

УДК 576.315:575.222.73:633.1

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

## ОЗНАКИ АНТИПОДАЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ ДРУГОГО ТА ТРЕТЬОГО ПОКОЛІНЬ ПШЕНИЧНО-ЖИТНІХ ГІБРИДІВ У ПОРІВНЯННІ З БАТЬКІВСЬКИМИ ФОРМАМИ

Проведено порівняльний аналіз генетико-статистичних параметрів клітин антиподального комплексу пшениці, жита та пшенично-житніх гібридів другого та третього покоління. Встановлено, що кількість клітин-антипод, об'єм їх ядер та ядерець в зародковому мішку пшениці, жита та пшенично-житніх гібридів носять формоспецифічний характер. Найбільш стабільними ознаками антиподального комплексу досліджених злаків є сумарні об'єми ядер і ядерець його клітин. У ряді поколінь пшенично-житні гібриди за ознаками антиподального комплексу наближаються до материнської форми

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

Роль, яку відіграє антиподальний комплекс у функціонуванні зародкового мішка і розвитку зернівки у цілому, є дуже важливою; свідченням цього є функції, які виконують клітини антиподального комплексу, його положення у насінневому зачатку, різна кількість клітин і час їх повної дегенерації [1, 2]. Антиподи функціонують як метаболічний центр поглинання, трансформації, синтезу та транспорту живильних речовин до зародкового мішка [2-4]. Особливості функціонування антиподального комплексу обумовлені процесами, що відбуваються під час розвитку жіночих генеративних структур. Число і форма антипод у зрілому зародковому мішку злаків варіює як у різних видів та сортів, так і в межах одного колоса [3, 4, 5]. В сформованому зародковому мішку їх звичайно буває три, в зрілому — комплекс антипод у більшості представників родини *Poaceae* складається з 30-60 клітин [1, 2, 6]. Роботами ряду дослідників [2-5] показано видо- та сортоспецифічність варіювання форми клітин антиподального комплексу, їх кількості та особливостей розвитку.

Метою даної роботи було дослідити генотипові особливості будови антиподального комплексу пшенично-житніх гібридів другого та третього покоління у порівнянні з батьківськими формами. На жаль, ми не маємо змоги продемонструвати варіювання цієї кількісної ознаки у рослин першого покоління, тому що вони, як правило, стерильні [7, 8].

### Матеріали та методи

Антиподальний комплекс досліджували в зрілих зародкових мішках на постійних мікротомних препаратах зав'язей м'якої пшениці сорту Безоста I, жита сорту Одеське 1 та другого і третього поколінь гібридів між ними. Зафіксовані за Навашиним зав'язі пшенично-житніх гібридів та батьківських форм доводили до парафіну за загальноприйнятою методикою. Зрізи товщиною 10–15 мкм виготовляли на санному мікротомі; препарати забарвлювали бромфеноловим синім по Мезіа (цитохімічна реакція на сумарні білки) [9, 10].

Препарати вивчали під світловим мікроскопом МБИ-3 (об'єтив — 8× та 40×, окуляр — 15×). Кількість клітин підраховували на всіх послідовних зрізах зародкового мішка, діаметри ядер та ядерць вимірювали за допомогою гвинтового окуляр-мікрометра МОВ — I — 15× при об'єктиві 40× та за допомогою комп'ютерної програми PhotoM 1.21.

Об'єм ядер та ядерць визначали в мкм<sup>3</sup> за формулою:  $V = \pi \cdot a \cdot b^2$ , де  $a$  — велика,  $b$  — маленька напіввісі. Ядерно-ядерцеве співвід-

ношення (ЯЯС) обчислювали за формулою  $\text{ЯЯС} = \frac{V_{\text{ядра}} - V_{\text{ядерця}}}{V_{\text{ядерця}}}$  [11].

Про ступінь політенізації хромосом судили за об'ємом ядер антипод.

Результати лабораторних досліджень обробляли варіаційно-статистичними методами [12]. Визначали такі статистичні параметри: середнє арифметичне  $\bar{x}$  та помилку середнього  $S\bar{x}$ , розмах значень —  $\text{Lim}$ , середнє квадратичне відхилення  $\sigma$ , що дозволяє оцінити ступінь мінливості ознаки, коефіцієнт мінливості  $CV$ , який дозволяє порівнювати між собою ступінь варіювання ознаки та є безрозмірною величиною. Середнє квадратичне відхилення визначали

за формулою  $\sigma = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$ , коефіцієнт мінливості  $CV = \frac{\sigma \cdot 100}{\bar{x}}$  —

[12]. Рослини вирощували в однакових умовах, що дозволяє не враховувати вплив середовища на обрані ознаки.

