

О.Л. ШЕСТОПАЛ¹, Т.П. БЛАНКОВСЬКА²¹ Південний біотехнологічний центр у рослинництві УААН, Одеса² Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова
e-mail: i.zambriborsh@paco.net

БУДОВА АНТИПОДАЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ СОРТІВ ТА ГІБРИДІВ ЯЧМЕНЮ ЗА РІЗНИХ УМОВ ВИРОЩУВАННЯ РОСЛИН



Проведено порівняльне дослідження кількості клітин антипод та їх каріометричних показників у трьох сортів дворяного ячменю та F₁ реципрочних гібридів між ними за різних умов вирощування рослин. Виявлено, що кількість антипод у досліджуваних генотипів різна і залежить від умов вирощування. Сумарні об'єми ядер і ядерець всіх клітин-антипод в зародковому мішку ячменю за умов вирощування рослин як у полі, так і в оранжереї збігаються. Характерний рівень функціональної активності антиподального комплексу досягається певною комбінацією кількості клітин антипод та їх об'єму. При вирощуванні рослин в штучних умовах (оранжерея) успадкування ознак «кількість антипод» та «сумарний об'єм ядер та ядерець» першим поколінням реципрочних гібридів відбувається за материнським типом.

© О.Л. ШЕСТОПАЛ, Т.П. БЛАНКОВСЬКА, 2006

Вступ. Роль антиподального комплексу (АК) у розвитку зародкового мішка (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]. Це надзвичайно активна, але тимчасова тканина.

Перша фаза диференціації антипод пов'язана зі збільшенням їх кількості, що досягається шляхом відтворюючих поділів «первинних» трьох клітин антипод у процесі дозрівання ЗМ. Друга стадія — кінцева диференціація (КД) — здійснюється клітинами, що вийшли з мітотичного циклу у G₁- чи G₂-періоді й перейшли в гетеросинтетичну інтерфазу, яка пов'язана зі специфічним функціонуванням зрілої клітини. Для антипод КД супроводжується ендомітозом, що приводить до утворення політених хромосом. Внаслідок цього ядра антипод збільшуються у 3—10 разів [3, 5—7].

Політенія в антиподах є одним з типів онтогенетичної поліплоїдії, що закономірно виникає в нормальному онтогенезі тканини як реалізація спадкової інформації [3, 5, 6]. Певна генетична програма формування АК зберігається навіть при віддаленій гібридизації. Успадкування кількості антипод та розмірів їхніх ядер і ядерець у цих гібридів відбувається за материнським типом [8, 9].

Виходячи з важливої ролі антипод, необхідно визнати, що їх поділ є одним із критичних періодів розвитку зародкового мішка злаків. Так, наприклад, у деяких зрілих ЗМ стерильного аналогу м'якої пшениці Одеська 51 поділ антипод не відбувався [8]. Отже, кількість мітозів, що зазнають три ініціальні антиподи, ступінь політенізації їхніх хромосом генетично детерміновані.

Оскільки антиподи відіграють важливу роль у синтезі і транспортуванні речовин, їхня кількість і розміри не можуть не позначатися на розвитку зародка, ендосперму і зернівки у цілому [1]. Відомо, що за різних умов вирощування рослин темпи ембріогенезу та маса ут-

вореного насіння розрізняються [7, 8, 10, 11]. При зміні тривалості світлового дня найбільші відхилення спостерігали на третьому, п'ятому та шостому (розвиток жіночого та чоловічого гаметофітів) етапах органогенезу рослин [12]. Гібриди першого покоління від реципрокних схрещувань нерівноцінні за кількістю зерен у колосі та величиною зерновок [13]. Крім того, вивчення таких гібридів дозволяє виявити роль материнського сорту в успадкуванні ознак. Метою даної роботи було дослідити будову антиподального комплексу сортів та гібридів ячменю за різних умов вирощування рослин.

Матеріал та методи. Об'єктом дослідження були зав'язі трьох сортів дворядного ячменю (*Hordeum distichum* L.) — Незалежний (Н), Первенець (П) та Екзотик (Е), АК яких, за результатами попередніх досліджень [10, 14], розрізняються за кількістю клітин та їхнім розміром, а також зав'язі реципрокних гібридів першого покоління між цими сортами — Н × П, П × Н, Е × Н, Н × Е, Е × П, П × Е. Батьківські форми і гібриди вирощували в полі та в оранжерей (нічна температура 14—16 °С, денна 18—20 °С; освітлення 2500 лк).

