.

Ключові слова: антиподальний комплекс, пшениця, жито, пшенично-житні гібриди, ядерце.

У зв'язку з важливою роллю антиподального комплексу злаків у розвитку та життєздатності зародкового мішка, ендосперму та зародка дослідженням його функціонування надовалося багато уваги [1–6 та ін.]. Як відомо, кількість та розміри клітин антипод є специфічними показниками, що характеризують антиподальний комплекс злаків [6, 7, 8]. На видах родини *Triticum*, була виявлена відсутність суворого паралелізму між середнім об'ємом ядер клітин антипод в зрілому зародковому мішку та числом хромосом; розмір ядер антипод варіює як в межах кожного зародкового мішка так і у різних видів і сортів, що не в останню чергу залежить від ступеня політенізації хромосом. Проте є відповідність між хромосомним набором і сумарними показниками об'єму ядер та ядерця клітин антиподального комплексу, які характеризуються добутком кількості антипод на середній об'єм їх ядер та ядерця [9].

З огляду на інтегрованість складних біологічних процесів всебічне дослідження антиподального комплексу має велике значення. У розвитку і функціонуванні антипод разом зі структурними генами білків значну роль відіграють гени рРНК, що забезпечують функціонування білок-синтезуючої системи клітин [10]. Морфологічним проявом активності генів РНК є ядерце; кількість та об'єм ядерця є ознаками, за якими можна судити про інтенсивність синтетичних процесів клітини та про її функціональні особливості [11–15]. Аспекти розвитку антиподального комплексу у віддалених гібридів, які являють собою результат взаємодії геномів систематично віддалених форм, на сьогодні з'ясовані недостатньо [7, 8]. Метою даної праці є вивчення розвитку антиподального комплексу зародкового мішка другого та третього поколінь пшенично-житніх гібридів у порівнянні з батьківськими формами.

Матеріали та методи

Об'єктами досліджень були гібриди другого та третього поколінь від схрещування м'якої пшениці сорту Безоста 1 з житом Одеське 1.

Різновікові зав'язі (у фазі колосіння та цвітіння рослин) фіксували за Карнуа, Навашиним та Чіаччіо [16]. Мікротомні зрізи завтовшки 10 мкм забарвлювали на білки — бромфеноловим синім за Мезіа [17], на нуклеїнові кислоти — за Фьольгеном, на ліпиди — суданом чорним Б за Мак-Манусом [16]. Для кожної форми злаків було виготовлено від 30 до 40 препаратів. Постійні мікротомні препарати вивчали під світловим мікроскопом "БІО-ЛАМ". Мікрофотографії робили з цього ж мікроскопа з використанням цифрового фотоапарата OLYMPUS C-370 ZOOM при збільшенні об'єктива 40х, а окуляра — 15х. Діаметри ядер та ядерців вимірювали за допомогою гвинтового окуляр-мікрометра та з використанням програми PhotoM 1.21. Об'єми вираховували як для еліпсоїду. Визначені об'єми та величини ядерно-ядерцевих співвідношень (далі ЯЯС) обробляли статистично [18].

Результати та їх обговорення

Для клітин антиподального комплексу сформованих зародкових мішків жита характерна наявність одного досить великого інтенсивно забарвленого ядерця. За дозрівання зародкового мішка ядерце в антиподах збільшується пропорційно збільшенню ядра. Хроматин у ядрах антипод незрілого зародкового мішка зібраний у глибки, які відокремлені одна від одної, зрідка можуть бути з'єднані тяжами (рис. 1 А). В ядрах антипод зрілого зародкового мішка жита хроматин більш диспергований; щільне, округле, сильно забарвлене ядерце, яке не має порожнин і лакун, розташовується в чітко окресленому оперкулумі (рис. 1 Б), а самі антиподи сильно вакуолізовані.

В ядрах антипод сформованого зародкового мішка м'якої пшениці, на відміну від таких у жита, хроматин знаходиться в диспергованому стані (рис. 2). По мірі дозрівання зародкового мішка в ядрах клітин антипод хроматин відтискується до периферії, а центр ядра займає велике ядерце. Найбільш часто антиподи пшениці містять одне ядерце; в ювенільних зародкових мішках зустрічаються багатоядерцеві клітини (рис. 2).

