

УДК 581.3:633.16

О. Л. Шестопа́л¹, асп., **Т. П. Бланковська**² д-р біол. наук, проф.¹ Південний біотехнологічний центр у рослинництві УААН,
Овідіопольська дор., 3, м. Одеса, 65036, Україна,
e-mail: i.zambriborsh@paso.net² Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра генетики і молекулярної біології,
ул. Дворянська, 2, м. Одеса, 65026, Україна

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ПОКАЗНИКІВ АНТИПОДАЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ *HORDEUM BULBOSUM* L. ($2n = 28$) І СОРТІВ ДВОРЯДНОГО ЯЧМЕНЮ

Проведено порівняльне дослідження кількості та каріометричних показників клітин антипод дикого бульбозного ячменю та сортів дворядного ячменю. Виявлено, що показники антиподального комплексу *H. bulbosum* L. (кількість клітин антипод, середній і сумарний об'єм ядер і ядерець) майже співпадають із такими у сортів культурного ячменю. Генотипові особливості будови антиподального комплексу ячменю не залежать від статусу рослин - культурного чи дикорослого.

Ключові слова: ячмінь, *Hordeum bulbosum* L., антиподи, каріометрія.

Роль антиподального комплексу (далі АК) у розвитку зародкового мішка (далі ЗМ) і зернівки у цілому дуже важлива. Про це свідчить його положення у насінневному зачатку, різна кількість клітин і час їх повної дегенерації. Цей процес видоспецифічний та обумовлений процесами, що відбуваються під час розвитку жіночих генеративних структур. Порівняння всіх клітин ЗМ ячменю показало, що антиподи є найбільш мінливими за розміром і структурою [1]. У злаків вони функціонують як метаболічний центр поглинання, синтезу, трансформації та транспорту живильних речовин до ЗМ [2-4].

Число і форма антипод у зрілому зародковому мішку ячменю варіює як у різних видів та сортів, так і в межах одного колоса [5, 6, 7]. Якщо в сформованому ЗМ їх звичайно буває три, то в зрілому — комплекс антипод у більшості представників родини *Poaceae* складається з 30-60 клітин, а в бамбука — навіть з 300 [8].

Після припинення мітозів, тобто після завершення раннього диференціювання (за Ивановською), відбувається політенізація хромосом — кінцева диференціація [3, 9], внаслідок чого ядра антипод збільшуються в 3-10 разів [10].

Метою даної роботи було дослідити генотипові особливості будови АК різних видів ячменю.

Матеріал та методи дослідження

В якості матеріалу для вивчення сортових та видових особливостей диференціації клітин антиподального комплексу зародкового мішка використовували зав'язі дикорослого ячменю *Hordeum bulbosum* L. ($2n = 4x = 28$) та зав'язі ярового дворядного ячменю *Hordeum vulgare* L. сортів Незалежний, Первенець та Екзотик.

Зав'язі із зрілим зародковим мішком фіксували за Навашиним, мікротомні зрізи 15–20 мкм завтовшки забарвлювали бромфеноловим синім [11]. Кількість клітин в антиподальному комплексі визначали, підраховуючи їх ядра послідовно на всіх зрізах зав'язі. Через те, що антиподи мають неправильну форму і їх об'єм визначити складно, розміри клітин оцінювали за об'ємом ядер, бо ядерно-цитоплазматичне співвідношення є постійною величиною [12]. Діаметри ядер та ядерець вимірювали при об'єктиві 40x та окулярі 10x за допомогою гвинтового окуляр-мікрометра МОВ-1-15x. Об'єми визначали за формулою для еліпсоїда:

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

де a — велика, b — мала піввісь.

Оскільки об'єми компонентів клітини і, особливо, співвідношення між ними, точніше, ніж лінійні розміри, характеризують напрямки метаболічних процесів, ми визначали також ядерно-ядерцеве співвідношення (далі ЯЯС) за формулою:

$$(V_{\text{ядра}} - V_{\text{ядерця}}) / V_{\text{ядерця}}.$$

Як відомо, антиподи — гаметофітна, надзвичайно активна, але тимчасова тканина, що працює за типом залозистих тканин [8]. Функціональна активність секреторних структур визначається сумарним рівнем функціональної активності секреторних клітин, які входять до їх складу [13]. Ефективність роботи антиподального комплексу найбільш інформативно визначається також за сумарним об'ємом ядер і ядерець всіх антипод в одному зародковому мішку [7]. Тому крім середніх об'ємів, визначали суму об'ємів ядер і ядерець всіх клітин-антипод зародкового мішка (сумарні об'єми).

Одержані результати оцінювали з використанням стандартних комп'ютерних програм статистичного аналізу за логарифмами П. Ф. Рокицького [14].

