

УДК 576.315:575.222.73:633.1

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

РОЗВИТОК ЗАРОДКОВОГО МІШКА У ДРУГОГО ТА ТРЕТЬОГО ПОКОЛІНЬ ПШЕНИЧНО-ЖИТНІХ ГІБРИДІВ

Проведено комплексне дослідження розвитку зародкового мішка у другого та третього поколінь пшенично-житніх гібридів та батьківських форм. Виявлено морфологічні, цитохімічні та каріометричні особливості розвитку зародкових мішків у досліджуваних міжвидових гібридів.

Ключові слова: зародковий мішок, пшенично-житні гібриди.

У наш час значно посилюється інтерес до віддаленої гібридизації як методу створення нових форм та організмів. Крім практичного використання у селекції, віддалена гібридизація набуває все більшого значення за розробки теоретичних проблем генетики, зокрема таких як диференціювання клітин та морфогенез, взаємодія генів ядра та цитоплазми тощо. Міжвидові гібриди є зручним модельним об'єктом за вивчення цих питань [4, 6].

Будова та розвиток зародкового мішка хлібних злаків з'ясовані досить детально [1, 2, 7, 11]. Що ж до пшенично-житніх гібридів, то такі дослідження тільки розпочинаються. Однак вже відомо [3], що у першого покоління зародковий мішок, як правило, не утворюється, а зернівки формуються дуже рідко (0,07-0,5 % зав'язей).

Метою даної роботи було вивчення розвитку зародкового мішка другого та третього поколінь пшенично-житніх гібридів і проведення порівняльного аналізу гібридів та батьківських форм.

Матеріали та методи

Об'єктами досліджень були гібриди другого та третього поколінь від схрещування м'якої пшениці з житом. В якості материнської форми була використана озима пшениця Миронівська 808, в якості батьківської — жито Одеське 1.

Різновікові зав'язі (у фазі колосіння та цвітіння рослин) фіксували за Карнуа, Навашиним та Чіаччіо [10]. Мікротомні зрізи завтовшки 10 мкм фарбували на білки бромфеноловим синім за Мезіа [8], на нуклеїнові кислоти — за Фельгеном, на ліпіди — суданом чорним Б за Мак-Манусом [10]. Розподіл та кількість досліджуваних хімічних компонентів у клітинах оцінювали візуально за наявністю та інтенсивністю забарвлення. Діаметри ядер та ядерця вимірювали за допомогою гвинтового окуляр-мікрометра. Об'єми вираховували як для еліпсоїду. Визначені об'єми та величини ядерно-ядерцевих співвідношень (далі ЯЯС) обробляли статистично [9]. Постійні мікротомні препарати (близько 200) вивчали під світловим мікроскопом "БІОЛАМ".

Результати досліджень та їх обговорення

Вивчення постійних мікротомних препаратів зав'язей підтвердило дані літератури щодо розвитку та будови зародкового мішка у м'якої пшениці та жита [1, 4, 7, 11]. Він розвивається за *Poligonum*-типом. Від формування макроспор до клітинної стадії зародкового мішка відбувається три мітози. Сформований і зрілий зародковий мішки мають три групи клітин: яйцевий апарат, центральну клітину та антиподальний комплекс. Яйцевий апарат складається з трьох клітин (яйцеклітина та дві синергіди), центральна клітина має два полярних ядра, кількість клітин антиподального комплексу у зрілому зародковому мішку варіює, що свідчить про різну кількість мітозів, які відбулися в трьох вихідних антиподах сформованого зародкового мішка.

Порівняння розвитку зародкового мішка у гібридів і батьківських форм виявило, що у фазі колосіння жито та гібриди другого покоління мали ценоцитні зародкові мішки, у той час як пшениця та третє покоління — сформовані. Під час цвітіння рослин у F_2 виявлені сформовані зародкові мішки, а у батьківських форм та F_3 гібридів — зрілі.

Антиподальний комплекс усіх форм, що вивчалися, характеризується різноманіттям розмірів клітин, що пов'язано з неоднаковим ступенем політенізації хромосом в їх ядрах та знаходженням більш великих у центрі комплексу.

