

- Рубцова З.М.* Эволюционное значение апомиксиса. Л., 1989. 154 с.
Сравнительная эмбриология цветковых. Т. 1–5. Л., 1981–1990.
Тахтаджян А.Л. Система магнолиофитов. Л., 1987. 439 с.
Хохлов С.С., Зайцева М.И., Куприянов П.Г. Выявление апомиктических растений во флоре цветковых растений СССР. Саратов, 1978. 224 с.
Шишкинская Н.А., Юдакова О.И. Новый подход к использованию антоморфологического метода для диагностики апомиксиса у злаков // Бюл. Бот. сада Саратов. гос. ун-та. 2003. Вып. 2. С. 180–187.
Шишкинская Н.А., Юдакова О.И., Тырнов В.С. Популяционная эмбриология и апомиксис у злаков. Саратов, 2005. 148 с.
Asker S.E., Jerling L. Apomixis in plants. Boca Raton, 1992. 298 p.
Bayer R.J., Stebbins G.L. Distribution of sexual and apomictic populations of *Antennaria parlinii* // *Evolution*. 1983. Vol. 37. P. 305–319.
Bierzychudek P. Patterns in plant parthenogenesis // *Experientia*. 1985. Vol. 41. P. 1255–1264.
Carman J.G. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispory, tetraspory and polyembryony // *Biol. J. Linn. Soc.* 1997. Vol. 61. P. 51–94.
Carman J.G. Gametophytic angiosperm apomicts and the occurrence of polyspory and polyembryony among their relatives // *Apomixis Newsletter*. 1995. № 8. P. 39–53.
Fryxell P.A. Mode of reproduction in higher plants // *Bot. Rev.* 1957. Vol. 23. P. 135–233.
Grant V. Plant speciation. N.Y., 1981. 563 p.
Hanna W.W., Bachaw E.C. Apomixis: its identification and use plant breeding // *Crop. Sci.* 1987. Vol. 27, № 6. P. 1136–1139.
Herr J.M. A new clearing squash technique for the study of ovule development in angiosperms // *Amer. J. Bot.* 1971. Vol. 58. P. 785–790.

УДК 581.331.2

ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ПЫЛЬЦЫ У ТЕТРАПЛОИДНОЙ КУКУРУЗЫ

Л.П. Лобанова, А.Ю. Колесова, И.С. Анохина, Н.Л. Долотова

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

Исследованы особенности строения пыльцы у двух тетраплоидных форм кукурузы. Показано, что аномальная пыльца включает выполненные пыльцевые зерна (ПЗ) со структурными изменениями, пыльцу с признаками плазмолиза, а также пустые ПЗ. Структурные изменения в выполненных ПЗ представлены тремя основными типами: изменением числа клеточных элементов, увеличением числа пор и ати-

пичной формой ПЗ. Полученные данные свидетельствуют, что аномалии в строении пыльцы являются, вероятно, в основном следствием полиплоидии, а не партеногенеза.

Ключевые слова: кукуруза, тетраплоиды, пыльца, партеногенез.

Тетраплоиды кукурузы широко используются в селекции. Это связано с проявлением у них ряда селекционно-ценных признаков, таких как увеличение вегетативной массы, повышение урожайности, увеличение размеров початка и метелки, повышение содержания белка, жира, каротиноидов и других веществ. В то же время у полиплоидов могут снижаться уровень фертильности, степень завязываемости и всхожести семян. Цитоэмбриологические исследования тетраплоидных растений позволяют выявить причины снижения фертильности.

В данной работе приводятся результаты исследования пыльцы у тетраплоидной формы кукурузы Краснодарская популяция – 1 (КрП-1) и у полученной на ее основе тетраплоидной формы, склонной к партеногенезу.

Материал и методы

Объектом исследования послужили растения двух тетраплоидных форм кукурузы: КрП-1 и формы со склонностью к партеногенезу, которая была получена в результате скрещивания исходного тетраплоида КрП-1 с партеногенетической линией АТ-1. Полученная форма была представлена в исследовании 4 вариантами (№ 655, № 20, № 15 и № 2), выделенными в ходе 5-летнего отбора растений на повышение частоты партеногенеза. В каждом варианте анализировалось от 1 до 2 тысяч пыльцевых зерен (ПЗ) с 3 растений.