Результати дослідження та їх аналіз

З метою вивчення генотипових особливостей АК дикорослої і культурних форм ячменю провадили порівняльне дослідження зародкових мішків трьох сортів дворядного ячменю — Незалежний, Первенець та Екзотик, а також тетраплоїдної форми бульбозного ячменю ($2n = 4x = 28$) — *Hordeum bulbosum* L. (табл. 1).

Таблиця 1

Показники АК *Hordeum bulbosum* L. та різних сортів дворядного ячменю

Генотип	Кількість антипод	Середній об'єм, мкм ³		Сумарний об'єм, тис. мкм ³		ЯЯС
		ядер	ядерець	ядер	ядерець	
<i>Hordeum bulbosum</i> L.	36,0 ± 3,0	1769 ± 115*	182 ± 12**	63,7 ± 5,8	6,6 ± 0,1	8,9 ± 0,3**
Екзотик	36,0 ± 1,4	2125 ± 87	276 ± 12	76,6 ± 10,8	9,9 ± 1,1	7,14 ± 0,14
Первенець	24,0 ± 1,5*	1948 ± 88	247 ± 11	46,7 ± 3,4*	5,9 ± 0,6*	7,32 ± 0,20
Незалежний	31,2 ± 3,1	2321 ± 101	288 ± 14	74,3 ± 5,7	9,1 ± 0,9	7,57 ± 0,20

Різниця між генотипами достовірна: * — при P < 0,05; ** — при P < 0,01.

В літературі є повідомлення [5] про будову АК мишачого ячменю (*Hordeum murinum* L.), у якого мала кількість (5,75 ± 1,2) клітин антипод за їх досить значного розміру — об'єм ядер (986 ± 305 мкм³), об'єм ядерець (174 ± 69 мкм³). Ми сподівалися, що каріометричні показники та кількість антипод досліджуваної дикорослої форми будуть приблизно такими ж. Але наше дослідження дало зовсім інші результати.

Виявлено, що кількість клітин в антиподальному комплексі *H. bulbosum*. Наближається до такої в АК сортів дворядного ячменю. Так, число антипод двох сортів культурного ячменю (Незалежний і Екзотик) та дикорослого співпадає (рис. 1), тоді як кількість антипод в ЗМ сорту Первенець була достовірно меншою.

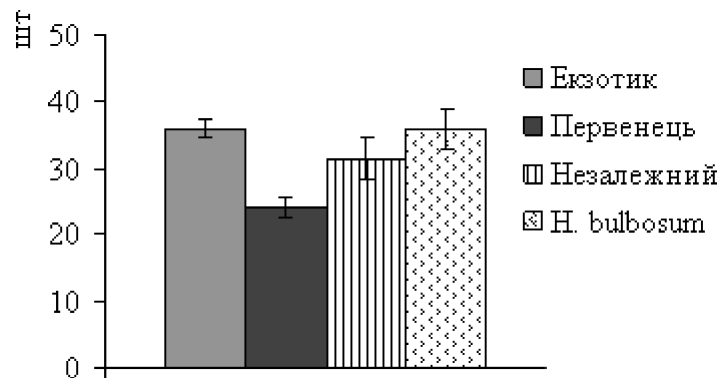


Рис. 1. Кількість клітин в АК різних форм ячменю

Результати дослідження показали також, що об'єми ядер і ядерець клітин антипод як дикорослої, так і культурних форм ячменю є величинами одного порядку. Об'єми ядер та ядерець антиподальних клітин *H. bulbosum* були меншими, ніж у сортів дворядного ячменю (рис. 2), але більшими за такі у *H. murinum*. Показники ЯАС в клітинах-антиподах *H. bulbosum* перевищували такі у культурного ячменю.