Цитохімічно з'ясовано, що у сформованих зародкових мішках пшениці, жита та гібридів ядра всіх клітин виявляють майже однакову за інтенсивністю реакцію на ДНК. За дозрівання зародкових мішків інтенсивність реакції в ядрах усіх клітин, окрім синергід, змінюється: в антиподах вона збільшується, в яйцеклітині — значно зменшується, а у полярних ядрах зникає зовсім, що свідчить про перехід ДНК у активний стан. Виявлення ДНК взагалі залежить від характеру зв'язку її з білками та від рН самих білків, що містяться у ядрі. Якщо ядро спеціалізованої клітини містить велику кількість кислих білків та не фарбується за Фельгеном, то при переході в ембріонально-активний стан кислі білки поступаються місцем основним, і ядро набуває властивості фарбуватися за Фельгеном [5]. У порівнянні з батьківськими формами в клітинах зародкового мішка гібридів другого і третього покоління міститься менше білків та нуклеїнових кислот.

У сформованому зародковому мішку глобули ліпідів у цитоплазмі синергід відсутні, за дозрівання зародкового мішка накопичуються навколо ядер, а потім заповнюють всю цитоплазму. На відміну від батьківських форм, у гібридів другого покоління в період цвітіння синергіди не містять ліпідних включень. В яйцеклітині та центральній клітині ліпіди та білки локалізуються, головним чином, в цитоплазмі, що оточує ядра.

Наслідки каріометричних досліджень свідчать про те, що в чотириядерних ценоцитах жита вже спостерігається помітна різниця між ядрами різних полюсів: ядра халазального полюсу майже вдвічі більші за ядра мікрополярного; це ж стосується і ядерець (табл. 1).

Таблиця 1

Середній об'єм (мкм³) ядер та ядерця чотириядерних ценоцитів жита

Мікропілярний полюс			Халазальний полюс		
Ядро	Ядерце	ЯЯС	Ядро	Ядерце	ЯЯС
Жито					
650 ± 53	44 ± 3	14 ± 2	1546 ± 103	78 ± 4	19 ± 1
Миронівська 808 × Одеське 1, F ₂					
1328 ± 130	145 ± 3	8 ± 1	1365 ± 128	135 ± 5	9 ± 1

Таким чином, процес диференціювання полюсів зародкового мішка у жита починається вже в ценоциті. Щодо ядерно-ядерцевого співвідношення, то його велике цифрове значення свідчить про те, що участь ядер у метаболізмі ценоцита і формуванні рибосом дуже низька.

У гібридів другого покоління в чотириядерних зародкових мішках і мікропілярні, і халазальні ядра та ядерця мають приблизно однакові лінійні розміри та об'єми. Ценоциту пшенично-житніх гібридів F₂ властиві ознаки інтенсивного метаболізму: невисоке значення ЯЯС, великі ядерця.

В клітинах сформованих зародкових мішків батьківських форм середній об'єм ядер та ядерця характеризується значною різноманітністю (табл. 2).

Співвідношення середнього об'єму ядер клітин сформованого зародкового мішка батьківських форм, а саме — яйцеклітина: синергіди: центральна клітина: антиподи для пшениці складає 1 : 0,65 : 2,13 : 0,76, а для жита — 1 : 0,64 : 1,82 : 0,84; що стосується ядерця, то це співвідношення складає 1 : 0,65 : 3,51 : 1,03 та 1 : 0,66 : 2,68 : 1,37 відповідно.

Таким чином, у сформованих зародкових мішках батьківських форм ядра синергід та антипод близькі за розміром і в цілому вони менші за ядро яйцеклітини. В протилежність цьому полярні ядра приблизно вдвічі більші за ядро яйцеклітини; це ж стосується й ядерця (табл. 3).

