

УДК 576.372.08:633.11

Бланковська Т. П., д-р біол. наук, проф., Кириленко Н. А., асп.
Одеський державний університет, кафедра генетики і молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ЦИТОМЕТРИЧНІ ПАРАМЕТРИ ЗИГОТИ ПШЕНИЦІ ЗА ЇЇ ДОЗРІВАННЯ

Проведено вимірювання клітини, ядра і ядерця, визначена величина ядерно-ядерцевих співвідношень за дозрівання зиготи у м'якої і твердої пшениці. Виявлено, що об'єми клітини, ядра і ядерця у період дозрівання зиготи коливаються. Криві, які відбивають процентне відношення цих об'ємів до відповідних об'ємів яйцеклітини у пшениці, двовершинні.

Ключові слова: зигота, пшениця, цитометрія.

Після об'єднання ядра спермія з ядром яйцеклітини зигота вступає в інтерфазний період або період дозрівання, який у пшениці триває 16—18 годин [2]. В цей період у зиготі відбуваються морфологічні та біохімічні зміни [1, 2, 4, 5, 11, 12]. Літературні дані щодо розміру зиготи нечисленні і суперечливі. Так, за О. М. Герасимовою-Навашиною [3], лінійні розміри зиготи скерди за дозрівання подвоюються в порівнянні з яйцеклітиною. Інші дослідники [8] у того ж об'єкта спостерігали спочатку зменшення зиготи, а перед поділом — її збільшення. У пшениці зигота за дозрівання збільшується [2]. У бавовника через 8—10 годин після запліднення об'єм зиготи дорівнює лише половині об'єму незаплідненої яйцеклітини [11], подібне відбувається і з зиготою *Hibiscus* [10]. Автор надає великого значення цьому явищу і формування нежиттєздатних зародків за міжвидових схрещувань він пов'язує з тим, що зигота в цих випадках не скорочується. У інших рослин (дурман, деякі орхідеї) об'єм зиготи перед її поділом збільшується. Таким чином, зміни у розмірах зиготи (її збільшення або зменшення в інтерфазний період) не є універсальними. Недостатня вивченість цього питання свідчить про необхідність подальших цитометричних досліджень.

Метою даної праці було визначення розмірів клітини, ядра і ядерця під час дозрівання зиготи пшениці.

Матеріали і методи дослідження

Зав'язі м'якої пшениці (озимий сорт Безоста 1) і твердої (озимий сорт Парус) фіксували на протязі доби сумішшю Навашина через кожні дві години після запилення. Зафіксований матеріал доводили до парафіну за загальноприйнятою методикою [7]. Мікротомні зрізи 15 мкм завтовшки фарбували бромфеноловим синім [6]. Діаметри клітин ядер і ядерця (по 10—15 на кожний строк фіксування) виміряли за допомогою гвинтового окулярного мікрометра. Об'єми визначали за формулою для кулі або еліпсоїду. Результати визначень об'ємів, а також величин ядерно-ядерцевих співвідношень (ЯЯС) обробляли статистично. Щоб порівнювати дані, отримані на різних видах рослин і на різних етапах дозрівання

зиготи, визначали процентне відношення цитометричних показників зиготи до відповідних показників незаплідненої яйцеклітини (контроль), який умовно приймали за 100.

Результати досліджень

Вивчення постійних мікроскопічних препаратів зав'язей показало, що у твердої озимої пшениці сорту Парус сингамія закінчується через 6 годин після штучного запилення, а у озимої м'якої Безоста 1 — через 8 годин. Поділ зиготи відбувається через 18—20 годин. Таким чином, період дозрівання зиготи пшениці складає 12—14 годин, тобто на півдні України він коротший, ніж на півночі Росії [2], що обумовлено, ймовірно, фактором температури.

Як видно з наведених у таблиці 1 даних, по закінченню сингамії (6 годин після запилення) об'єм зиготи твердої пшениці був майже вдвоє більшим за об'єм незаплідненої яйцеклітини. Слід зазначити, що на протязі всього періоду дозрівання зиготи її об'єм був достовірно більшим за об'єм яйцеклітини. Спочатку (до 10 годин після запилення) її об'єм плавно збільшувався, потім зменшувався і знову збільшувався.

Подібні зміни відбувалися і з об'ємом ядра зиготи. Ядерце яйцеклітини в зиготі поступово збільшувалось. Різниця об'ємів ядерця незаплідненої яйцеклітини і зиготи стає достовірною тільки під кінець дозрівання останньої. Об'єм ядерця спермія і сумарний об'єм ядерця зиготи теж значно збільшуються перед її поділом.