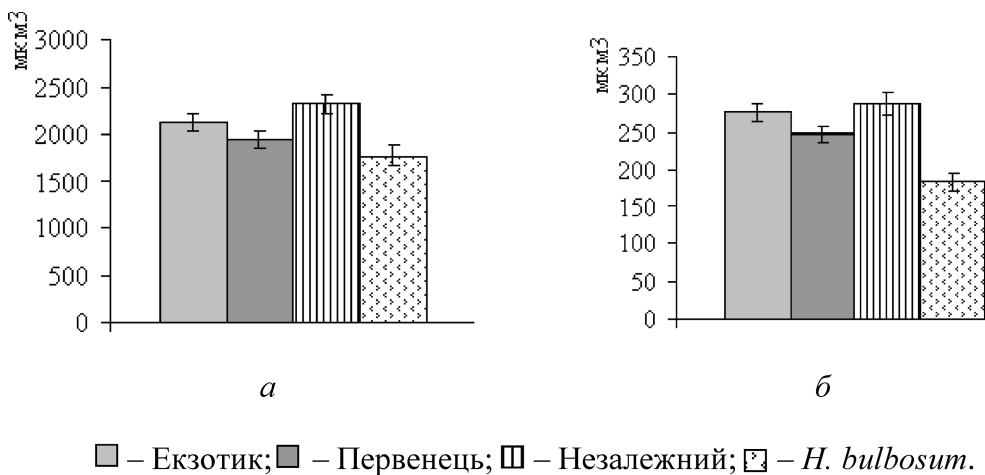


Рис. 2. Середні об'єми ядер (а) та ядерець (б) антипод ячменю

Щодо показників сумарного об'єму, то, як бачимо на рис. 3, об'єм усіх ядер антипод дикорослого виду не відрізнявся від такого у двох сортів культурного ячменю та був достовірно більшим за такий у сорту Первенець.

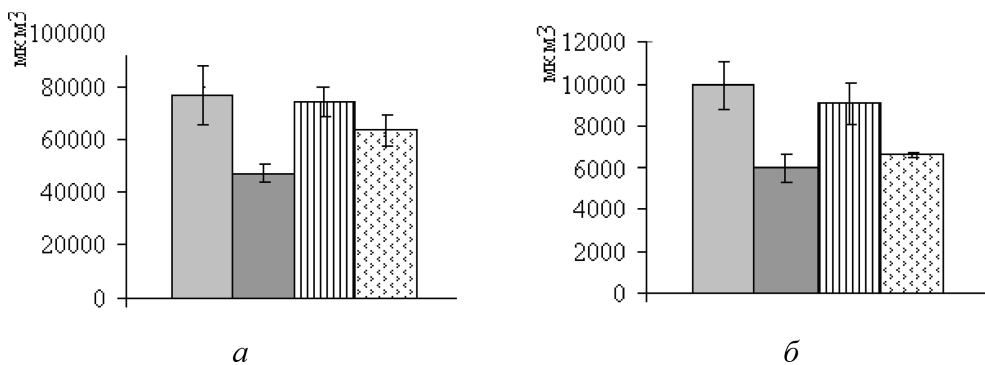


Рис. 3. Сумарні об'єми ядер (а) та ядерець (б) антипод ячменю (умовні позначення як на рис. 2)

Загальний об'єм усіх ядерць клітин АК *H. bulbosum*, навпаки, співпадав з даним показником сорту Первенець і був достовірно меншим, ніж у інших сортів дворядного ячменю.

Аналіз результатів дослідження виявив, що будова антиподально-го комплексу *H. bulbosum* подібна до такої у сортів дворядного ячменю і майже не схожа на будову АК іншої дикорослої форми ячменю (*H. murinum*). Тобто статус форми ячменю не є головною рисою, яка впливає на розвиток такої важливої структури ЗМ як антиподальний комплекс. В літературі є дані, що бульбозні клони, які вивчали, добре схрещуються з сортами культурного ячменю [15, 16]. Відомо, що результативність схрещування залежить від сумісності обох батьків як у генетичному, так в фізіологічному і морфологічному планах. Таким чином, можна припустити, що співпадання часу цвітіння і схожість будови жіночого гаметофіту є однією із запорок ефективного схрещування між цими видами.

H. bulbosum L. за кількістю клітин в антиподальному комплексі, середніми і сумарними об'ємами ядер і ядерць практично не відрізняється від таких у сортів культурного ячменю.

Висновки

1. *H. bulbosum* L. за кількістю клітин в антиподальному комплексі не відрізняється або навіть перевищує сорти культурного ячменю.
2. Середній об'єм ядер і особливо ядерць клітин антиподально-го комплексу *H. bulbosum* L. менший, а показник ядерно-ядерцево-го співвідношення більший, ніж у сортів дворядного ячменю.
3. За сумарним об'ємом ядер антипод *H. bulbosum* L. не поступається сортам дворядного ячменю або навіть перевищує їх.
4. За сумарним об'ємом ядерць антипод *H. bulbosum* L. поступається більшості сортів дворядного ячменю.