Таблиця 2

Середній об'єм (мкм³) ядер клітин зародкового мішка пшениці, жита та пшенично-житніх гібридів

Клітини зародкового мішка	Зародковий мішок						
	пшениці		жита		пшенично-житнього гібриду		
	сформований	зрілий	сформований	зрілий	сформований	зрілий	
						F ₃	F ₂
Яйцеклітина	1199±108	3305±305	759±45	1854±105	2431±318	1382±88	2627±203
Синергіда	786±39	1364±177	486±30	682±42	1010±31	1003±42	1161±63
Центральна клітина	2557±251	7845±254	1358±129	5040±393	3494±323	2260±131	6722±415
Антипода	918±128	6258±658	640±116	3819±445	1202±120	1139±67	7069±304

Середній об'єм (мкм³) ядерець клітин зародкового мішка пшениці, жита та пшенично-житніх гібридів

Клітини зародкового мішка	Зародковий мішок						
	пшениці		жита		пшенично-житнього гібриду		
	сформований	зрілий	сформований	зрілий	сформований	зрілий	
						F ₃	F ₂
Яйцеклітина	80±2	241±5	62±3	135±6	168±10	111±2	204±6
Синергіда	132±6	92±3	41±2	56±2	85±2	81±5	58±2
Центральна клітина	281±13	647±25	191±5	399±15	316±13	239±6	600±25
Антипода	83±10	446±6	85±9	275±3	100±10	104±6	643±28

У зрілому зародковому мішку (перед і на протязі цвітіння рослин) різноманітність параметрів була ще більшою, а співвідношення об'єму ядер клітин було іншим, ніж у сформованому. Об'єм ядра синергіди хоч і збільшувався, але у меншому ступені, ніж ядра яйцеклітини, і тому залишався найменшим на протязі всього розвитку зародкового мішка. Середній об'єм полярних ядер, як і в сформованому зародковому мішку, був самим великим, а ядра антипод значно збільшувались, перевершуючи в декілька разів ядра синергід, які у сформованому зародковому мішку мали такі ж об'єми, як і ядра антипод.

Співвідношення об'ємів ядер клітин зрілого зародкового мішка (яйцеклітина : синергіди : центральна клітина : антиподи) було 1 : 0,4 : 2,4 : 1,9 для пшениці і 1 : 0,35 : 2,7 : 2 для жита.

Величина ЯЯС у клітинах (табл. 4) сформованого зародкового мішка була невеликою, що свідчить про їх високу фізіологічну активність. При дозріванні зародкового мішка показник ЯЯС дещо збільшується, залишаючись, проте, відносно низьким у центральній клітині та антиподах і сильно зростаючи у яйцевому апараті, особливо у синергідах.

Під час цвітіння рослин, коли у батьківських форм та гібридів F₃ були зрілі зародкові мішки, у гібридів другого покоління об'єми ядер клітин зародкового мішка залишалися приблизно такими ж, як і в сформованому зародковому мішку. Середній об'єм ядер синергід і антипод у зрілих зародкових мішках був, як і в сформованих зародкових мішках, меншим за середній об'єм ядер яйцеклітин, у той час як у зрілих зародкових мішках батьківських форм і гібридів F₃ ядра антипод були приблизно в два рази більші за ядра яйцеклітини.

Середній об'єм ядерець клітин зародкових мішків усіх досліджуваних форм, як правило, корелював з об'ємом ядер.

**Ядерно-ядерцеве співвідношення в клітинах зародкового мішка
пшениці, жита та пшенично-житніх гібридів**

Клітини зародкового мішка	Зародковий мішок						
	пшениці		жита		пшенично-житнього гібриду		
	сформований	зрілий	сформований	зрілий	сформований	зрілий	
						F ₃	F ₂
Яйцеклітина	9,0±0,4	13,0±1,0	11,0±0,6	13,0±0,6	13,0±2,0	12,0±0,8	12,0±1,0
Синергіда	8,0±0,8	14,0±1,2	11,0±0,7	11,0±0,7	11,0±0,6	12,0±0,7	19,0±2,0
Центральна клітина	8,0±0,8	11,0±0,6	6,0±0,6	12,0±1,1	10,0±1,0	9,0±0,4	10,0±0,4
Антипода	11,0±1,0	15,0±1,2	8,0±0,5	14,0±0,8	11,0±0,8	10,0±0,9	10,0±0,7

Величина ЯЯС у клітинах зрілих зародкових мішків пшениці, жита і пшенично-житніх гібридів наведена у табл. 4. У гібридів, як і у сортів, у сформованому зародковому мішку величина ЯЯС була, як правило, нижчою, ніж у зрілому мішку, що свідчить про більш високу фізіологічну активність його клітин.