В міру дозрівання зародкового мішка у більшості клітин антиподального комплексу відбувається злиття ядерців (рис. 3 А). Ядерця антипод пшениці сферичної форми, великі і щільні; в деяких антиподах ядерце неоднорідне, має численні дрібні вакуолі, особливо добре помітні у випадку попадання в них повітря в процесі виготовлення препарату (рис. 3 Б). Середня кількість клітин антиподального комплексу пшениці — $29,16 \pm 1,21$, жита — $19,26 \pm 1,41$; розмах значень для пшениці — 24–36, для жита — 16–32.

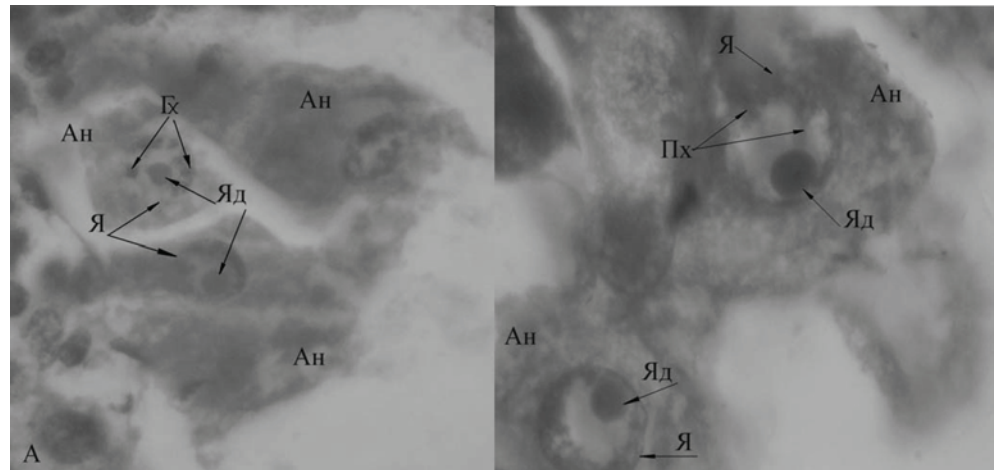


Рис. 1. Клітини антиподального комплексу зародкового мішка, який дозріває (А), та зрілого зародкового мішка жита Одеське 1 (Б). Ан — антипода, Гх — глибки хроматину, Пх — політенні хромосоми, Я — ядро, Яд — ядерце

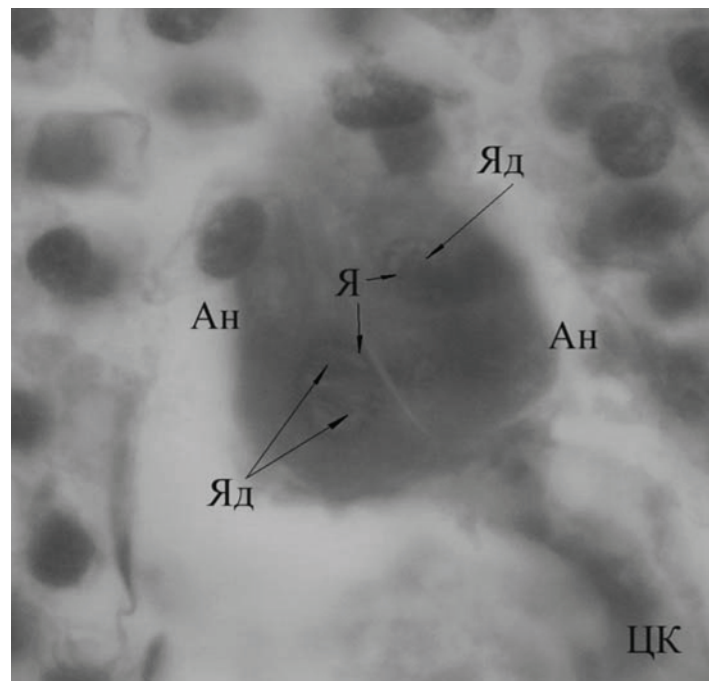


Рис. 2. Антиподальний комплекс сформованого зародкового мішка пшениці Безоста 1. Ан — антипода, Я — ядро, Яд — ядерце

