



УДК: 633.15:631.527
DOI 10.25230/conf11-2021-11-15

ОТБОР ГЕНЕТИЧЕСКИ МАРКИРОВАННЫХ ЛИНИЙ КУКУРУЗЫ НА СПОСОБНОСТЬ К ПАРТЕНОГЕНЕЗУ

Апанасова С.А.¹, Апанасова Н.В.²

¹ ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ, ² ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского»
soneshka1310@icloud.com, apanasova.natasha@mail.ru

Гаплоиды являются ценным исходным материалом для селекции кукурузы. Однако спонтанная частота их возникновения составляет около 0,01 %. Путём отбора и целенаправленной селекции сотрудниками кафедры генетики и отдела генетики и репродуктивной биологии Саратовского госуниверситета были получены гомозиготные линии, предрасположенные к партеногенезу, автономному эндоспермогенезу, андрогенезу, полиэмбрионии: АТ-1; АТ-3 (АТ- Апомиктичная Тырнова); АПО-3 (Линия полученная от матроклинного гаплоида линии АТ-3). Новые генетически маркированные линии кукурузы АТТМ были созданы на основе линий АТ-1 и ТМ. Оценка частоты гаплоидии проводилась в полевых и лабораторных условиях. Для вновь полученных линий был проведен кариологический и цитозэмбриологический анализ.

Ключевые слова: кукуруза, гаплоид, партеногенез.

Введение: Одной из главных перспектив практического использования апомиксиса является закрепление гетерозиса у гибридов в силу отсутствия у апомиктов расщепления в последующих поколениях. Апомиксис целесообразно использовать и при выращивании ряда клубненосных растений, т.к. семена при апомиксисе сохраняют ту же генетическую структуру, что и клубни. При вегетативном размножении наблюдается явление «старения клонов», заражение вирусами и другими болезнями. Однако при размножении семенами «оздоровление» идет автоматически. С помощью апомиксиса можно предотвратить обмен генами между культивируемыми и дикорастущими видами. В последнее время возникла проблема в связи с получением трансгенных растений. Высказываются опасения, что не исключены крайне нежелательные последствия генетического засорения экосистем. С одной стороны, используемые гены (например, устойчивости к гербицидам) могут приобрести сорняки. С другой, некоторые виды, приобретая новые свойства (например, устойчивость к вредным насекомым), могут вытеснить другие виды ценоза. Поэтому желательно, чтобы трансгенные растения были автономными апомиктами и не имели пыльцы (как источника передачи генов другим видам) [1].



Явление апомиксиса более характерно для дикорастущей флоры, у культурных растений оно встречается достаточно редко. Возможно, это связано с длительной гибридизацией, в результате которой шел отбор на половое размножение.

Особенно важен перевод полиплоидных форм кукурузы на апомиктический способ размножения. Это может привести к увеличению урожайности, однородности сортов и снижению стоимости производства гибридных семян. Одним из перспективных подходов является передача апомиксиса путем гибридизации полиплоидной кукурузы с партеногенетическими линиями, которые могут служить донорами этого признака.

Для работ в области экспериментального апомиксиса представляет интерес создание и всестороннее изучение генетически маркированных партеногенетических линий кукурузы с хорошо выраженными фенотипическими признаками растения и семян. Такие линии были созданы на кафедре генетики СГУ [2; 3].

Целью данной работы явилось изучение возможности проявления партеногенеза у линий кукурузы с маркерными генами.

Материалы и методы. Материалом для работы послужили растения генетически маркированной линии кукурузы АТТМ, имеющая следующие маркерные признаки (гены): *y1* – *yellow endosperm* (желтый эндосперм) – (6 хромосома); *g1* – *golden* (золотистая окраска листьев и стеблей) – (10 хромосома) [4].

Посадка производилась на экспериментальном поле ФГБНУ РОСНИИСК «РОССОРГО». Кукуруза высаживалась по правилам селекционной работы (делянки 4 ряда по 15–20 растений). Перед появлением рылец початки кукурузы помещали под пергаментные изоляторы. На седьмые сутки после появления рылец початки фиксировали в смеси ацетоалкоголя (3 части этилового спирта: 1 часть ледяной уксусной кислоты) [5]. Через месяц после фиксации из початков пинцетом извлекали завязи, которые затем переводили в 70 % спирт для длительного хранения.

Предварительно оценивалась на предрасположенность к гаплоидии и полиэмбрионии морфометрическим методом [6; 7].

Для более детального изучения был использован метод давленных ацетокарминовых препаратов меристемы корня. Данный метод используют для изучения клеточного (митотического) цикла и кариотипа растений.

