

УДК 581.35.086.

Кириленко Н. А., асп.

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра генетики та молекулярної біології,
вул. Дворянська 2, Одеса, 65026, Україна

МОРФОМЕТРИЧНІ ПАРАМЕТРИ ЗИГОТИ СОНЯШНИКА (*HELIANTHUS ANNUUS* L.)

Проведено вимірювання клітини, ядра та ядерця, визначена величина ядерно-ядерцевих співвідношень (ЯЯС) за дозрівання зиготи у соняшника. Виявлено, що об'єми клітини, ядра та ядерця, а також значення ЯЯС у період дозрівання зиготи коливаються. Досліджувані морфометричні параметри зиготи розглядаються як інтегральні показники функціонального стану цієї клітини за її розвитку.

Ключові слова: зигота, соняшник, морфометрія.

Ембріології соняшника присвячено декілька досліджень [1, 2, 3, 4, 5]. З достатньою повнотою вивчено запилення, запліднення та перші фази розвитку зародка і ендосперму при різних способах запилення. Встановлена тривалість періоду між запиленням та заплідненням. Соняшник є зручним об'єктом для вивчення вказаних процесів, тому що у суцвіттях складноцвітих дозрівання квіток відбувається у радіальному напрямку і одночасно є зав'язі різного віку [6].

Дані щодо змін у розмірах зиготи соняшника в період її дозрівання в літературі відсутні.

У деяких інших рослин зигота в період дозрівання (перед поділом) змінює свої розміри [6, 7, 8, 9, 10]. Вважають, що це пов'язано з необхідністю дедиференціювання яйцеклітини, тобто відновлення меристематичності перед тим, як зигота почне новий розвиток [11]. Літературні дані щодо змін розмірів зиготи суперечливі та неповні. Мета даної роботи — визначення розмірів клітини, ядра та ядерця під час дозрівання зиготи у соняшника.

Матеріали і методи дослідження

Об'єктом дослідження був соняшник сорту Одеський 128. Зав'язі фіксували на протязі 8 годин сумішшю Карнуа через кожну годину, а також через кожні 15 хв протягом перших 90 хв після штучного запилення. Контролем слугували яйцеклітини незаплідених квіток того ж суцвіття, отже всі зав'язі були одного віку і знаходилися на однаковій відстані від центру. Зафіксований матеріал занурювали в парафін за загальноприйнятою методикою [12]. Мікротомні зрізи товщиною 10 мкм фарбували із застосуванням ШИК-реакції на полісахариди [13]. Діаметри клітин, ядер та ядерця виміряли під світловим мікроскопом (об'єктив 40x) за допомогою гвинто-

вого окуляр-мікрометра МОВ-1 — 15х. Об'єми клітин, ядер та ядерць вивраховували за формулою [14]:

$$V = \frac{4}{3} \pi ab^2,$$

де *a* — велика, *b* — мала напіввісі еліпсоїду. Величину ядерно-ядерцьових співвідношень (ЯЯС) розраховували за формулою [15]:

$$V = \frac{V_{\text{ядра}} - V_{\text{ядерця}}}{V_{\text{ядерця}}}$$

Для вимірів брали по 10-15 клітин, ядер і ядерць у кожний строк досліду як до штучного запилення, так і після нього. Отримані дані обробляли варіаційно-статистичним методом [16].

Результати досліджень та їх обговорення

За морфометричних досліджень незаплених зав'язей в день цвітіння, зафіксованих у різні часові терміни, не спостерігали значної зміни розмірів яйцеклітини, її ядра та ядерця (табл. 1).

Отже, істотних коливань морфометричних показників досліджуваних яйцеклітин та їх структурних компонентів безпосередньо перед запиленням не відбувалося.

Вивчення постійних мікротомних препаратів показало, що через 3 - 3,5 години після штучного запилення один спермій вже розчинився в ядрі яйцеклітини (в ній утворилося додаткове ядерце), а в первинному ядрі ендосперму спостерігаються різні фази мітозу. Через 5 - 6 годин зигота ще в мітотичному спокої; в зародковому мішку є 2 - 8 ядер ендосперму. Поділ зиготи відбувається через 8 годин після штучного запилення.