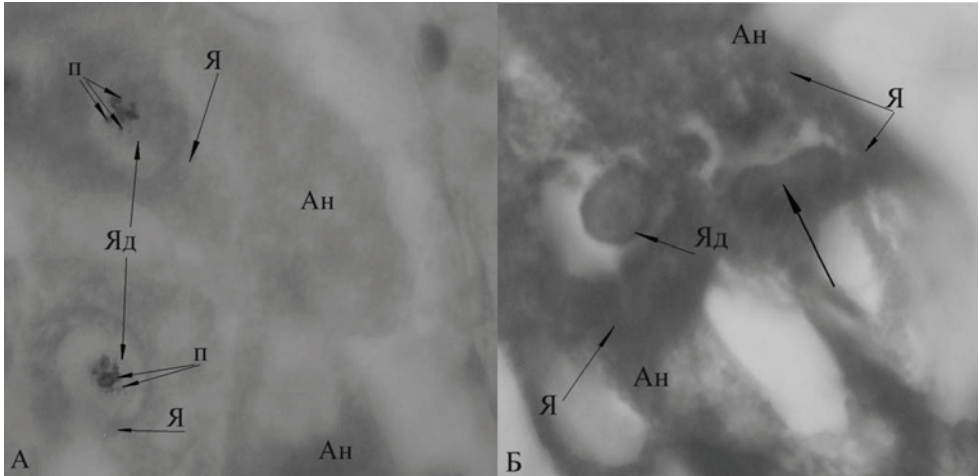


Рис. 3. Клітини зрілого антиподального комплексу пшениці Безоста 1. Злиття ядерця вказано стрілкою. Ан — антипода, п — порожнини — ядерцеві вакуолі, в які потрапило повітря, Я — ядро, Яд — ядерце

В ядрах антипод зрілого зародкового мішка пшениці добре помітні політенні хромосоми (рис. 4, А; 4, Б), у цитоплазмі — великі вакуолі.

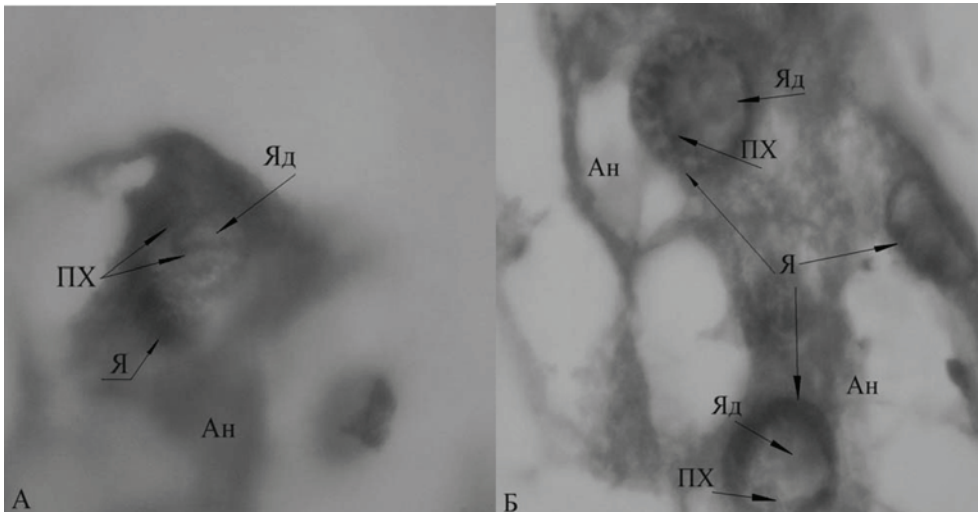


Рис. 4. Політенні хромосоми антипод пшениці. Забарвлення за Фьольгеном, цитоплазма та ядерце підфарбовані ліхтгрюном. Ан — антипода, ПХ — політенні хромосоми, Я — ядро, Яд — ядерце