Пыльцу отдельных растений фиксировали ацетоалкоголем (1:3). Окрашивали пыльцу ацетокармином с предварительной обработкой железоммонийными квасцами. Окрашенную пыльцу помещали на предметное стекло в каплю смеси хлоралгидрата с глицерином (1:1) или в каплю 45%-ной уксусной кислоты для осветления цитоплазмы. Анализ препаратов проводили на микроскопе «Primo Star» при увеличении 10×40 или 10×63. Фотографирование проводили на микроскопе «Axiostar-plus» с помощью цифрового фотоаппарата «Canon AC» и программы визуализации «Zoombrowser».

Результаты и их обсуждение

Анализ пыльцы всех вариантов показал, что большая часть ПЗ имела нормальное строение. Морфологически нормальная пыльца интенсивно окрашена, имеет шаровидную форму и содержит одну пору. ПЗ трехкле-

точные с одной вегетативной клеткой и двумя спермиями. Спермии достаточно крупные, удлинённой формы. Частота образования нормальной пыльцы в изученных вариантах варьировала от 60 до 84,0%.

Аномальная пыльца была представлена выполненными ПЗ со структурными изменениями, пыльцой с признаками плазмолиза, а также пустыми ПЗ. Дефектность пыльцы, вероятно, связана с нарушениями в микроспоро- и микрогаметогенезе, свойственными для тетраплоидных растений кукурузы (Семенов и др., 1969; Чеботарь, 1972; Хаджинов, Щербак, 1974). В результате аномального мейоза формируются несбалансированные по числу хромосом микроспоры, которые дегенерируют на разных стадиях.

Наибольший интерес представляют структурные изменения в выполненных ПЗ. Во всех вариантах они представлены тремя основными типами: изменением числа клеточных элементов, увеличением числа пор и атипичной формой ПЗ.

Однако в разных вариантах доминируют разные типы аномалий (рис. 1). Наибольшее количество аномальной по строению пыльцы встречается в вариантах № 655 и № 2. Но если в варианте № 655 почти вся аномальная пыльца представлена пыльцой с дополнительными порами, то в варианте № 2 – пыльцой с изменением клеточных элементов и с аномальной формой.

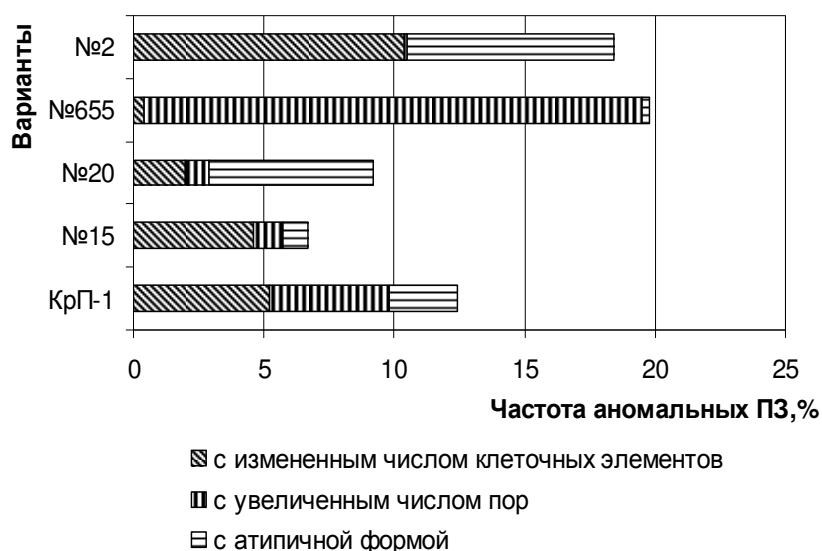


Рис. 1. Частота структурных изменений в выполненных пыльцевых зернах

В группу с измененным числом клеточных элементов были отнесены ПЗ с незавершенным развитием (одно- и двудерные) и с дополнительными клетками и ядрами (табл. 1).