Таблиця 1

Середні об'єми зиготи, її ядра і ядерця (мкм³), а також величина ЯЯС у озимої твердої пшениці Парус

Годин після запилення	Клітина	Ядро	Ядерце			Величина ЯЯС
			яйцеклітини	спермія	сумарний об'єм	
0 (яйцеклітина)	12463±1280	2551±184	145±6	—	—	16,9±1,4
6	23880±1596	3583±241	163±6	39±1	202±7	16,9±1,2
8	25283±1697	3847±244	149±7	42±2	191±8	18,3±2,5
10	26716±1979	4424±446	170±14	39±2	209±13	20,3±2,2
12	21485±1935	3643±310	152±9	50±6	202±13	17,0±2,0
14	28297±1302	4786±240	176±7	60±2	236±7	19,4±0,4
16	25384±2513	4272±341	185±9	57±6	242±9	17,7±2,0

Об'єми ядра і ядерця зиготи змінюються не завжди синхронно і не в однаковій мірі. Це відображують значення ЯЯС. За дозрівання зиготи твердої пшениці це значення змінюється, але різниця з відповідним показником яйцеклітини статистично не доведена.

У м'якої пшениці (табл. 2) зміни об'єму зиготи більш виражені, ніж у твердої. Наприкінці сингамії у пшениці Безоста 1 зигота більша за яйцеклітину ($P < 0,01$), а через 10 і 16 годин після запилення — менша ($P < 0,05$ і $P < 0,001$ відповідно).

Об'єм ядра зиготи протягом всього періоду її дозрівання був більшим за об'єм ядра яйцеклітини, але достовірними ці відмінності були лише через 8, 14 і 18 годин після запилення ($P < 0,01$).

Об'єм ядерця яйцеклітини в зиготі м'якої пшениці змінювався незначно і тільки через 12 годин після запилення достовірно зменшувався; з ядерцем спермія це відбувалося через 16 годин після запилення. Перед поділом зиготи сумарний об'єм її ядерця збільшувався порівняно з вихідним ($P < 0,001$). Величина ЯЯС у зиготі є досить стабільною, лише через 14 годин після запилення цей показник достовірно зростає у порівнянні з яйцеклітиною ($P < 0,01$).

Таблиця 2

Середні об'єми зиготи, її ядра і ядерця (мкм³), а також величина ЯЯС у м'якої пшениці Безоста 1

Годин після запилення	Клітина	Ядро	Ядерце			Величина ЯЯС
			яйцеклітини	спермія	сумарний об'єм	
0 (яйце- клітина)	33390±812	3331±457	283±21	—	283±21	10,75±0,62
2	30247±2555	3379±347	274±11	—	274±11	11,31±1,20
4	27648±3915	3861±159	290±44	—	290±44	10,94±0,89
6	34127±1608	3859±223	283±12	—	283±12	12,94±0,97
8	44440±3281	5081±294	234±17	118±12	352±17	13,72±1,32
10	28952±2106	3817±230	234±15	107±11	341±15	10,44±0,89
12	30216±1817	3709±170	221±14	120±13	341±13	9,92±3,29
14	37863±4502	5789±639	255±22	113±38	368±59	15,43±1,67
16	28079±908	4008±294	254±13	85±9	339±15	11,16±0,92
18	31482±1561	5414±618	330±17	107±8	437±13	11,33±1,40

Із рис. 1 і 2 видно, що об'єми клітини, ядра і ядерця за дозрівання зиготи коливаються. Криві, які відзеркалюють процентне відношення цих об'ємів до відповідних об'ємів яйцеклітини, двохвершинні. У м'якої пшениці переважають темпи змін об'єму ядра, а у твердої — об'єму клітини.

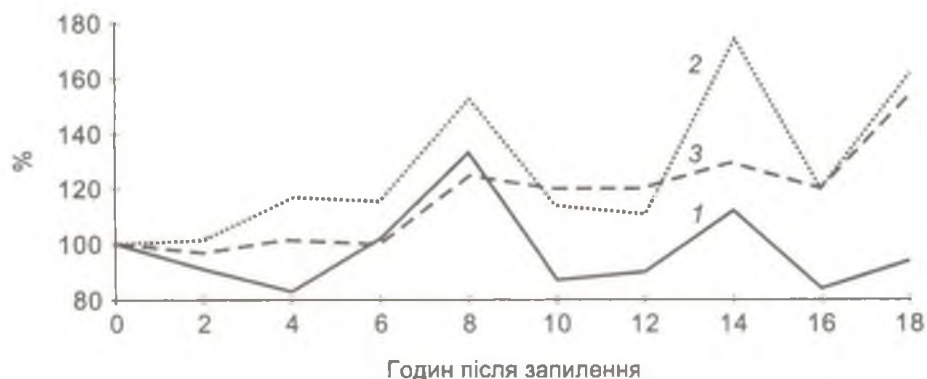


Рис. 1. Процентне відношення об'ємів клітини, ядра і ядерця зиготи до відповідних об'ємів яйцеклітини у озимій м'якої пшениці Безоста 1: 1 — клітина; 2 — ядро; 3 — ядерця