Зав'язі зі зрілим зародковим мішком фіксували за Навашиним, доводили до парафіну за загально прийнятою методикою [15]. Мікротомні зрізи 15—20 мкм завтовшки забарвлювали бромфеноловим синім [16]. Кількість клітин в антиподальному комплексі визначали, підраховуючи їх ядра послідовно на всіх зрізах зав'язі. Оскільки антиподи мають неправильну форму і їх об'єм визначити складно, розміри клітин оцінювали за об'ємом ядер, оскільки ядерно-цитоплазматичне співвідношення є постійною величиною [17]. Діаметри ядер та ядерць вимірювали за допомогою гвинтового окуляр-мікрометра МОВ-1-15х. Об'єми визначали за формулою для еліпсоїда

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

де a — велика піввісь, b — мала піввісь.

Ядерно-ядерцеве співвідношення (далі ЯЯС) визначали за формулою

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

Крім середніх об'ємів, визначали суму об'ємів ядер і ядерць всіх клітин-антипод зародкового мішка (сумарні об'єми). Одержані

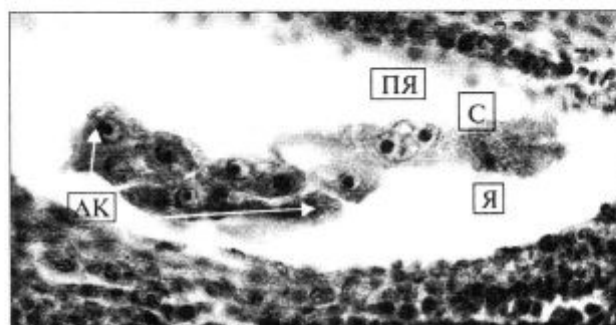


Рис. 1. Зародковий мішок ячменю: АК — антиподальний комплекс; ПЯ — полярні ядра центральної клітини; Я — яйцеклітина; С — синергіда

результати оцінювали з використанням стандартних комп'ютерних програм статистичного аналізу за логарифмами Рокицького [18].

Результати дослідження та їх обговорення. Головними показниками, що характеризують будову антиподального комплексу ЗМ ячменю (рис. 1), є кількість клітин, що входять до його складу, та їхні розміри, особливо об'єми ядер та ядерць. Усі досліджувані нами ознаки є кількісними, про що свідчать досить значні величини коефіцієнта варіації їхніх показників. Причому об'єми ядер та ядерць антипод були найбільш різноманітними та характеризувались коефіцієнтом варіації 50—80 %. Менш різноманітними були ознаки «сумарний об'єм» ядер та ядерць. Найбільш стабільними з показників, що вивчали, були ознаки «кількість антипод» та «ЯЯС» (10—20 та 10—30 % відповідно). Менші величини коефіцієнта варіації останніх показників в порівнянні із варіацією об'ємів, можливо, пов'язані з різницею в одиницях вимірювання — лінійних та об'ємних. Проте, можна припустити, що проходження перших етапів диференціації клітин антипод є більш-менш стабільною ознакою, тоді як кінцева диференціація — це більш мінливий процес.

В результаті проведених досліджень показано, що найбільший розбіг за кількістю клітин антипод був у зародковому мішку сорту Первенець (від 24 до 41 — в умовах оранжерей) та сорту Незалежний (від 24 до 39 — в польових умовах). Коливання кількості антипод у зародковому мішку сорту Екзотик було незначним. Щодо кількості антипод у F_1 реципрокних

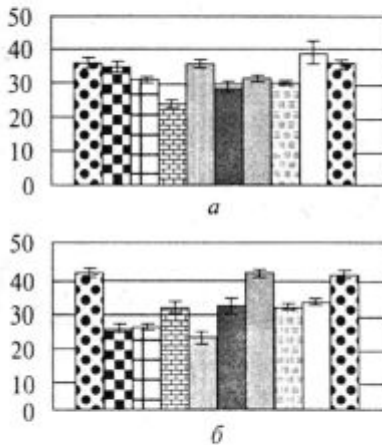


Рис. 2. Кількість клітин антипод (шт.) в зародковому мішку ячменю за різних умов вирощування рослин: *a* — поле, *б* — оранжерея; — сорт Екзотик; — сорт Первенець; — сорт Незалежний; — F₁ E × П; — F₁ П × E; — F₁ П × Н; — F₁ Н × П; — F₁ Н × E; — F₁ E × Н