Результати вимірювань зиготи показали, що її середній об'єм коливався (табл. 2), але достовірної різниці з незаплідненою яйцеклітиною не було.

Середній об'єм ядра зиготи (табл. 2) протягом всього періоду її дозрі-

Таблиця 1

Об'єми яйцеклітини, її ядра та ядерця (мкм³), а також величина ЯЯС у соняшника Одеський 128

Час фіксації	Клітина	Ядро	Ядерце	Величина ЯЯС
13 ⁰⁰	6028±466	2116±175	73±5	29±3
13 ³⁰	7575±785	2600±179	72±7	38±5
13 ⁴⁵	7064±394	1995±351	80±7	29±3
14 ²⁰	6986±532	2398±191	77±7	33±4
14 ³⁵	7669±392	2766±204	72±5	40±4
14 ⁵⁰	6785±400	2053±93	58±4	36±
Середнє	7018±491	2321±198	72±6	34±4

Середні об'єми зиготи, її ядра та ядерця (мкм³), а також величина ЯЯС у соняшника Одеський 128

Годин після запилення	Клітина	Ядро	Ядерце			Величина ЯЯС
			яйце-клітини	спермія	сумарний об'єм	
0 (яйце-клітина)	8000±900	1782±219	125±13	—	125±13	14,0±1,5
1	6800±494	2519±251*	65,6±6***	—	65,6±6***	39,0±4,4***
2	7955±718	2563±200*	119±17	—	119±17	23,0±2,9
3	8386±629	2691±269*	74±5**	—	74±5**	37,0±4,4
4	10732±1329	2436±281	139±17	42±2	177±14*	14,0±2,3
5	6760±630	2600±200*	98±4	43±3	142±4	17,0±1,3
6	7315±725	3022±320**	90±7*	42±4	132±7	22,0±2,4*
7	6797±579	2521±399	123±12	50±6	173±11*	14,0±2,7

Примітка: * — $P \leq 0,05$; ** — $P \leq 0,01$; *** — $P \leq 0,001$.

вання був вищий, ніж середній об'єм ядра яйцеклітини. Через 4 та 7 годин після запилення різниця з ядром незаплідненої яйцеклітини була недостовірною.

Наші дослідження показали, що у соняшника ядерця яйцеклітини у зиготі та ядерця спермія (в більшості випадків — два) мали різну величину. Середній об'єм ядерця, що було в яйцеклітині протягом певного періоду дозрівання зиготи (1, 3, 6 годин після запилення) був достовірно меншим за об'єм ядерця незаплідненої яйцеклітини. Лише під кінець спостереження (7 год після запилення) цей об'єм досяг вихідного значення. Достовірних змін об'єму ядерця спермія не спостерігали. Сумарний об'єм ядерця яйцеклітини та спермія на початку періоду дозрівання зиготи був меншим за об'єм ядерця незаплідненої яйцеклітини, а перед самим поділом зиготи — значно зріс ($P \leq 0,02$).

Величина ЯЯС на початку дозрівання зиготи (1 година після запилення) та під кінець його (6 годин після запилення) була значно вищою, ніж у яйцеклітини.

Таким чином, об'єми ядра та ядерця змінюються не завжди синхронно. Це, зокрема, відбивається на величині ЯЯС. Із рис. 1 видно, що у соняшника об'єми клітини, ядра та ядерця в період дозрівання зиготи коливаються. При цьому переважають темпи зміни об'єму ядерця. Таким чином, у зиготі соняшника порівняно з яйцеклітиною збільшується тільки ядро. Його об'єм за дозрівання зиготи майже не змінюється.

Оскільки при фіксації зав'язей з великим інтервалом часу (1 година) не виявили достовірних змін об'ємів клітини, були проведені такі ж дослідження через кожні 15 хв після штучного запилення (табл. 3). З'ясувалося, що через 30, 75 та 90 хв після штучного запилення об'єм зиготи був меншим порівняно з об'ємом незаплідненої яйцеклітини.