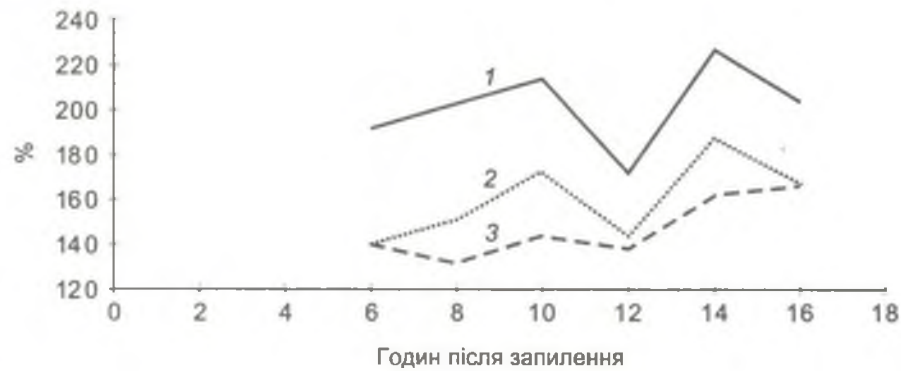


Рис. 2. Процентне відношення об'ємів клітини, ядра і ядерця зиготи до відповідних об'ємів яйцеклітини у озимій твердій пшениці Парус: 1 — клітина; 2 — ядро; 3 — ядерця

Таким чином, цитометричне дослідження зиготи пшениці на різних етапах її дозрівання дало можливість виявити періодичні коливання об'ємів клітини, ядра і ядерця. За тривалістю періодів (близько 6 годин) ці коливання можна віднести до епігенетичних, які пов'язані з роботою генетичного апарату [9].

Продовження таких досліджень на більшій кількості видів, сортів, гібридів буде сприяти розвитку уявлень про хронобіологічну норму процесів дозрівання зиготи.

Література

1. Банникова В. П. Межвидовая несовместимость у растений. — К.: Наук. думка, 1986. — 232 с.
2. Батыгина Т. Б. Хлебное зерно: Атлас. — Л.: Наука, 1987. — 102 с.
3. Герасимова-Навашина Е. Н. Пыльцевое зерно, гаметы и половой процесс у покрытосеменных // Тр. ботан. ин-та АЕ СССР, серия 7. — 1951. Вып. 2. — С. 294—355.
4. Дряновска О. Цитогенетичні проблеми. — София: БАН, 1982. — 262 с.
5. Кордюм Е. Л., Недуха Е. М., Сидоренко П. Г. Структурно-функциональная характеристика растительной клетки в процессе дифференцировки и дедифференцировки. — К.: Наук. думка, 1980. — 113 с.
6. Паламарчук И. А., Веселова Т. Д. Учебное пособие по ботанической гистохимии. — М.: Изд-во МГУ, 1965. — 108 с.
7. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений. — М.: Колос, 1974. — 288 с.
8. Плюц Т. А., Банникова В. П., Главацкая О. М. Ультраструктура зародышевого мешка *Crepis tectorum* до и после оплодотворения // Укр. ботан. журн. — 1986. — Т. 43, № 6. — С. 15—20.
9. Полевой В. В. Фитогормоны. — Л.: ЛГУ, 1982. — 249 с.
10. Achley T. Zygote shrinkage and subsequent development in some *Hibiscus* hybrids // Planta. — 1972. — V. 106. — P. 303—317.
11. Dibold A. G. Fine structural development of the megagametophyte of *Zea mays* following fertilization // Amer. J. Bot. — 1968. — V. 55, № 7. — P. 797—806.
12. Jensen W. A. Cotton embryogenesis: The zygote // Planta. — 1968. — V. 79, № 4. — P. 346—366.

Бланковская Т. Ф., Кириленко Н. А.

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

**ЦИТОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ЗИГОТЫ ПШЕНИЦЫ
В ПРОЦЕССЕ ЕЕ СОЗРЕВАНИЯ**

Резюме

Проведено измерение клетки, ядра и ядрышек, определена величина ядерно-ядрышковых отношений в процессе созревания зиготы у мягкой и твердой пшеницы. Обнаружено, что объемы клетки, ядра и ядрышек в период созревания зиготы колеблются. Кривые, отражающие процентное отношение этих объемов к соответствующим объемам яйцеклетки, двухвершинные.

Ключевые слова: зигота, пшеница, цитометрия.

Blankovskaya T. Ph., Kirilenko N. A.

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

**CYTOMETRICAL PARAMETERS OF WHEAT ZYGOTE
DURING ITS MATURATION**

Summary

The sizes of cell, its nucleus and nucleolus of durum and soft wheat zygote during its maturation has been measured; also the value of nucleus-to-nucleolus ratio has been determined. Fluctuation of cell, its nucleus and nucleolus volumes during zygote maturation was detected. The curves, showing percent ratio of these volumes to corresponding volumes of egg cells, have two peaks.

Key words: egg cell, wheat, cytometry.