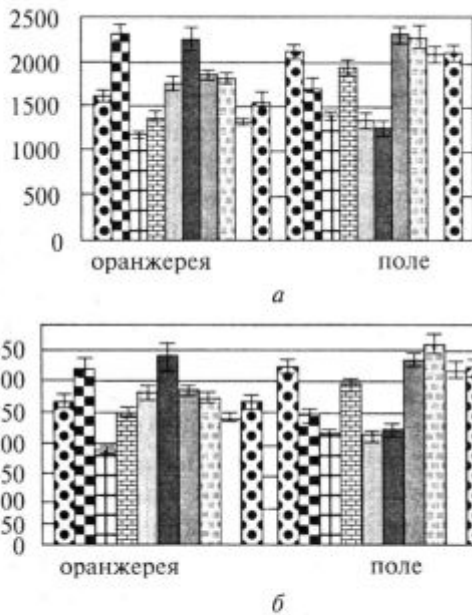


Рис. 3. Об'єми ядер (*a*) та ядерця (*б*) антипод ячменю за різних умов вирощування рослин (умовні позначення як на рис. 2), мкм³

гібридів між даними сортами, то як бачимо на рис. 2, умови вирощування рослин мали відчутний вплив на величину цього показника.

Так, у польових умовах кількість антипод достовірно збільшується в ряду Первенець — Незалежний — Екзотик ($P < 0,001$). Рецип-

рочні гібриди комбінацій схрещувань E × П та П × E за кількістю антипод не розрізнялися, тоді як інші гібридні пари мали достовірну різницю в кількості клітин. Причому сорт Первенець, що мав найменшу кількість антипод, достовірно відрізнявся за цим показником від реципрокних гібридів з його участю ($P < 0,01$) на відміну від інших сортів (рис. 2, *a*).

Таким чином, за несприятливих умов вирощування (посуха) гібриди F₁ успадковують програму утворення АК батьківської форми із більшою кількістю мітотичних циклів.

За вирощування рослин в умовах оранжереї середня кількість антипод в ЗМ усіх сортів була достовірно більшою ($P < 0,01$), ніж в польових умовах. Кількість антипод у F₁ реципрокних гібридів між сортами Первенець і Екзотик та Незалежний і Екзотик не розрізнялась і була достовірно меншою, ніж у батьківських форм. Виявлено вплив материнської форми на успадкування ознаки «кількість антипод» реципрокними гібридами F₁ між сортами Незалежний і Первенець (рис. 2, *б*).

Отже, за сприятливих умов вирощування відбувається депресія поділу клітин антипод у менш стабільних гібридних генотипів ячменю в порівнянні із вихідними сортами.

Характер розподілу величин об'єму ядер та ядерця в клітинах антипод у різних варіантах дослідження збігається (рис. 3). Дана ознака є такою, що відображує кінцевий етап диференціювання клітин антипод. Вивчення успадкування останньої показало, що в польових умовах вирощування рослин у F₁ реципрокних гібридів між сортами Незалежний і Первенець та Екзотик і Первенець об'єми ядер та ядерця були достовірно меншими ($P < 0,05$ і $P < 0,001$ відповідно), ніж у батьківських форм. Причому гібриди Н × П та П × Н мали однаковий розмір ядер і ядерця, тоді як гібриди другої пари схрещування (E × П та П × E) розрізнялися за об'ємами з достовірністю $P < 0,05$. Сорти Незалежний та Екзотик, які мали антиподальний комплекс, схожий за будовою, та їх реципрокні гібриди не виявили різниці за цими показниками.