**Таблица 1. Результаты анализа выполненной пыльцы
у апомиктичных тетраплоидных растений**

Вариант	ПЗ нормального строения, %	Количество аномальных ПЗ, %							
		всего аномальных	1-ядерных	2-ядерных с 2 ВЯ*	3-ядерных с 3ВЯ	с 2 ВЯ и 2 СП**	с 1ВЯ и 3–4 СП	овальной формы с 2–3 порами	с атипичной формой
КрП-1	87,45	12,55	1,25	1,05	0,75	1,16	1,10	4,64	2,60
№ 15	93,34	6,66	1,56	0,58	-	1,27	1,29	1,13	0,98
№ 20	90,82	9,18	0,82	0,42	-	0,42	0,42	0,85	6,25
№ 655	80,16	19,84	0,28	-	-	0,14	-	19,14	0,28
№ 2	81,60	18,40	2,55	6,73	0,14	0,43	0,57	0,14	7,85

Примечание: * ВЯ – вегетативное ядро; ** СП – спермии.

Одноядерные и двухъядерные пыльцевые зерна были обнаружены во всех исследованных вариантах. Образовывались они в результате полного или частичного подавления митотических делений в микрогаметогенезе. При формировании двухъядерной пыльцы остановка развития могла произойти на различных этапах дифференцировки образовавшихся после первого митоза ядер. При отсутствии цитокинеза двухъядерные ПЗ были представлены одной клеткой с двумя ядрами вегетативного типа, а при его наличии – двумя недифференцированными одноядерными клетками. У формы КрП-1 и варианта № 2 обнаружены единичные ПЗ с тремя ядрами вегетативного типа, что также указывает на нарушение процессов ядерной и клеточной дифференцировки.

Во всех вариантах отмечено образование пыльцы с дополнительными клеточными элементами. Были обнаружены ПЗ с дополнительными вегетативными ядрами и, за исключением варианта №655, дополнительными спермиями (табл. 1). Вся пыльца с двумя вегетативными ядрами содержала по два спермия. Следует отметить, что сами вегетативные ядра часто были неравноценными. Они могли быть одинаковыми или различаться по величине, располагаться рядом или на значительном расстоянии. Этот факт, а также наличие пыльцы с микроядрами указывают не только на возможность дополнительных митозов на стадии микрогаметогенеза, но и на аномальное прохождение митозов.

Анализ ПЗ показал, что во всех вариантах присутствует пыльца с нормальным клеточным строением, но с увеличенным числом пор (см. табл. 1, рис. 1). Такой тип структурных изменений в основном доминировал в варианте 655. Число пор обычно равнялось двум-трем. В единичных слу-

чаях встречалась четырехпоровая пыльца, а у формы КрП-1 было обнаружено ПЗ с шестью порами. Предполагается, что многопоровость пыльцы может быть обусловлена полиплоидной природой растений (Поддубная-Арнольди, 1976).

В разных вариантах с частотой от 0,3 до 7,9% выполненной пыльцы было представлено крупными ПЗ неправильной формы (см. табл. 1). Среди них встречались овальные, каплевидные, гантелевидные ПЗ, а также структуры более сложной формы (рис. 2). Их морфологическое разнообразие было максимальным в варианте № 20.