### Результати та їх обговорення

За аналізу наведених у таблиці 1 даних стає очевидним, що кількість антипод у зрілому зародковому мішку варіює у досить значному ступені як у батьківських форм, так і у гібридних рослин. Досліджувані сорти пшениці і жита за середньою кількістю клітин антиподального комплексу значно розрізняються ( $P < 0,001$ ).

Середня кількість антипод у пшенично-житніх гібридів другого покоління значно менша, ніж у пшениці ( $P < 0,001$ ) та жита ( $P < 0,01$ ), а у третього покоління займає середнє положення між батьківськими сортами ( $P < 0,01$ ).

Пшенично-житні гібриди другого покоління являють собою організми зі складом геному AABBDDRR з певним ступінем анеуплоїдії. Саме наявність усіх або більшості гомологічних хромосом робить можливим розвиток генеративних структур, і зокрема, проходження макроспорогенезу. Тим не менш, певна генетична нестабільність у рослин другого покоління існує, і вона є причиною відхилень у розвитку зародкового мішка [6]. Цим же пояснюється і менша кількість антипод у зародковому мішку другого покоління.

Пшенично-житні гібриди третього покоління за кількістю клітин в антиподальному комплексі мають тенденцію наближення до материнської форми — пшениці внаслідок елімінації генетичного матеріалу жита. Рослини  $F_3$ – $F_6$  цих гібридів фенотипово не відрізняються від м'якої пшениці (неопубліковані результати досліджень на кафедрі генетики та дарвінізму ОДУ в 70–80 роках минулого сторіччя).

Відомо, що за об'ємами компонентів клітини і, особливо, за співвідношенням між ними можна точніше, ніж за лінійними розмірами уявити спрямованість метаболічних процесів [13–15]. Внаслідок морфометричного дослідження ядер і ядерць клітин антиподального комплексу виявлено, що жито та  $F_2$  гібриду за середнім об'ємом ядра вірогідно відрізняються від інших досліджуваних форм злаків ( $P < 0,001$ ), а пшениця Безоста 1 та  $F_3$  пшенично-житніх гібридів за цим показником не мають вірогідних відмінностей. Порівняння середніх об'ємів ядерць показало вірогідну відмінність цих показників у пшениці та жита ( $P < 0,001$ ). Об'єм ядерць пшениці та  $F_3$  розрізняються за першим порогом ( $P < 0,05$ ) вірогідності, а показники ядерць  $F_2$  та жита вірогідно не розрізняються.

З огляду на те, що житній ядерцеутворюючий організатор не функціонує в оточенні пшеничних хромосом [16–17], можна висувати багато припущень про причини змін у стратегії функціонування антиподального комплексу амфідиплоїдів у порівнянні з батьківськими формами. Серед них певну роль можуть відігравати такі явища, як сепарація геномів батьківських форм, певні епігенетичні процеси модифікування ДНК в процесі онтогенезу, зміна просторової конформації ядра, а також розбалансування і можливі перебудови генетичного апарата гібридів [19–24]. Тим не менш, складається враження, що в ряді поколінь відбувається поступова стабілізація генетичного апарата гібридів. Опосередковано це підтверджує відсутність значних відмінностей показників ядерно-ядерцевого співвідношення у досліджуваних форм злаків.

Ефективність роботи антиподального комплексу найбільш інформативно визначається за сумарним об'ємом ядер і ядерць усіх антипод зародкового мішка [5]. Наші дослідження продемонстрували, що показники суммарних об'ємів ядер і ядерць антиподального комплексу жита менші, ніж у пшениці ( $P < 0,001$ ), а у  $F_2$  менші, ніж у жита. Гібриди  $F_3$  за цими показниками не відрізняються від пшениці. Це ще раз свідчить про те, що у ряді поколінь пшенично-житні гібриди наближаються до материнської форми.

