

ГЕНЕТИКА, ЦИТОЛОГИЯ И РЕПРОДУКТИВНАЯ БИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 581.163, 581.331.2

ИЗУЧЕНИЕ РАЗМЕРОВ И МОРФОЛОГИИ ПЫЛЬЦЫ
У КУКУРУЗЫ И *TRIPSACUM DACTYLOIDES* L.

Н.В. Апанасова

*Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского
410012, Саратов, ул. Астраханская, 83; e-mail: apanasovanv@mail.ru*

Исследовались размеры и морфология пыльцы в связи с проблемой партеногенеза у кукурузы и его апомиктичного сородича трипсакума. Установлено, что диагностика партеногенеза у кукурузы и трипсакума по размерам и степени дефектности пыльцы затруднительна или даже невозможна.

Ключевые слова: апомиксис, пыльца, кукуруза, трипсакум.

Пыльца растений является структурой, связанной с размножением. Одновременно пыльца может быть использована для диагностики полиплоидов, гаплоидов (Лобашев, 1967), апомиктов (Хохлов, Зайцева, Куприянов, 1978). Одним из важных критериев, используемых при диагностике системы размножения, является состояние мужской генеративной сферы растения. Предполагается (Куприянов, Жолобова, 1983; Куприянов, 1989), что дефектность пыльцы в ряде случаев связана с апомиксисом, и это может быть использовано при поиске апомиктичных видов. В качестве критерия предлагалось использовать степень дефектности пыльцы (СДП), которую определяют как отношение дефектных пыльцевых зерен к общему числу исследованных. В проведенных исследованиях (Куприянов, 1989) методами вариационной статистики определили границу, разделяющую половые и апомиктичные виды по признаку «качество пыльцы», ко-

торая соответствует 11,7%. В качестве другого критерия в поиске апомиктичных видов предлагается неоднородность пыльцы по размеру (Шишкинская и др., 2004).

Цель работы – установить возможность диагностики партеногенеза у кукурузы и трипсакума, опираясь на вышеизложенные характеристики пыльцы.

Материал и методы

В качестве амфимиктичной линии исследовали линию Тестер Мангельсдорфа (ТМ), имеющую маркерные гены, локализованные во всех десяти хромосомах (Мику, 1981). Эту линию предполагается в дальнейшем использовать для генетического анализа гибридологическим методом. Для сравнения размеров и качества пыльцы использовали линии кукурузы, у которых цитоэмбриологически был установлен партеногенез (Титовец и др., 2002; Апанасова, Тырнов, 2009; Апанасова, Суровцева, 2009), – три семьи партеногенетической линии АПО-3 и три семьи линии АТТМ, полученной при самоопылении гибрида между партеногенетической линией АТ-3 и ТМ. В качестве ближайшего сородича кукурузы использовали растения *Tripsacum dactyloides* ($2n=72$), произрастающие в условиях оранжереи, у которых, согласно проведенному нами цитоэмбриологическому исследованию, количество партеногенетических проэмбрио достигает 90% (Апанасова, неопубл.). Пыльцу фиксировали ацетоалкоголем (3:1). Смесь пыльцы окрашивали ацетокармином, предварительно выдерживая ее в железоаммонийных квасцах. Для каждого варианта анализировали выборку из 1500 пыльцевых зерен. Диаметр пыльцы (по 100 пыльцевых зерен) измеряли с помощью окуляр-микрометра. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Excel для Windows.

Результаты и их обсуждение

У всех исследованных линий кукурузы были выявлены несколько групп пыльцевых зерен (ПЗ), которые можно характеризовать как мелкие, крупные и средние. В большинстве вариантов преобладали пыльцевые зерна среднего размера, а коэффициент вариации не превышал 7,4%, что указывает на однородность пыльцы у исследуемых растений (табл. 1). Пыльцевые зерна мелкого и крупного размеров были единичными. Пыльца у разных линий кукурузы может существенно различаться по размеру. Различие между изученными вариантами составляло до 30%. Установленные различия по размерам пыльцы у линии Тестер Мангельсдорфа и семей линии АПО-3 достаточны для выявления генетических различий в дальнейшем в специальных опытах (рис. 1). Вместе с тем желателен проведение работ по выявлению линий с еще более крупной пыльцой.