Для проведения цитозембриологического анализа зародышевых мешков использовали метод ферментативной мацерации с последующей диссекцией семян [8]. Из завязей в капле глицерина с помощью электролитически заточенных вольфрамовых игл под стереоскопическим микроскопом типа МБС-9 выделяли семязачатки, а из них – зародышевые мешки. Выделенные зародышевые мешки переносили на чистое предметное стекло в каплю глицерина и накрывали покровным стеклом. Просмотр препаратов зародышевых мешков проводили на микроскопе «AxioStar Plus» (C. Zeiss, Германия).

Результаты и обсуждение. Линия кукурузы АТТМ с генами *y1*, *g1*; была отобрана для дальнейшего исследования в связи с тем, что эти гены фенотипически хорошо проявляются на самом растении и на его семенах. Кроме того, эта линия дала наибольшее количество гаплоидов в поле; гаплоидов и полиэмбрионов при проращивании зерновок (табл. 1). Способность к партеногенезу можно оценивать по сумме встречаемости проэмбрио и полигаметии.

Всего было исследовано 170 зародышевых мешка линии АТТМ с генами *y1*, *g1*. В результате микроскопического исследования препаратов выделены следующие основные группы зародышевых мешков: 1) типичного строения; 2) с дополнительными яйцеклетками и яйцеклеткоподобными синергидами; 3) с партеногенетическим проэмбрио; 4) с одним центральным ядром (табл. 2).



Таблица 1. Количество гаплоидов и полиэмбрионов среди проростков кукурузы линии АТТМ с рецессивными генами y_1, g_1

Гены	Число проросших зерновок, шт	Число и частоты, %	
		гаплоидии	полиэмбрионии
y_1, g_1	1606	(10) 0,62	(3) 0,19

Таблица 2. Результаты анализа зародышевых мешков линии АТТМ g_1, y_1

гены	Всего зародышевых мешков, шт.	Количество зародышевых мешков, %			
		Норма	Партеногенетические проэмбрио	Две яйцеклетки	Центральное ядро
g_1, y_1	170	94,7	2,3	1,8	1,2

Из исследованных зародышевых мешков линии АТТМ g_1, y_1 – 94,7 % имели нормальное строение (рис. 1). Зародышевые мешки нормального строения по морфологии соответствуют описанию мегagamетафитов кукурузы других исследователей [9–11]. По форме ЗМ, как правило, яйцевидно-удлиненные. В расширенной микропиллярной части расположен яйцевой аппарат, клетки которого имеют грушевидную форму. Яйцеклетка занимает центральное положение. С обеих ее сторон размещены синергиды. Ядро яйцеклетки крупнее ядер синергид и занимает апикальное положение. Крупная вакуоль расположена в базальной части клетки. Ядра синергид, напротив, смещены к микропиллярному концу и почти прилегают к нитчатому аппарату. Их вакуоли локализуются в халазальной части. Ядрышки синергид обычно слабо выражены. В середине центральной клетки, непосредственно под яйцевым аппаратом, находятся два полярных ядра. К суженной халазальной части центральной клетки примыкает антиподальный комплекс. Антиподы после созревания и дифференциации ЗМ продолжают делиться митотически; их число может достигать 30 и более. В части зародышевых мешков присутствовали дополнительные яйцеклетки, которые могли возникнуть в результате деления первичной яйцеклетки вследствие заложения первичной перегородки при митотическом делении. В таких зародышевых мешках отчетливо были видны синергиды типичного строения. В другой части мегagamетофитов наблюдались дополнительные яйцеклетки при полном отсутствии синергид. Можно предположить, что это яйцеклеткоподобные синергиды, имеющие полное морфологическое сходство с яйцеклеткой по расположению и строению ядер. Отмечено развитие партеногенетического проэмбрио. Причем встречались как глобулярные, так и восьмиклеточные проэмбрио. Отсутствие следов проникновения пыльцевой трубки свидетельствует об автономном развитии зародышей. Суммарные проценты партеногенетических проэмбрио и полигаметии составляет – 4,1 %. Это очень большие значения для проявления партеногенеза.