У другого покоління пшенично-житніх гібридів через незбалансованість їх геному зародкові мішки утворюються не в кожному насін-

невому зачатку. В тих випадках, коли вони все-таки утворюються, формування їх відбувається нормально, але дозрівання проходить дуже повільно. В результаті в фазі цвітіння рослин зародкові мішки в цілому та їх антиподи як за розмірами, так і за будовою майже не відрізняються від таких у фазі колосіння рослин (рис. 4 А; 4 Б). Середня кількість клітин у антиподальному комплексі зародкових мішків F_2 пшенично-житнього гібриду — $13,24 \pm 1,94$. Отже, перший етап диференціації антипод — поділ клітин — або зовсім не відбувається, або дуже пригнічений (рис. 5). Другий етап — політенізація хромосом — до цвітіння рослин не настає. В більшості випадків ядро антипод містить одне ядерце. Воно досить велике, щільне, без вакуолей. В зародкових мішках F_2 гібридів в антиподах спостерігався навколоядерцевий хроматин; інколи його форма нагадувала пелюстки квітки (рис. 6). За розмірами клітини — антиподи F_2 подібні до таких у дозріваючих зародкових мішків батьківських форм і значно дрібніші за такі у зрілих зародкових мішків.

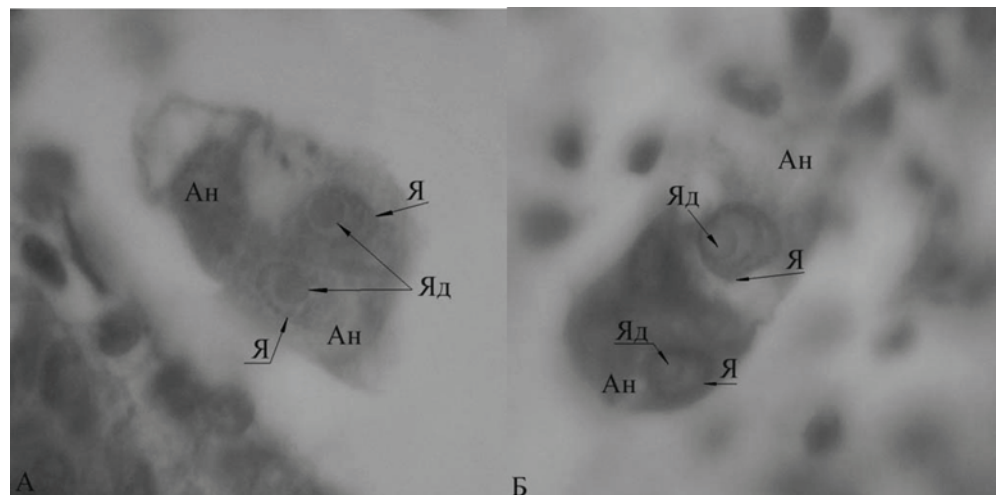


Рис. 5. Зародковий мішок F_2 пшенично-житнього гібриду Безоста 1 х Одеське 1 під час колосіння рослин (А) і під час їх цвітіння (Б). Ан — антипода, Я — ядро, Яд — ядерце

Як відомо [13, 20], навколоядерцевий хроматин утворюється конденсованими неактивними ділянками рДНК. Експресія генів рРНК в таких ядрах знижена. Це, мабуть, є однією з причин відхилень, які спостерігаються за диференціації клітин і дозрівання зародкового мішка F_2 гібридів. Відсутність вакуолей в цитоплазмі антипод підтверджує їх недиференційований стан.

Клітини антиподального апарату зародкових мішків третього покоління пшенично-житніх гібридів за морфологією подібні до таких материнської форми. По мірі дозрівання зародкового мішка

збільшуються розміри клітин, ядер і ядерець; стають добре помітними політенні хромосоми (рис. 7). Антиподи в основному одно-ядерцеві.