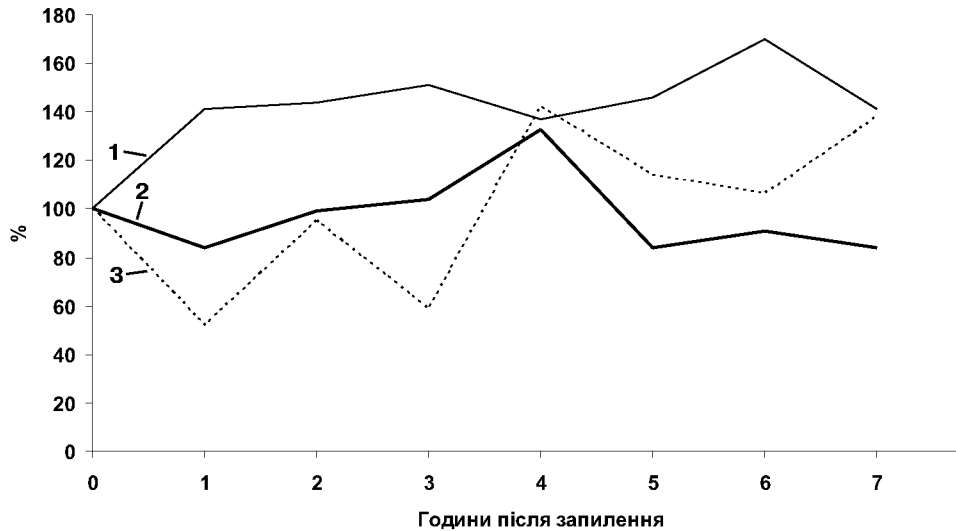


Рис. 1. Відношення (%) об'ємів клітини, ядра і ядерця зиготи до відповідних об'ємів яйцеклітини у соняшника Одеський 128:
1 — ядро; 2 — клітина; 3 — ядерце.

Об'єм ядра протягом першої години періоду дозрівання зиготи фактично не змінювався (табл. 3). Через 75 хв після запилення спостерігали зменшення об'єму ядра, а зразу ж по тому цей об'єм нормалізувався. Останнє, ймовірно, зумовлюється підвищенням функціональної активності та активізацією в клітині специфічних біосинтезів [17]. При всіх змінах розмірів ядра зиготи його об'єм за даних спостережень залишався меншим за об'єм ядра незаплідненої яйцеклітини.

Таблиця 3

Цитометричні показники зиготи у ранні строки її дозрівання

Час після запилення, хв	Об'єм			Величина ЯС
	клітини	ядра	ядерця яйцеклітини	
0	7018±491	2321±198	72±6	34,0±4,0
15	6163±550	2078±538	73±4	24,4±3,3
30	4636±597**	1729±430	70±6	24,8±2,4
45	6240±610	2080±185	80±7	25,7±1,6
60	5953±472	2196±189	86±8	28,5±5,2
75	5501±396*	1600±138**	83±9	29,4±3,3*
90	5607±502*	2043±141	75±8	30,0±3,0

Примітка: * — P≤0,05; ** — P≤0,01; *** — P≤0,001.

Ядерце зиготи за своїм об'ємом достовірно не відрізнялося від ядерця яйцеклітини. Це свідчить про те, що на ранніх етапах дозрівання зиготи не відбувається істотних змін в інтенсивності синтезу рРНК, а, отже, транскрипції і трансляції. Таким чином, для подібних досліджень складноцвітних треба проводити більш дробну темпоральну фіксацію зав'язей.

Визначивши об'єми ядра та ядерця зиготи у ранні строки її дозрівання, ми знову вираховували величину ЯЯС (табл. 3). Ця величина змінювалась у незначних межах порівняно з ЯЯС яйцеклітини. Достовірною різниця була лише через 75 хв після запилення. Ми вважаємо, що, крім об'ємів клітини, ядра та ядерця, величина ЯЯС теж може бути використана як інтегральний показник для характеристики функціонального стану клітини, оскільки ядерно-ядерцеве співвідношення корелює з інтенсивністю синтезу РНК [17].