Таблиця 1

**Генетико-статистичні параметри ознак антиподального комплексу  
батьківських сортів та F<sub>2</sub> і F<sub>3</sub> пшенично-житніх гібридів**

Параметри	Ознака антиподального комплексу					
	Кількість антипод	Середній об'єм, мкм <sup>3</sup>		ЯЯС	Сумарний об'єм, тис. мкм <sup>3</sup>	
		ядер	ядерць		ядер	ядерць
Пшениця Безоста 1						
$\bar{x} \pm S \bar{x}$	29.16 ± 1.21	4375.57 ± 225.56	350.42 ± 18.63	12.55 ± 0.39	142.21 ± 11.58	10.78 ± 0.46
Lim	24 - 36	842.63 – 21753.29	49.38 - 1507.66	4.22 25.84	109.80 – 174.99	9.72 12.45
σ	4.20	2706.71	223.57	4.67	25.90	1.02
CV, %	14.39	61.86	63.80	37.22	18.22	9.44
Жито Одеське 1						
$\bar{x} \pm S \bar{x}$	19.26 ± 1.41	3136.03 ± 211.51	215.90 ± 11.90	14.07 ± 0.71	61.15 ± 3.78	4.21 ± 0.18
Lim	6 - 32	589.52 – 10308.07	70.401 - 573.2653	4.44 - 33.05	52.65 – 6.842	3.71 4.52
σ	7.98	1867.99	105.0641	6.282163	7.56	0.37
CV, %	60.30	59.57	48.66	44.63414	12.36	8.71
F <sub>2</sub> Безоста 1 x Одеське 1						
$\bar{x} \pm S \bar{x}$	13.24 ± 1.94	1820.14 ± 177.82	132.17 ± 12.66	13.22 ± 0.77	22.93 ± 1.12	1.67 ± 0.14
Lim	5 - 31	220.28 – 6119.32	16.28 – 541.75	4.95 44.81	19.230 – 25.447	1.34 - 2.12
σ	7.99	1411.46	100.49	6.17	2.53	0.32
CV, %	60.29	77.558	76.03	46.67	11.04	19.11
F <sub>3</sub> Безоста 1 x Одеське 1						
$\bar{x} \pm S \bar{x}$	24.41 ± 1.46	4747.30 ± 479.89	517.62 ± 70.64	15.07 ± 0.85	116.54 ± 6.78	11.00 ± 0.62
Lim	18 - 35	634.28 – 15974.95	52.78 – 2109.29	5.92 - 18.62	104.3 - 131.50	9.31 12.01
σ	5.91	3482.97	420.71	5.08	13.56	1.24
CV, %	24.21	73.23	93.71	44.81	11.63	11.23

Таким чином, показники кількості клітин антипод та об'ємів їх ядер і ядерць носять формо- та сортоспецифічний характер. Оче-

видно, що у різних форм злаків необхідний рівень активності антиподального комплексу (який, вочевидь, залежить від геномного складу та константності форми) досягається комбінацією певної кількості клітин та розміру їх ядер і ядерця.

Усі досліджувані нами ознаки антиподального комплексу — кількість клітин, що входять до його складу, та їх каріометричні показники — є кількісними. Відомо, що найважливішими генетико-статистичними показниками варіабельності організмів за кількісними ознаками є середнє квадратичне відхилення ( $\sigma$ ), коефіцієнт мінливості (CV) та інші [9, 25]. Коефіцієнт мінливості надає можливість порівнювати мінливість ознак й встановлювати різницю у ступіні мінливості (у однородному біологічному матеріалі він вкладається у 5–10%).

Аналіз генетико-статистичних параметрів ознак антиподального комплексу досліджуваних форм і сортів злаків виявив їх значну неоднорідність, про що свідчить розмах значень. Середнє квадратичне відхилення, і особливо коефіцієнт мінливості кількості антиподальних клітин в зародковому мішку значно варіює як у батьківських сортів, так і у гібридів різних поколінь (CV від 14 до 60%). Причому  $F_2$  за варіюванням цієї ознаки наближаються до батьківської форми, а  $F_3$  — до материнської. Середні об'єми ядер і ядерця антипод мають дуже високі показники коефіцієнту мінливості, що, вочевидь, є характерним для антиподального комплексу з огляду на процеси політенізації хромосом в різних його клітинах. У  $F_2$ , як вже відмічалось, процеси політенізації хромосом і транскрипції рДНК пригнічені, а у  $F_3$ , навпаки, спостерігається гетерозисний ефект. Що стосується коефіцієнта мінливості ЯЯС, то у пшениці він дещо менший, ніж у інших досліджуваних форм, у яких він майже однаковий. Але у  $F_3$ , як свідчить ліміт, ця ознака варіює в менших межах, ніж у  $F_2$ , жита і навіть у пшениці.