Таблица 1. Размеры пыльцы у кукурузы и трипсакума

Объект	Семья	Диаметр ПЗ, мкм			
		$(x \pm m)$	<i>min</i>	<i>max</i>	<i>v</i>
АПО-3	1	122.0±0.79	83	142	6.4
	2	129.0±1.01	94	160	7.8
	3	93.0±0.70	72	118	7.5
АТТМ	1	92.0±0.69	76	121	7.4
	2	92.0±0.59	73	111	6.4
	3	94.0±0.54	51	115	5.7
ТМ		91.0±0.52	63	107	5.2
Трипсакум	2007 г.	57.5±0.38	47.4	71.5	6.3
Трипсакум	2008 г.	51.2±0.43	45.3	78.6	8.4

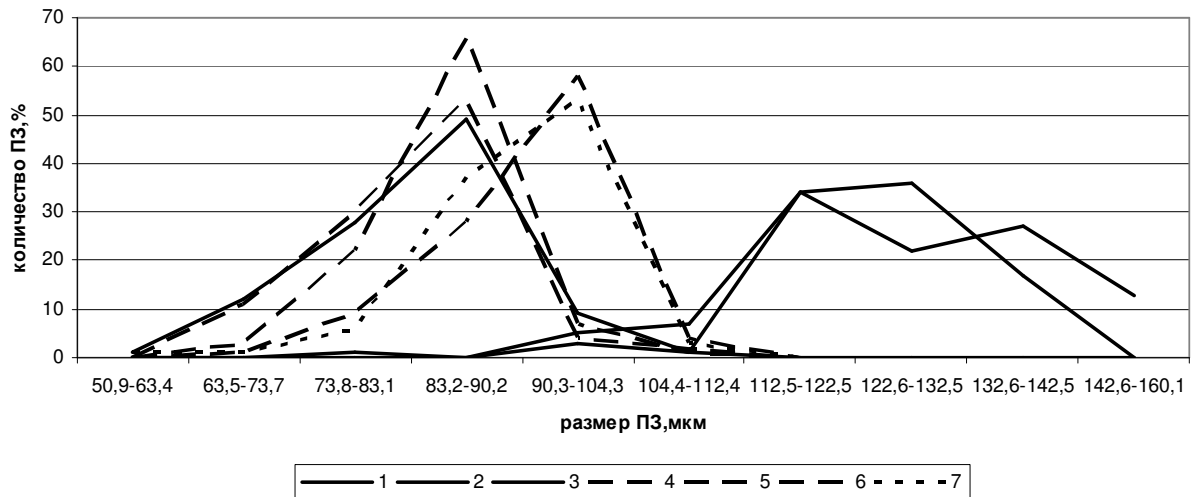


Рис. 1. Распределение пыльцы у линий кукурузы по размерам: 1 – АПО-1; 2 – АПО-2; 3 – АПО-3; 4 – АТТМ-1; 5 – АТТМ-2; 6 – АТТМ-3; 7 – ТМ

У трипсакума (см. табл. 1) визуально были различимы мелкие и крупные пыльцевые зерна. При этом наиболее многочисленную группу составили ПЗ среднего размера, лежащие в пределах 50.1–55.0 мкм в 2007 г. и в пределах 55.1–60.0 мкм в 2008 г. (рис. 2). Различия в размерах пыльцы одного растения в разные годы исследования могли быть связаны с различными внешними условиями.

У исследованных линий кукурузы выявлено несколько классов пыльцевых зерен: нормальные, двуклеточные, плазмолизированные, пустые, с интенсивно прокрашенными тяжами в цитоплазме (табл. 2).

Установлено, что у семей линии АПО-3 большинство аномальных пыльцевых зерен представлено двуклеточными ПЗ с неподелившейся генеративной клеткой. Аномальные пыльцевые зерна встречались как у линий