Характер успадкування ознак «об'єм ядра» та «об'єм ядерця» за умов вирощування рослин в оранжереї (рис. 3) дещо змінювався. Так, у гібридів E × П і Н × П спостерігали збільшен-

ня об'єму ядер та ядерць антипод порівняно з батьківськими сортами ($P < 0,001$), тобто мав місце гетерозисний ефект за цими показниками. У реципрокних гібридів від схрещувань Екзотик — Первенець та Первенець — Незалежний різниця між об'ємами ядер і ядерць також була достовірною ($P < 0,01$).

Вплив умов вирощування на розмір ядер та ядерць антипод зародкового мішка досліджуваних генотипів був неоднозначним. Так, у сортів та F_1 гібридів $П \times E$, $E \times H$ і $H \times E$ в умовах оранжереї в порівнянні з польовими умовами істотно зменшились каріометричні показники. У інших гібридів ($E \times П$, $П \times H$ та $H \times П$) ядра та ядерця були більші за розмірами ($P < 0,001$ для ядер та $P < 0,01$ для ядерць).

Все наведене свідчить про те, що характер успадкування процесу кінцевої диференціації антипод (ендомітоз) є більш мінливим, ніж початкової (мітоз).

Як відомо, для видів та сортів пшениці та ячменю необхідний рівень фізіологічної активності клітин АК досягається за рахунок комбінації певної кількості клітин та розміру їх ядер та ядерць [10, 19]. Можна припустити, що за сприятливих умов навколишнього середовища вихід на відповідний функціональний рівень активності АК досягається двома способами: 1) збільшенням кількості клітин при невеликих розмірах; 2) збільшенням об'єму ядер та ядерць клітин при їх невеликій кількості. Наші дослідження підтверджують дану гіпотезу, яка узгоджується з розрахованою нами негативною кореляційною залежністю ($P < 0,05$) кількості антипод та їх об'єму ($r = -0,95$; $n = 5$). Так, для сортів ячменю певний сумарний об'єм ядер та ядерць при вирощуванні в сприятливих умовах досягається у перший згаданий вище спосіб, а для гібридів — у другий.

Дослідження політенії в клітинах антипод становлять інтерес з погляду того, що антиподи є фізіологічно активною тканиною і, отже, працюють за типом залозистої тканини. Таким чином, буде правомірною екстраполяція результатів каріометричних досліджень клітин залозистих волосків та залозок ефіроолійних культур [20, 21], а також проведення певних аналогій між ними та АК злаків. Так, ефективність роботи антиподального комплексу у пшениці найбільш інформативно визначаєть-

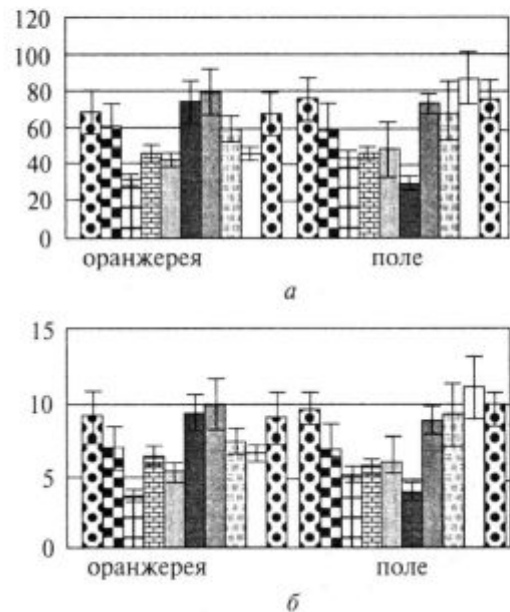


Рис. 4. Сумарні об'єми ядер (а) та ядерць (б) антипод ячменю за різних умов вирощування рослин (умовні позначення, як на рис. 2), тис. мкм³

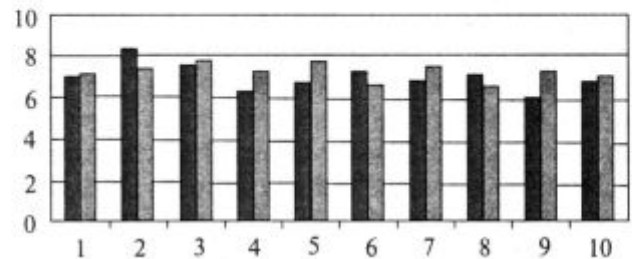


Рис. 5. Показник ЯАС клітин антиподального комплексу сортів ячменю: □ — рослини в полі; ■ — рослини в умовах оранжереї; 1, 10 — сорт Екзотик; 4 — сорт Первенець; 7 — сорт Незалежний; 2 — $F_1 E \times П$; 3 — $F_1 П \times E$; 5 — $F_1 П \times H$; 6 — $F_1 H \times П$; 8 — $F_1 H \times E$; 9 — $F_1 E \times H$