Коефіцієнти мінливості сумарних об'ємів ядер та ядерця досліджуваних форм злаків були значно менші, ніж такі у середніх об'ємів. Коефіцієнт мінливості сумарного об'єму ядер досліджуваних форм і сортів варіював від 11 до 18%, а сумарного об'єму ядерця у батьківських форм складав менш ніж 10%, що є свідченням певної постійності цього важливого показника для оцінювання активності антиподального комплексу. Сумарний об'єм ядерця гібридів обох поколінь характеризувався дещо більшим коефіцієнтом варіації — від 11 до 19%.

Таким чином, можна засвідчити, що, хоча антиподальні клітини зародкового мішка в силу їх функціональних особливостей дуже різноманітні за досліджуваними кількісними ознаками, тим не менш, є можливим виділити певний генетичний базис їх формування.

## **Висновки**

1. Кількість клітин-антипод, об'єм їх ядер та ядерця в зародковому мішку пшениці, жита та пшенично-житніх гібридів носять формоспецифічний характер.

2. Найбільш стабільними ознаками антиподального комплексу пшениці, жита і пшенично-житніх гібридів є сумарні об'єми ядер і ядерець його клітин.
3. У ряді поколінь пшенично-житні гібриди за ознаками антиподального комплексу наближаються до материнської форми.

## Література

1. *Ивановская Е. В.* Цитозбриологическое исследование дифференцировки клеток растений. — М.: Изд-во МГУ, 1983. — 152 с.
2. *Цитозбриология основных хлебных злаков* / Я. С. Модилевский, П. Ф. Окснюк, М. И. Худяк, Л. К. Дзюбенко, Ф. А. Бейлис-Вырочая. — К.: Изд-во АН УССР, 1958. — 336 с.
3. *Бланковська Т. Ф., Шестопал О. Л.* Кількість та розміри антипод шестирядного та дворядного ячменю // Вісник ОДУ. — 2002. — Т. 7, № 1. — С. 249-253.
4. *Шмарев И. Г.* Ультраструктура антипод зародкового мешка *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.
5. *Антиподальный аппарат злаків та продуктивність рослин* / Т. П. Бланковська, О. Л. Шестопал, Т. Г. Трочинська, В. Л. Давиденко // Біологічні науки та проблеми рослинництва. — Умань. — 2003. — С. 332-336.
6. *Бланковська Т. П., Трочинська Т. А.* Розвиток зародкового мішка у другого та третього поколінь пшенично-житніх гібридів // Вісник ОНУ. — 2002. — Т. 7, № 1. — С. 243-248.
7. *Бланковська Т. П., Трочинська Т. Г.* Розвиток генеративних структур пшенично-житніх гібридів першого покоління // Вісник Одеського національного університету. — 2001. — Т. 6. — Вип. 1. Біологія. — С. 205-208.
8. *Трочинська Т. Г.* Развитие генеративных структур у первого поколения пшенично-ржаных гибридов // Генетика в XXI столетии: Современное состояние и перспективы развития: Мат. III съезда. — М. — 2004. — Т. 2. — С. 423.
9. *Паушева З. П.* Практикум по цитологии растений. М.: Агропромиздат, 1988. — 271 с.
10. *Паламарчук И. А., Веселова Т. Д.* Учебное пособие по ботанической гистохимии. — М.: Изд-во МГУ, 1965. — 108 с.
11. *Хесин Я. Е.* Размеры ядер и функциональное состояние клеток. — М.: Медицина, 1967. — 427 с.
12. *Рокицкий П. Ф.* Биологическая статистика. — Минск: Выш. школа, 1973. — 319 с.
13. *Цитология* / А. С. Трошин, А. Д. Браун, Ю. Б. Вахтин, Л. Н. Жилкин, К. Н. Суханова. — М.: Просвещение, 1970. — 302 с.
14. *Челидзе П. В.* Ультраструктура и функции ядрышка интерфазной клетки. — Тбилиси: Мецниереба, 1985. — 119 с.
15. *Соболь М. А.* Роль ядрышка в реакциях растительных клеток на действие физических факторов окружающей среды // Цитология и генетика. — 2001. — Т. 35, № 3. — С. 72-84.
16. *Reprogramming of rye rDNA in triticale during microsporogenesis* / M. Silva, A. Queiroz, N. Neves, A. Barao, A. Castilho, L. Morais-Cecilio, W. Viegas // Chromosome Res. — 1995. — Vol. 3. — P. 492-496.
17. *Neves N., Heslop-Harrison J. S., Viegas W.* rRNA gene activity and control of expression mediated by methylation and imprinting during embryo development in wheat x rye hybrids // Theor. Appl. Genet. — 1995. — Vol. 91. P. 529-533.
18. *Nucleolar dominance in triticales: control by unlinked genes* / N. Neves, M. Silva, J. S. Heslop-Harrison, W. Viegas // Chromosome Res. — 1997. — Vol. 5. — P. 125-131.
19. *Шапова А. И., Кравцова Л. А.* Цитогенетика пшенично-ржаных гибридов. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1990. — 164 с.
20. *Chen Z. J., Pikaard C. S.* Transcriptional analysis of nucleolar dominance in polyploid plants: Biased expression/silencing of progenitor rRNA genes is developmentally regulated in Brassic // Proc. Natl. Acad. Sci. — 1997a. — Vol. 94. — P. 3442-3447.