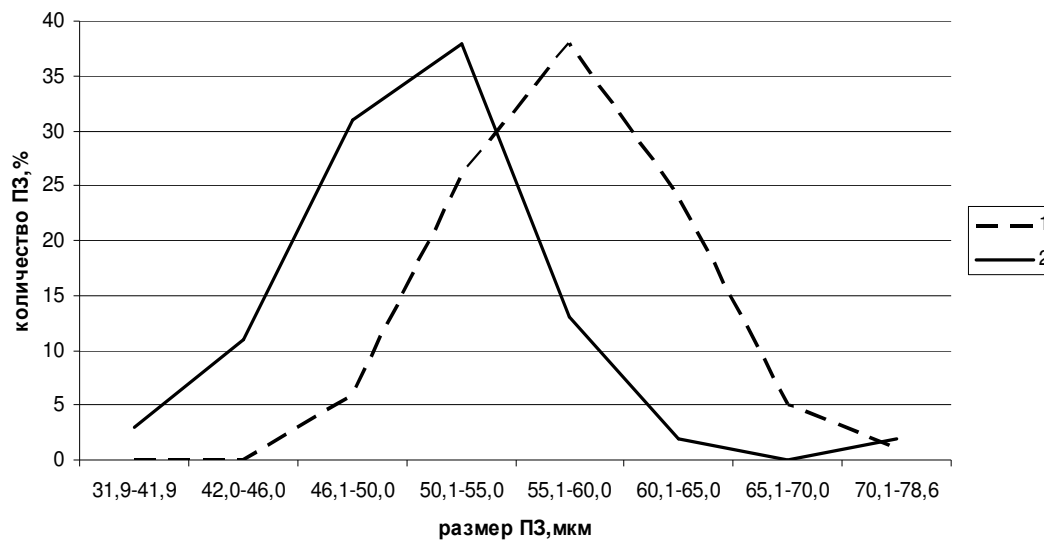


Рис. 2. Распределение пыльцы трипсакума по размерам: 1 – 2007 г.; 2 – 2008 г.

Таблица 2. Встречаемость разных типов пыльцевых зерен у линий кукурузы

Линия	№ семьи	Классы пыльцевых зерен, %				
		нормальные	дву-клеточные	с плазмолизом	пустые	со структурированной цитоплазмой
АПО-3	1	91.11	4.91	1.80	1.70	0.48
	2	95.17	2.97	0.29	0.82	0.75
	3	94.14	2.22	0.76	1.56	1.32
АТТМ	1	98.18	0.12	0.79	0.67	0.24
	2	98.16	0.35	0.75	0.48	0.26
	3	98.32	0.56	0.37	0.56	0.19
ТМ		97.87	0.17	0.69	0.00	1.27

с партеногенезом, так и у амфимиктичной линии Тестер Мангельсдорфа. Степень дефектности пыльцы у изученных вариантов была ниже предложенного значения 11,7%. Таким образом, показатель СДП нельзя использовать как диагностический признак при определении партеногенеза у кукурузы.

У трипсакума были выявлены следующие классы пыльцевых зерен: нормальные, плазмолизованные, с одним спермием, со структурированной цитоплазмой, пустые (табл.3).

Основную группу составили пыльцевые зерна с плазмолизом. Их число в 2007 и 2008 г. значительно различалось. Количество остальных аномалий не превышало 3%. Вероятно, большое количество плазмолизиро-

Таблица 3. Встречаемость разных типов пыльцевых зерен у *Tripsacum dactyloides*

Год	Классы пыльцевых зерен, %				
	нормальные	с плазмолизом	с одним спермием	со структурированной цитоплазмой	пустые
2007	0.02	98.08	0.71	2.63	0.28
2008	49.81	48.90	0.13	0.88	0.38

ванных зерен связано с внешними условиями, так как в период цветения трипсакума (июнь-июль) температура воздуха в оранжерее достигала 60°C.

В результате проведенного исследования установлено, что диагностика партеногенеза у кукурузы и трипсакума по размерам и степени дефектности пыльцы затруднительна или даже невозможна.

Список литературы

- Лобашев М.Е.* Генетика. Л., 1967. 752 с.
- Хохлов С.С., Зайцева М.И., Куприянов П.Г.* Выявление апомиктических растений во флоре СССР. Саратов, 1978. 224 с.
- Куприянов П.Г., Жолобова В.Г.* Уточнение понятий «нормальная и дефектная пыльца» в антморфологическом методе // Апомиксис и цитоэмбриология растений. Саратов, 1983. Вып. 3. С. 47–52.
- Куприянов П.Г.* Диагностика систем семенного размножения в популяциях цветковых растений. Саратов, 1989. 160 с.
- Шишкинская Н.А., Юдакова О.И., Тырнов В.С.* Популяционная эмбриология и апомиксис у злаков. Саратов, 2004. 126 с.
- Мику В.Е.* Генетические исследования кукурузы. Кишинев, 1981. 232 с.
- Титовец В.В., Еналеева Н.Х., Тырнов В.С.* Цитоэмбриологическое проявление элементов апомиксиса у линии АТ-3 // Репродуктивная биология, генетика и селекция. Саратов, 2002. С. 69–74.
- Апанасова Н.В., Тырнов В.С.* Изучение партеногенеза у генетически маркированных линий кукурузы // Инновационные и молекулярно-генетические исследования живых систем: тр. Всерос. конф., посвящ. 10-летию каф. генетики БГПУ им. М. Акмуллы, приуроч. к ежегодным Вавиловским чтениям. Уфа, 23–27 ноября 2009. Уфа, 2009. С. 140–143.
- Апанасова Н.В., Суровцева И.И.* Цитоэмбриологическое доказательство партеногенеза у генетически маркированных линий кукурузы // Исследования молодых ученых в биологии и экологии. Саратов, 2009. С. 10–13.