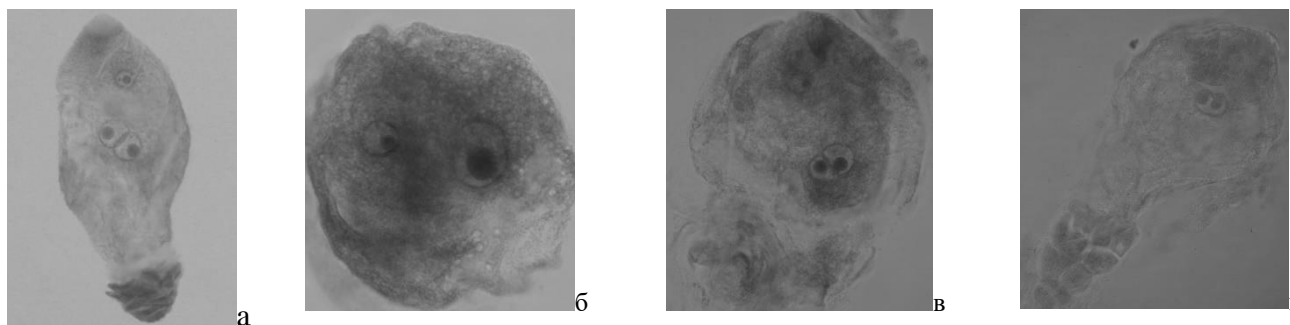


Рисунок 1 – Строение зародышевых мешков кукурузы линии АТТМ g_1, y_1
а – нормального строения; б – слияние полярных ядер; в – две яйцеклетки;
г – партеногенетический проэмбрио.



В число дополнительных признаков мы не включили слившиеся полярные ядра, потому что по данным отдела генетики и репродуктивной биологии СГУ, среди обычных амфимиктичных линий встречаются такие, у которых полярные ядра сливаются и не сливаются до оплодотворения. Насколько слияние связано с партеногенезом пока неясно. Но вместе с тем, линию кукурузы АТТМ с генами $g1$, $y1$ можно отнести к линиям, способным к слиянию полярных ядер.

Заключение. Проведенное исследование показало, что у линии АТТМ с генами $g1$, $y1$; фактор партеногенеза передается в результате гибридизации потомству. Для дальнейших работ в области экспериментального апомиксиса эти линии представляют огромный интерес. Полученные генетически маркированные линии могут быть использованы для локализации факторов партеногенеза, определения гомо- и гетерозиготности апомиктичного потомства, получаемого от гибридов, для облегчения отбора при создании новых партеногенетических линий и выявления гаплоидных и диплоидных матроклиных и андрогенных особей.

Выявленные признаки партеногенеза свидетельствуют о том, что его генетически обусловленные предпосылки могут передаваться потомству при скрещивании партеногенетических и непартеногенетических линий.

Литература

1. Тырнов В.С. Прикладные аспекты гаметофитного апомиксиса // Эмбриология цветковых растений: терминология и концепции. – СПб.: Мир и семья. – 2000 в. – Т. 3. – С. 203–206.
2. Тырнов В.С. Гаплоидия и апомиксис // Репродуктивная биология, генетика и селекция. – Саратов, 2002. – С. 32–46.
3. Turnov V.S. Producing of parthenogenetic form of maize // Maize Genetics Cooperation Newsletter. – 1997. – Vol. 71, № 5. – P. 73–74.
4. Мику В.Е. Генетические исследования кукурузы. – Кишинев: Штиинца, 1981. – 232 с.
5. Юдакова О.И. Методы цитоэмбриологического анализа. – Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1999. – 19 с.
6. Тырнов В.С. Генетическое исследование гаплоидии у кукурузы. – Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1970. – 28 с.
7. Тырнов В.С. Методы диагностики гаплоидов у покрытосеменных растений. – Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2003. – 28 с.
8. Еналеева Н.Х., Тырнов В.С., Хохлов С.С. Выделение зародышевых мешков покрытосеменных растений путем мацерации тканей // Цитология и генетика. – 1972. – Т. 2. – № 5. – С. 439–441.
9. Чеботарь А.А. Эмбриология кукурузы. – Кишинев, 1972. – 384 с.
10. Коробова С.Н. Формирование женского гаметофита, оплодотворение, развитие зародыша и эндосперма кукурузы // Культурная флора СССР. – 1982. – Т. 6. – С. 151–176.
11. Эмбриология зерновых, бобовых и овощебахчевых возделываемых растений / Под ред. М.С. Яковлева. – Кишинёв: Штиинца, 1987. – 225 с.

SELECTION OF GENETICALLY MARKED CORN LINES FOR ABILITY TO PARTHENOGENESIS

Apanasova S.A., Apanasova N.V.

Haploids are the value initial materials in corn breeding. However, spontaneous frequency of their appearance is about 0.01%. Due to selection and task-oriented breeding, researchers of the Genetic Department and the Department of Genetic and Reproductive Biology of the Saratov State



University obtained homozygotic lines predisposed to parthenogenesis, autonomous endospermogenesis, androgenesis, polyembryony: AT-1; AT-3 (AT – Apomictic Tyrnova); APO-3 (line obtained from matriclinous haploid of a line AT-3). We developed new genetically marked corn lines ATTM using lines AT-1 and TM. Estimation of haploidy frequency was conducted in the field and laboratory conditions. There were conducted cytological and cytoembryologic analyses of the newly developed lines.

Key words: corn, haploid, parthenogenesis.