21. *Parental genomes are separated throughout the cell cycle in a plant hybrid* / A. R. Leitch, T. Schwarzacher, W. Mosgoller, M. D. Bennett, J. S. Heslop-Harrison // *Chromosoma*. — 1991. — Vol. 101. — P. 206–213.
22. *Leitch A. R., Heslop-Harrison J. S. Ribosomal RNA gene expression and localization in cereals* // *Chromosomes Today*. — 1993. — № 11. — P. 91–100.
23. *Lewis M. S., Pikaard C. S. Restricted chromosomal silencing in nucleolar dominance* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. — 2001. — Vol. 98, № 25. — P. 14536–14540.
24. *Nucleolar Dominance: A 'David and Goliath' Chromatin Imprinting Process* / W. Viegas, N. Neves, M. Silva, A. Caperta, L. Morais-Cecilio // *Cur.Gen.* — 2002. — Vol. 3, № 6. — P. 563–576.
25. *Тоцький В. М.* Генетика. Одеса: Астропринт, 2002. — 712 с.

**Т. Г. Трочинская, Т. Ф. Бланковская**

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

### **ПРИЗНАКИ АНТИПОДАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ВТОРОГО И ТРЕТЬЕГО ПОКОЛЕНИЙ ПШЕНИЧНО-РЖАНЫХ ГИБРИДОВ В СРАВНЕНИИ С РОДИТЕЛЬСКИМИ ФОРМАМИ**

#### **Резюме**

Проведен сравнительный анализ генетико-статистических параметров клеток антиподального комплекса пшеницы, ржи и пшенично-ржаных гибридов второго и третьего поколений. Установлен формоспецифический характер как для количества клеток антиподального комплекса исследованных форм злаков, так и для объемов ядер и ядрышек антипод. Наиболее стабильными признаками антиподального комплекса являются суммарные объемы ядер и ядрышек антипод одного зародышевого мешка. В ряду поколений пшенично-ржаные гибриды по признакам антиподального комплекса приближаются к материнской форме.

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

**T. G. Trochinskaya, T. Ph. Blankovskaya**

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

### **THE ANTIPODAL COMPLEX CELLS FEATURES OF THE SECOND AND THIRD WHEAT-RYE HYBRIDS GENERATIONS IN COMPARISON WITH THE PARENTAL FORMS**

#### **Summary**

The comparative analysis of antipodal cells genetical-statistic axes has been made among the second and third generations of wheat-rye hybrids and the parental forms. The cereal has been shown the dependence on form of for such axes as quantity of antipodes and volumes of nuclei and nucleolei. The most stability was peculiar to "the total volume of nuclei" and "the total volume of nucleolei" of the embryo sac. The features of antipodal complex of wheat-rye hybrids were approximating to the maternal form in the number of generations.

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