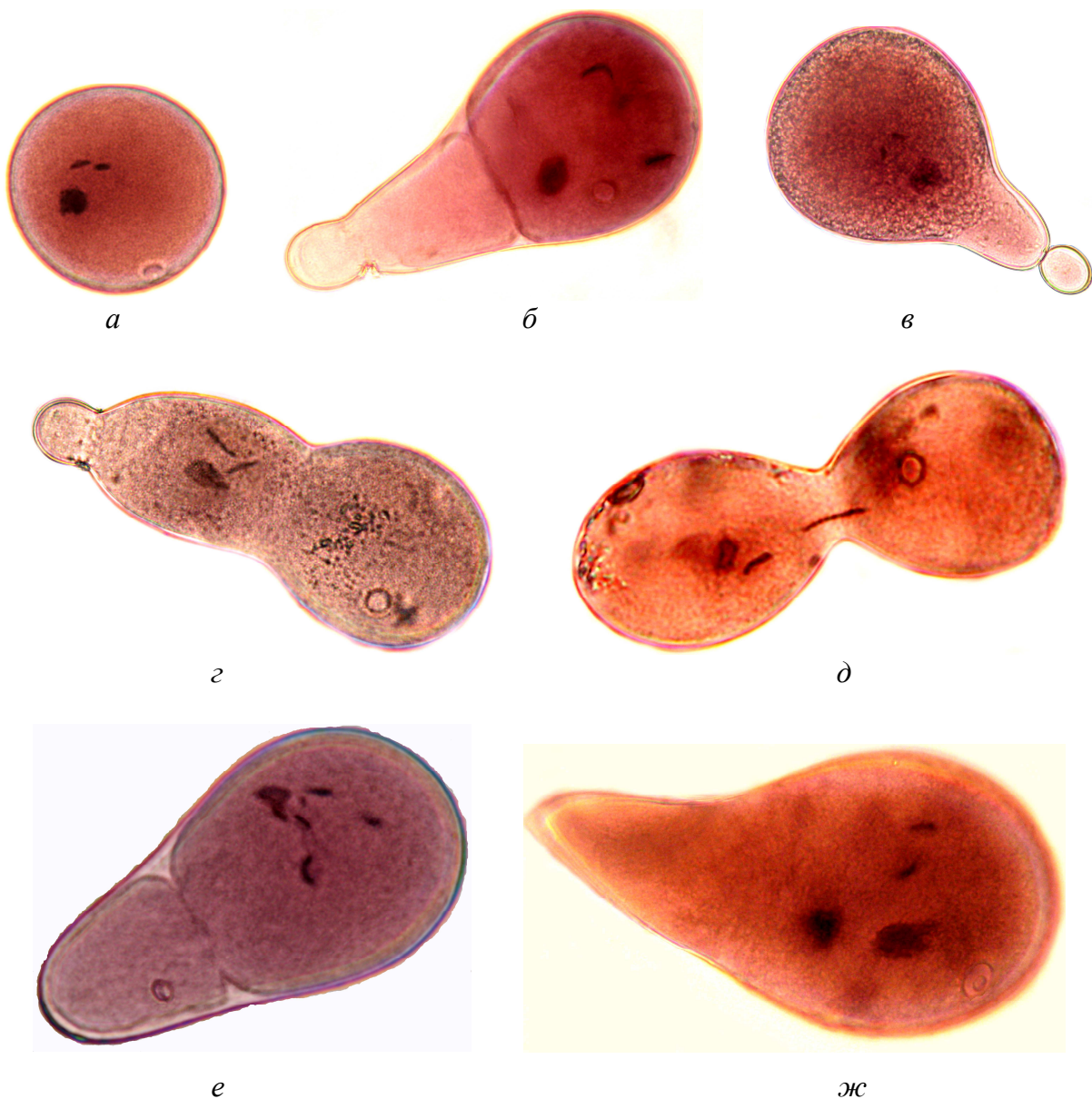


Рис. 2. Пыльцевые зерна с нормальной (а) и атипичной формой: б, в, з, д – с одним вегетативным ядром и двумя спермиями; е – четырьмя спермиями; ж – двумя вегетативными ядрами. Увеличение $\times 400$

ПЗ атипичной формы обычно содержали одно вегетативное ядро и два спермия (табл. 2). Однако среди них встречалась пыльца с остановкой развития на одно- или двухъядерной стадии, а также с дополнительными вегетативными ядрами и спермиями. Частота такой пыльцы была невелика и вовсе не обнаружена в вариантах № 655 и № 2. В варианте № 20 были зарегистрированы ПЗ атипичной формы с увеличенным числом спермиев (рис. 2, е). Такие ПЗ могли содержать одно или два вегетативных ядра.