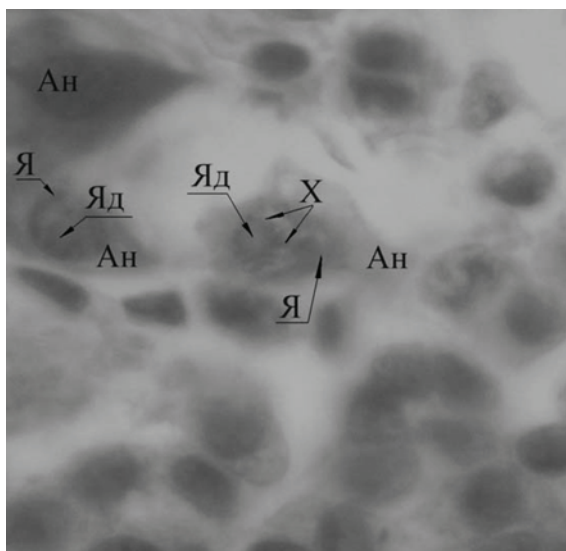


Рис. 6. Антиподи зародкового мішка F_2 — пшенично-житнього гібриду
Я — ядро, Яд — ядерець, А — антипода, Х — хроматин, який оточує ядерець як
пелюстки квітки, вказано стрілкою

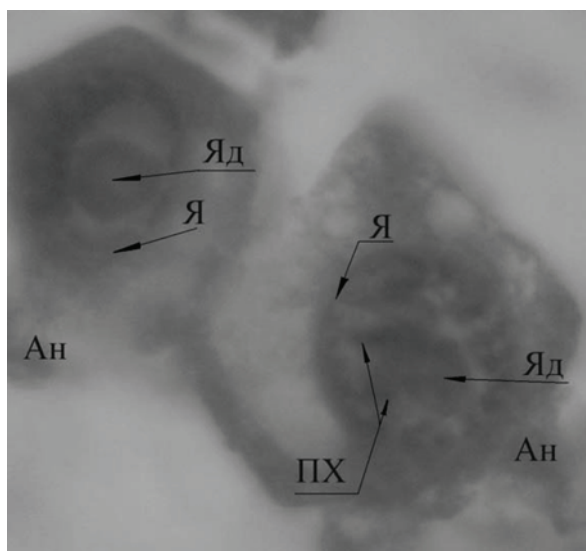


Рис. 7. Політенні хромосоми антипод третього покоління пшенично-житніх
гібридів від схрещування Безостої 1 і Одеського 1.
Я — ядро, Яд — ядерець, А — антипода, ПХ — політенні хромосоми

На відміну від батьківських форм і гібридів другого покоління, для морфології ядерця антипод гібридів третього покоління характерна розмаїтість навіть у межах антиподального комплексу одного зародкового мішка: зустрічалися ядерця як сферичної форми, так і видовжені, — як гомогенні, щільні, так і з вакуолями — порожнинами. Ці порожнини, на відміну від дрібних порожнинок у ядерцях пшениці, часто були досить великими (рис. 8 А, Б). Число, розмір і форма порожнин у ядерці варіюють, як і інтенсивність його забарвлення. Досить часто зустрічалися ядерця з інвагінаціями, що мають на сагітальній проекції форму напівкільця (рис. 8 В, Г). Розміри клітин антиподального комплексу і ступінь їх вакуолізації також відрізнялися значним розмахом.