Література

1. 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. — Vol. 7, N 6. — P. 333-346.
2. Батыгина Т. Б. Хлебное зерно: Атлас. — Л.: Наука, 1987. — 102 с.
3. Ивановская Е. В. Цитозембриологическое исследование дифференцировки клеток растений. — М.: Изд-во МГУ, 1983. — 152 с.
4. Плющ Т. А. Ультраструктура зародышевого мешка покрытосеменных. — К.: Наукова думка, 1992. — 145 с.
5. Бланковська Т. П., Шестопап О. Л., Трочинська Т. Г., Давиденко В. Л. Антиподальний апарат злаків та продуктивність рослин // Збірн. наук. праць Уманського Державного Аграрного університету (спец. випуск). — Умань, 2003. — С. 332-336.
6. Бланковська Т. Ф., Шестопап О. Л. Кількість та розміри антипод шестирядного та дворядного ячменю // Вісник ОДУ. — 2002. — Т. 7, № 1. — С. 249-253.
7. Бланковская Т. Ф., Сурикова Е. С. Количество и размер клеток антиподального комплекса в зрелом зародышевом мешке пшеницы // Научно-технич. бюлл. ВСГИ. — 1993. — № 2 (84), — С. 43-46.

8. Жукова Г. Я., Батыгина Т. Б. Антиподы // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. В 3 т. — С.Пб.: Мир и семья, 1994. — Т.1.: Генеративные органы цветка. — С. 199–202.
9. Ивановская Е. В., Прокофьева З. Д. Политения в ядрах антипод пшеницы // ДАН СССР. — 1963. — Т. 152, № 2. — С. 446–449.
10. Бланковская Т. Ф. Морфо-функциональные аспекты развития генеративных структур хлебных злаков: Автореф. дис... д-ра биол. наук. — С.Пб., 1992. — 31 с.
11. Паламарчук И. А., Веселова Т. Д. Учебное пособие по ботанической гистохимии. — М., — 1965. — 108 с.
12. Hertwig R. Über Korrelationen von Zell — und Kerngröße und ihre Bedeutung für die geschlechtlichen Differenzierung und die Teilung der Zelle // Biol. Zbl. — 1903. — Vol. 23, N 2. — P. 8–14.
13. Бугара А. М. Клеточная дифференциация и экспериментальный морфогенез у эфиромасличных растений: Автореф. дис... д-ра биол. наук. — Кишинёв, 1992. — 43 с.
14. Рокцкий П. Ф. Биологическая статистика. — Минск: Высшая школа, 1973. — 319 с.
15. Шестопа О. Л. Особливості розподілу хромосом в мейозі гібридних рослин F₁ від схрещування *Hordeum vulgare* x *Hordeum bulbosum* // Тез. докл. II Межд. конф. молодых учёных "Современные проблемы генетики, биотехнологии и селекции растений" (19–23 мая, Харьков). — Харьков, 2003. — С. 110–111.
16. Шепель Л. С., Махновська М. Л., Ігнатова С. О. Підходи до розробки технології одержання гібридів *Hordeum vulgare* x *Hordeum bulbosum* з використанням культури in vitro // Тези допов. I Міжн. конф. студентів та аспірантів "Молодь і поступ біології" (11–14 квітня 2005 року, м. Львів). — Львів: СПОЛОМ, 2005. — С. 117–118.

О. Л. Шестопа¹, Т. Ф. Бланковская²

¹ Южный биотехнологический центр в растениеводстве УААН, Овидиопольская дор., 3, г. Одесса, 65036, Украина, e-mail: i.zambriborsh@paso.net

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

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ АНТИПОДАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА *HORDEUM VULBOSUM* L. (2N = 28) И СОРТОВ ДВУРЯДНОГО ЯЧМЕНЯ

Резюме

Проведено сравнительное исследование количества и кариометрических показателей клеток антипод дикого бульбозного ячменя и сортов двурядного ячменя. Установлено, что показатели антиподального комплекса (АК) *H. bulbosum* L. (количество клеток антипод, средний и суммарный объём ядер и ядрышек) почти совпадает с таковыми у сортов культурного ячменя. Генотипические особенности строения АК ячменя не зависят от статуса растений — культурного или дикорастущего.

Ключевые слова: ячмень, *Hordeum bulbosum* L., антиподы, кариометрия.

O. L. Shestopal¹, T. Ph. Blankovskaya²

¹ South Plant Biotechnological Center UAAN,
Ovidiopol'skaja road 3, Odessa, 65036, Ukraine,
e-mail: i.zambriborsh@paco.net

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

**THE COMPARATIVE ANALYSIS OF ANTIPODAL COMPLEX INDEX
OF HORDEUM BULBOSUM L. (2N = 28) AND TWO — ROWED
BARLEY CULTIVARS**

Summary

The comparative research of the number and karyometrical parameters of antipodal cells of *Hordeum bulbosum* L. and two-rowed barley cultivars has been performed. It is shown, that the antipodal complex (AC) index of *Hordeum bulbosum* (the number of antipodal cells, the average and total volumes of antipodal nuclei and nucleoli) and variety of cultivars barley almost coincided. The genotypic particularity of AC structure does not depend on cultural or growing wild plant status.

Keywords: *Hordeum bulbosum* L., barley, antipode, karyometriya.