Таблица 2. Соотношение пыльцевых зерен с атипичной формой

Вариант	Количество ПЗ, %						
	всего	1 ВЯ, 2 СП		2 ВЯ	1ВЯ	2ВЯ, 2СП	1–2 ВЯ, 3–4 СП
		1-поровых	2–4-поровых				
КрП-1	2,6	0,3	1,5	-	0,5	0,3	-
№ 15	1,0	0,4	0,2	-	0,2	0,2	-
№ 20	6,2	3,8	0,2	0,2	1,8	-	0,2
№ 655	0,3	0,3	-	-	-	-	-
№ 2	7,9	7,4	-	0,5	-	-	-

В пыльце с атипичной формой нередко просматривалась «перетяжка» цитоплазмы (см. рис. 2, б, е) и они могли иметь 2–3 поры (см. рис. 2, д). Число клеточных элементов при этом могло соответствовать норме или быть увеличенным.

Наиболее вероятной причиной образования пыльцы с атипичной формой является полное или частичное отсутствие клеточных перегородок в микроспорогенезе, а также нарушения в процессе образования экзины и формирования апертур. Такие ПЗ представляют несомненный интерес, так как ранее они не были описаны у кукурузы.

Таким образом, проведенное исследование качества пыльцы у тетраплоидных форм кукурузы разного происхождения обнаружило достаточно широкий спектр отклонений в развитии пыльцы. Каких-либо специфических отклонений в вариантах со склонностью к партеногенетическому развитию зародыша не выявлено. Обнаруженные аномалии в строении пыльцы являются, вероятно, следствием полиплоидии. Различия в частотах проявления определенных типов аномалий между 4-мя партеногенетическими вариантами и формой КрП-1 свидетельствуют, что некоторые признаки строения ПЗ, возможно, могут подвергаться отбору и с повышенной частотой встречаться у разных форм.

Список литературы

Поддубная-Арнольди В.А. Цитозэмбриология покрытосеменных растений. М.: Наука, 1976. 507 с.

Семенов В.И., Семенова Е.В., Капицына Л.Ф. Изучение характера конъюгации хромосом и анеуплоидии в связи с плодовитостью автотетраплоидной кукурузы // Генетика. 1969. Т. 5, № 10. С. 67–83.

Хаджинов М.И., Щербак В.С. Полиплоидия у кукурузы // Теоретические и практические проблемы полиплоидии. М.: Наука, 1974. С. 27–41.

Чеботарь А.А. Эмбриология кукурузы. Кишинев: Штиинца, 1972. 384 с.

УДК 633.15-035.67:615.918

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ, КАНЦЕРОГЕННАЯ И МУТАГЕННАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ АНТОЦИАНОВОЙ ФОРМЫ КУКУРУЗЫ КАК ИСТОЧНИКА КРАСНОГО КРАСИТЕЛЯ

Н.В. Полуконова, И.А. Фёдорова, А.В. Гопиенко*, В.С. Тырнов*

Саратовский государственный медицинский университет

им. В.И. Разумовского

410012, Саратов, ул. Б. Казачья, 112; e-mail: ecoton@rambler.ru

** Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского
410012, Саратов, ул. Астраханская, 83*

Проведена оценка токсикологической, канцеро- и мутагенной безопасности фармакологической композиции сырья антоциановой формы кукурузы *Zea mays* L. для ее дальнейшего внедрения в пищевую и фармацевтическую промышленность. Токсическая оценка проведена на личинках двукрылых насекомых – хирономидах (*Chironomus plumosus*), оценка канцерогенности – на рыбах *Danio rerio*, оценка мутагенности – на мушках *Drosophila melanogaster*. Установлено, что вытяжка сырья кукурузы, приготовленная с целью ее использования как антоцианового красителя, не обладает токсичностью, канцеро- и мутагенной активностью.

Ключевые слова: антоциановая кукуруза, оценка токсической, канцеро- и мутагенной безопасности, *Chironomus plumosus*, *Danio rerio*, *Drosophila melanogaster*.

Антоциановые формы кукурузы *Zea mays* L. представляют большой интерес в плане поиска принципиально нового источника красного красителя для фармацевтической и пищевой промышленности. В результате проведенного ранее фитохимического анализа водно-спиртового экстракта антоциановой формы кукурузы установлено (Купчак, 1998; Полуконова и др., 2010), что сырье исследуемого растения содержит девять фенольных