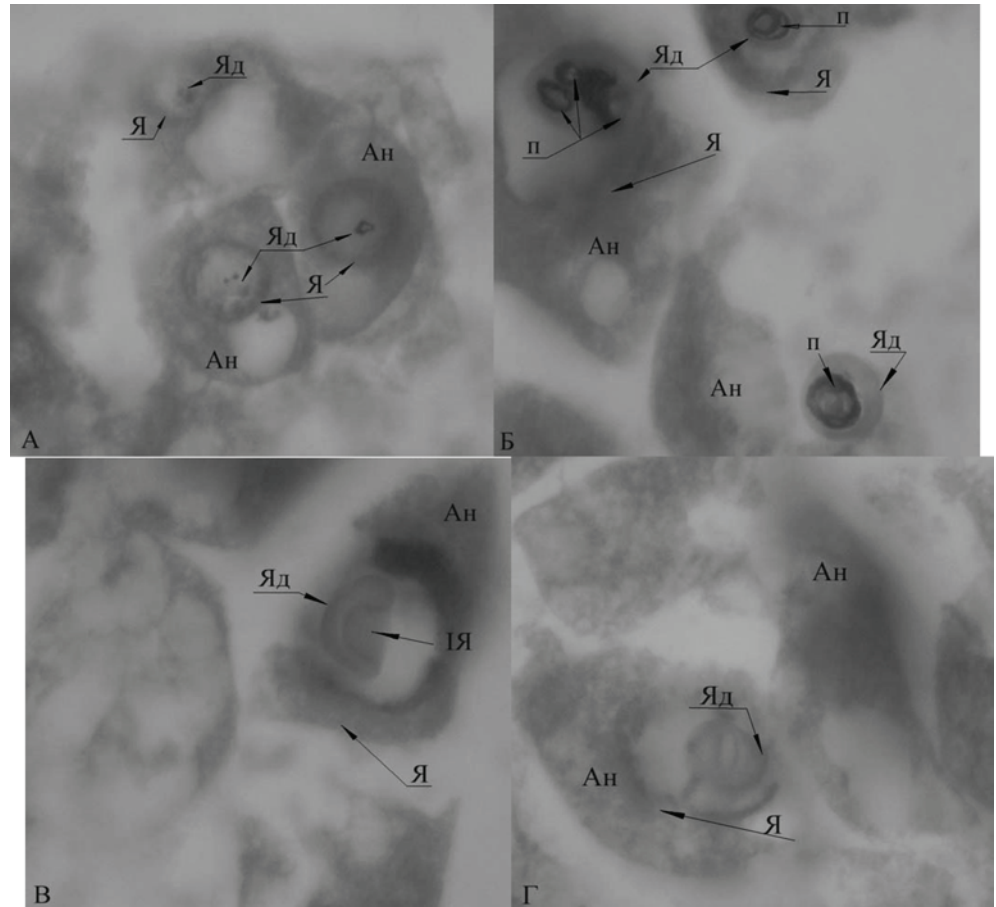


Рис. 8. Ядерця клітин антиподального комплексу зрілого зародкового мішка третього покоління пшенично-житніх гібридів.
Я — ядро, Яд — ядерце, А — антипода, П — порожнини у ядерцях антипод, НК — ядерце у формі напівкільця, ІЯ — ядерце з інвагінацією

Середня кількість антиподальних клітин у складі антиподального комплексу пшенично-житніх гібридів третього покоління — $24,41 \pm 1,46$. Середня кількість клітин у складі антиподального комплексу вірогідно розрізняється у всіх досліджених форм злаків.

Висновки

1. Середня кількість клітин у антиподальному комплексі досліджуваних форм злаків вірогідно ($P \leq 0,01$) різниться.
2. У F_2 пшенично-житніх гібридів поділ клітин антипод пригнічений, іноді зовсім не відбувається.
3. Політенізація хромосом в ядрах антипод другого покоління пшенично-житніх гібридів до цвітіння рослин не настає.
4. Однією з причин стерильності зародкового мішка F_2 пшенично-житніх гібридів є компактизація частини рДНК, утворення навколядерцевого хроматину.
5. У F_3 пшенично-житніх гібридів будова антиподального комплексу наближається до такої у материнської форми — пшениці.