ся за сумарним об'ємом ядер і ядерць усіх клітин антипод зародкового мішка [11]. Подібним же чином визначається і тотальна функціональна активність секреторних структур м'яти, лаванди та герані [20, 21].

При вирощуванні рослин в польових умовах не виявлено різниці між F_1 реципрокними гібридами і сортами за сумарними об'ємами ядер та ядерць клітин антипод (рис. 4). У сортів Незалежний та Екзотик величини даних показників антипод збігались та були достовірно більшими у сорту Первенець ($P < 0,01$). Як бу-

до показано раніше [14], величини сумарного об'єму ядер та ядерць антипод сортів не залежать від умов вирощування рослин. Проведене дослідження підтвердило цей факт (рис. 4, а, б).

За різних умов вирощування рослин показники сумарного об'єму ядер та ядерць антипод у чотирьох із шести реципрокних гібридів F_1 також не виявили різниці. Сумарний об'єм ядер і ядерць антипод інших комбінацій схрещувань $P \times E$ та $E \times H$ в оранжереї був достовірно меншим, ніж в полі ($P < 0,05$ та $P < 0,02$ відповідно).

На відміну від результатів, отриманих при вирощуванні рослин у полі, в умовах штучного клімату (рис. 4) спостерігали достовірну різницю між показниками сумарного об'єму ядер та ядерць антипод ($P < 0,001$ та $P < 0,02$ відповідно) у F_1 гібридів $P \times H$ і $H \times P$ та $E \times P$ і $P \times E$, причому при використанні в схрещуваннях контрастних за даною ознакою сортів сумарний об'єм ядер і ядерць був вищим у того гібрида, де за матір використовували сорт з більш високим значенням даних показників.

Невисоке значення величини ядерно-ядерцевого співвідношення клітин при вирощуванні рослин і в полі, і в оранжереї свідчить про високу метаболічну активність антипод в зрілому зародковому мішку (рис. 5). Можливо, що в 3М генотипів з меншим значенням ЯЯС в антиподах виникатимуть 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 ($r = -0,72$; $n = 16$) між величиною показника ЯЯС і масою 1000 зерен для рослин при вирощуванні у полі.

Висновки. Умови вирощування рослин істотно впливають на будову антиподального комплексу ячменю (кількість клітин, розміри їхніх ядер і ядерць). В штучних умовах вирощування серед реципрокних гібридів першого покоління, між контрастними за кількістю антипод і сумарним об'ємом їхніх ядер та ядерць сортами, вищі показники даних ознак мають ті гібриди, у яких за матір був сорт з більш високим їхнім значенням. Процес кінцевої диференціації антипод (політенізація хромосом) є

більш мінливим, ніж початкової (поділ клітин). Відповідний рівень функціональної активності антиподального комплексу ячменю при вирощуванні рослин в сприятливих умовах досягається сортами пролонгацією першого етапу диференціації антипод при скороченні другого етапу, тобто збільшенням кількості клітин при невеликому їхньому об'ємі, а гібридами — навпаки.

SUMMARY. The comparative research of antipodal cell number and their karyometrical parameters in three two-rowed barley cultivars and their reciprocal F_1 hybrids has been performed under different growing conditions. It was shown that the number of antipodes varied in different cultivars and depended on growing conditions. The essential level of antipodal complex functional activity is reached by definite combination of cell quantities and their dimensions. At greenhouse conditions the traits «number of antipodal cells» and «total volumes of nuclei and nucleoli» are inherited maternally.