Література

1. Навашин С. Г. Об оплодотворении у сложноцветных и орхидных (1900) // Избр. тр. — М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1951. — С. 225-235.
2. Венецкая Г. К. Оплодотворение и первые фазы эмбриогенеза у подсолнечника // Изв. АН Арм. ССР. — 1954. — Т. 7, № 12. — С. 7-17.
3. Устинова Е. И. Явление апоспории у подсолнечника // ДАН СССР. — 1955. — Вып. 100, № 6 — С. 1163-1166.
4. Устинова Е. И. Цитозембриологические исследования подсолнечника и кукурузы. — Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — М., 1967. — 36 с.
5. Дзюбенко Л. К. Цитохімічне дослідження жіночої генеративної зони в насінному зачатку соняшника (*Helianthus Z.*) // Укр. бот. ж. — 1959. — Т. 16, № 3. — С. 8-19.
6. Герасимова-Навашина Е. Н. Пыльцевое зерно, гамети и половой процесс у покрытосеменных // Тр. Ботан. ин-та АН ССР, серия 7. — 1951. — Вып. 2. — С. 294-355.
7. Модилевский Я. С., Оксюк П. Ф., Худяк М. И., Дзюбенко Л. К., Бейлис-Выровава Р. А. Цитозембриология основных хлебных злаков. — Киев: Изд-во АН УССР, 1958. — 336 с.
8. Raghavan P., Philip V. Morphological and histochemical changes in the egg and zygote of *Lagerstroemia speciosa*. Cell size, vacuole and insoluble polysaccharides // Planta, Sci. — 1982. — V. 91, № 5. — P.465-472.
9. Schuiz R., Jensen W. A. Capsella embryogenesis: the egg, zygote and young embryo // Amer. J. Bot. — 1968. — V. 55, № 7. — P. 807-819.
10. Satina S., Riestema J. Seed development: The genus. *Datura*. — New York: Roland, 1959. — P. 181-195.
11. Кахидзе Н. Т. Изменение элементов зародышевого мешка у томатов // Изв. АН СССР. Сер. биол. — 1954. — № 1. — С. 74-82.
12. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений. — М.: Колос, 1974. — 288 с.
13. Роскин Г. И., Левинсон Л. Б. Микроскопическая техника. — М.: Советская наука, 1957. — 467 с.
14. Навашин М. С. О значении размера меристематических клеток для роста и развития // Тр. Ботан. ин-та АН СССР. Сер. 7. — 1951. — Вып. 2. — С. 268-293.
15. Зуева Г. В. Влияние условий выращивания на формирование микроспорангия, споро- и гаметогенез пшенично-ржаных амфиплоидов. — Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Свердловск, 1977. — 24 с.
16. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. — Минск: Вышейшая школа, 1973. — 318 с.
17. Хесин Я. Е. Размеры ядер и функциональное состояние клеток. — М.: Медицина, 1967. — 422 с.

Кириленко Н. А.

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

**MORFOMETRICHE SKIE PARAMETRY ZIGOTY PODSOLNECHNIKA
(*HELIANTHUS ANNUUS* L.)**

Резюме

Проведено измерение клетки, ядра и ядрышек, определена величина ядерно-ядрышковых отношений (ЯЯО) в процессе созревания зиготы у подсолнечника. Обнаружено, что объемы клетки, ядра и ядрышек, а также значение ЯЯО в период созревания зиготы колеблются. Исследуемые морфометрические параметры зиготы рассматриваются как интегральные показатели функционального состояния этой клетки при ее развитии.

Ключевые слова: зигота, подсолнечник, морфометрия.

Kirilenko N. A.

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

**MORFOMETRICAL ZYGOTE PARAMETERS OF SUNFLOWER
(*HELIANTHUS ANNUUS* L.)**

Summary

The sizes of cell, nucleus and nucleoli of sunflower zygote during its maturation have been measured; also the value of nucleus-to-nucleoli ratio has been determined. Fluctuation of the cell, its nucleus and nucleoli volumes during the period zygote maturation were detected. The investigated morfometrical parameters of zygote are discussed as integral factors of functional condition of the cell development.

Key words: egg cell, sunflower, morfometry.