Література

1. Батыгина Т. Б. Эмбриология пшеницы. — Л.: Колос, 1974. — 206 с.
2. Ивановская Е. В. Цитозэбриологическое исследование дифференцировки клеток растительных. — М.: Изд-во МГУ, 1983. — 152 с.
3. Бейлис-Вирова Р. А. Історія індивідуального розвитку жита. — К.: Держсільгоспвидав УРСР, 1962. — 144 с.
4. Цитозэбриология основных хлебных злаков / Я. С. Модилевский, П. Ф. Оксикюк, М. И. Худяк, Л. К. Дзюбенко, Ф. А. Бейлис-Вырочая. — К.: Изд-во АН УССР, 1958. — 336 с.
5. Бланковська Т. Ф., Шестопап О. Л. Кількість та розміри антипод шестирядного та дворядного ячменю // Вісник ОДУ. — 2002. — Т. 7, № 1. — С. 249–253.
6. Шмараев И. Г. Ультраструктура антипод зародкового мішка *Triticum aestivum* L. в связи с их функцией // Тез. докл. XIII делегат. съезда ВБО "Актуальн. вопросы ботан. в СССР". — Алма-Ата, 1988. — С. 372–373.
7. Антиподальный аппарат злаков та продуктивність рослин / Т. П. Бланковська, О. Л. Шестопап, Т. Г. Трочинська, В. Л. Давиденко // Біологічні науки та проблеми рослинництва. — Умань, 2003. — С. 332–336.
8. Бланковська Т. П., Трочинська Т. А. Розвиток зародкового мішку у другого та третього поколінь пшенично-житніх гібридів // Вісник Одеського національного університету. — 2002. — Т. 7, вип. 1. Біологія. — С. 243–248.
9. Бланковская Т. Ф. Морфо-функциональные аспекты развития генеративных структур хлебных злаков: Автореф. дис... д-ра биол. наук. — С.Пб., 1992. — 31 с.
10. Челидзе П. В. Ультраструктура и функции ядрышка интерфазной клетки. — Тбилиси: Мецниереба, 1985. — 119 с.
11. Молекулярная биология клетки: В 3 т.: Пер. с англ. / Б. Албертс, Д. Брей, Дж. Льюис, М. Рэфф, К. Робертс, Дж. Уотсон. — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: Мир. — 540 с.
12. Соболев М. А. Роль ядрышка в реакциях растительных клеток на действие физических факторов окружающей среды // Цитология и генетика. — 2001. — Т. 34, № 3. — С. 72–84.

13. Архипчук В. В. Использование ядрышковых характеристик в биотестировании // Цитология и генетика. — 1995. — Т. 29, № 3. — С. 6–12.
14. Хволес А. Г., Черняев Т. А. Механизм стимуляции мутагенами // Докл. АН СССР. — 1988. — Т. 301, № 5. — С. 985–988.
15. Цитогенетический анализ определения влияния пороговых величин антропогенных факторов на геном растений и животных / В. В. Архипчук, В. Д. Романенко, М. В. Архипчук, Л. С. Кипнис // Докл. РАН. — 1992. — Т. 326, № 5. — С. 908–910.
16. Роскин Г. Н., Левинсон Л. Б. Микроскопическая техника. — М.: Сов. наука, 1957. — 468 с.
17. Паламарчук И. А., Веселова Т. Д. Учебное пособие по ботанической гистохимии. — М.: Изд-во МГУ, 1965. — 108 с.
18. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. — Минск: Выш. школа, 1973. — 319 с.

Т. Г. Трочинская, Т. Ф. Бланковская

Одесский национальный университет,
кафедра генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОК АНТИПОДАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА НЕКОТОРЫХ ФОРМ ЗЛАКОВ

Резюме

Проведен сравнительный анализ морфологии клеток антиподального комплекса пшеницы, ржи и пшенично-ржаных гибридов второго и третьего поколений. Особенное внимание обращали на морфологические параметры ядрышка и динамику их изменений.

Ключевые слова: антиподальный комплекс, пшеница, рожь, пшенично-ржаные гибриды, ядрышко.

T. G. Trochinskaya, T. Ph. Blankovskaya

Odessa National University,
Department of Genetics and Molecular Biology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

MORPHOLOGICAL CELL PECULIARITIES OF SOME CEREALS ANTIPODAL COMPLEX

Summary

The comparative cells analysis of antipodal morphology has been made among the second and third generations of wheat-rye hybrids and parental forms. The morphological parametres of nucleolus and its dynamic during embryo sac development have been investigated.

Keywords: antipodal complex, wheat, rye, wheat-rye hybrids, nucleolus.