РЕЗЮМЕ. Проведено сравнительное исследование количества клеток антипод и их кариометрических показателей у трех сортов двухрядного ячменя и F_1 реципрокных гибридов между ними в разных условиях выращивания. Выявлено, что количество антипод у всех генотипов различается и зависит от условий выращивания. Характерный уровень функциональной активности антиподального комплекса достигается определенной комбинацией количества антипод и их объема. При выращивании растений в благоприятных условиях (оранжерея) наследование признаков «количество антипод» и «суммарный объем ядер и ядрышек» у F_1 реципрокных гибридов идет по материнской линии.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Engell K. Embryology of barley. 4. Ultrastructure of the antipodal cell of *Hordeum vulgare* L. cv. Bomi before and after fertilization of the egg cell // Sex. Plant Repr. — 1994. — 7, № 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 Моск. гос. ун-та, 1983. — 152 с.
4. Плющ Т.А. Ультраструктура зародышевого мешка покрытосеменных. — Киев : Наук. думка, 1992. — 145 с.
5. Ивановская Е.В., Прокофьева З.Д. Политения в ядрах антипод пшеницы // Докл. АН СССР. — 1963. — 152, № 2. — С. 446—449.
6. Симоенко В.К., Мусатова Л.А. Структура политенных хромосом антипод тритикале, пшеницы и

- ржи // Трета Націонал. конф. по цитогенетика. — София, 1984. — Т.1. — С. 134—141.
7. *Бланковская Т.Ф.* Морфо-функциональные аспекты развития генеративных структур хлебных злаков : Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — Санкт-Петербург, 1992. — 31 с.
 8. *Бланковська Т.П., Трочинська Т.Г.* Розвиток зародкового мішка у другого та третього поколінь пшенично-житніх гібридів // Вісн. ОДУ. — 2002. — 7, № 1. — С. 243—248.
 9. *Бланковська Т.П., Шестопал О.Л., Трочинська Т.Г., Давиденко В.Л.* Антиподальний апарат злаків та продуктивність рослин // Зб. наук. пр. Уман. аграр. ун-ту (спец. випуск). — Умань, 2003. — С. 332 — 336.
 10. *Бланковська Т.П., Шестопал О.Л.* Кількість та розміри антипод шестирядного та дворядного ячменю // Вісн. ОДУ. — 2002. — 7, № 1. — С. 249—253.
 11. *Бланковская Т.Ф., Сурикова Е.С.* Количество и размер клеток антиподального комплекса в зрелом зародышевом мешке пшеницы // Науч.-техн. бюл. Селекц.-генет. ин-та. — 1993. — № 2 (84). — С. 43—46.
 12. *Куперман Ф.М. и др.* Этапы формирования органов плодоношения. — М.: Изд-во Моск. гос. ун-та, 1955. — 319 с.
 13. *Иванова Л.В.* Проявление гетерозиса у гибридов ярового ячменя // Исследования по селекции и семеноводству зерновых культур : Записки ЛСХИ. — 1974. — 223. — С. 11—18.
 14. *Шестопал О.Л., Мехова Е.І., Гочева Е.А.* Антиподальный комплекс дворядного ячменю за різних умов вирощування // Вісн. ОНУ. — 2004. — 9, вип. 1. — С. 152—158.
 15. *Паушева З.П.* Практикум по цитологии растений. — М.: Агропромиздат, 1988. — 270 с.
 16. *Паламарчук И.А., Веселова Т.Д.* Учебное пособие по ботанической гистохимии. — М., 1965. — 108 с.
 17. *Hertwig R.* Über Korrelationen von Zell- und Kerhgröße und ihre Bedeutung für die geschlechtlichen Differenzierung und die Teilung der Zelle // Biol. Zbl. — 1903. — 23, № 2. — P. 49—62.
 18. *Рокицкий П.Ф.* Биологическая статистика. — Минск: Высшейш. шк., 1973. — 319 с.
 19. *Бланковська Т.П., Білодід Л.М.* Розміри ядерця клітин зародкового мішка багаторядного ячменю // Вісн. ОДУ. — 1998. — № 2. — С. 115—117.
 20. *Вишневский С.О., Бугара А.М., Бугаенко Л.А.* Морфологическое и кариометрическое исследование секреторных клеток мяты // Цитология и генетика. — 2000. — 34, № 3. — С. 3—9.
 21. *Бугара А.М.* Клеточная дифференциация и экспериментальный морфогенез у эфиромасличных растений : Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — Кисшинев, 1992. — 43 с.

Надійшла 15.08.05