У F₂ перед цвітінням рослин величина ЯЯС у клітинах зародкових мішків невелика і взагалі близька до середньої величини цього показника у сформованих зародкових мішках. Це свідчить про те, що розвиток зародкового мішка у гібридів F₂ не продовжується після колосіння рослин; він наче залишається у ювенільному стані, майже не відрізняючись ні за об'ємом ядер, ні за величиною ЯЯС від сформованого зародкового мішка.

Зародковий мішок гібридів третього покоління від схрещування м'якої пшениці з житом за морфологічними, цитохімічними та каріометричними показниками дуже нагадує зародковий мішок материнської форми.

Література

1. Батыгина Т. Б. Эмбриология пшеницы. — Л.: Колос, 1974. — 206 с.
2. Бейліс-Вирова Р. А. История индивидуального развития жита. — Київ: Держсільгоспвидав УРСР, 1962. — 144 с.
3. Бланковська Т. Ф., Трочинська Т. Г. Развитие генеративных структур пшенично-житних гибридов первого поколения // Вісник Одеського національного університету. — 2001. — Т. 6, вип. 1, Біологія. — С.205-208.
4. Виллемсе М. Т. М., Вент Дж. Л. ван. Женский гаметофит // Эмбриология растений: использование в генетике, селекции, биотехнологии: в 2 т. / Под ред. Джори. — М.: Агропромиздат, 1990. — Т. 1. — С. 184-223.
5. Делоне Н. Л., Данилина А. Н. Цитохимические свойства интерфазных ядер клеток с различными физиологическими функциями // ДАН СССР. — 1963. — Т. 151, № 5. — С. 1195-1197.
6. Ивановская Е. В. Цитозембриологическое исследование дифференцировки клеток растений. — М.: Изд-во МГУ, 1983. — 152 с.

7. Модилевский Я. С., Оксюк П. Ф., Худяк М. И., Дзюбенко Л. К., Бейлис-Выврова Ф. А. Цитогамбриология основных хлебных злаков. — Киев: Изд-во АН УССР, 1958. — 336 с.
8. Паламарчук И. А., Веселова Т. Д. Учебное пособие по ботанической гистохимии. — М.: Изд-во МГУ, 1965. — 108 с.
9. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. — Минск: Выш. школа, 1973. — 319 с.
10. Роскин Г. Н., Левинсон Л. Б. Микроскопическая техника. — М.: Сов. наука, 1957. — 468 с.
11. Vollbrecht E., Hake S. Deficiency analysis female gametogenesis in maize // Dev. Genet. — 1995. — V. 16. — P. 44-63.

Бланковская Т. Ф., Трочинская Т. Г.

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

РАЗВИТИЕ ЗАРОДЫШЕВОГО МЕШКА ВТОРОГО И ТРЕТЬЕГО ПОКОЛЕНИЙ ПШЕНИЧНО-РЖАНЫХ ГИБРИДОВ

Резюме

Проведено комплексное исследование развития зародышевого мешка у второго и третьего поколений пшенично-ржаных гибридов и родительских форм. Выявлены морфологические, цитохимические и кариометрические особенности развития зародышевых мешков исследованных межвидовых гибридов.

Ключевые слова: зародышевый мешок, пшенично-ржаные гибриды.

Blankovskaya T. Ph., Trochinskaya T. G.

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

DEVELOPMENT OF EMBRYO SAC OF WHEAT-RYE HYBRIDS OF THE SECOND AND THIRD GENERATIONS

Summary

Complex research of embryo sac development the second and third generations of wheat-rye hybrids and the parental forms has been made. Morphological, cytochemical and kariometrical peculiarities of embrio sac development of inter-species hybrids have been discovered.

Key words: embryo sac, wheat-rye hybrids.