

Сравнительная эмбриология цветковых. *Davidiaceae – Asteraceae* / Отв. ред. Т.Б. Батыгина, М.С. Яковлев. Л., 1987. 392 с.

Хохлов С.С. Эволюционно-генетические проблемы апомиксиса у покрытосеменных растений // Апомиксис и селекция. М., 1970. С. 7–21.

Хохлов С.С., Зайцева М.И., Курдюков П.Г. Выявление апомиктических растений во флоре цветковых растений СССР. Саратов, 1978. 224 с.

Chiarugi A. Aposporia e apogamia in *Artemisia nitida* Bertol. // *Nuovo Giorn. Bot. Ital., Nuova Ser.* 1926. Vol. 33. P. 501–626.

Carman J.G. Gametophytic angiosperm apomicts and the occurrence of polyploidy and polyembryony among their relatives // *Apomixis Newsletter.* 1995. № 8. P. 39–53.

Carman J.G. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispority, tetraspority and polyembryony // *Biol. J. Linn. Soc.* 1997. Vol. 61. P. 51–94.

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 581.165.1

ПРОЯВЛЕНИЕ ПАРТЕНОГЕНЕЗА У ГЕНЕТИЧЕСКИ МАРКИРОВАННЫХ ЛИНИЙ КУКУРУЗЫ

Ю.В. Смолькина, Н.В. Апанасова

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

После получения партеногенетических линий кукурузы (Тырнов, Еналеева, 1983; Тырнов, 2002; Тугнов, 1997) было показано, что способность к партеногенезу может быть передана потомству путем скрещивания через яйцеклетку и пыльцу (Тырнов, 2002). Для дальнейших работ в области экспериментального апомиксиса представляет интерес создание генетически маркированных партеногенетических линий, имеющих хорошо выраженные фенотипические признаки растения и семян, определяемых генами, локализованными в известных хромосомах. Такие линии необходимы для локализации факторов партеногенеза, определения гомо- или гетерозиготности апомиктического потомства, получаемого от гибридов, для облегчения отбора при создании новых партеногенетических линий и выявления гаплоидных и диплоидных матроклиных и андрогенных особей.

В данной работе дается оценка проявления партеногенеза у форм, имеющих легко выявляемые признаки – белую окраску зерновок и коричневую среднюю жилку листьев.

Материал и методика

Исходной партеногенетической линией была АТ-3. Она имеет желтые зерновки; жилки листьев обычные, зеленые. В качестве формы с альтернативными рецессивными признаками использовалась линия Тестер Мангельсдорфа (ТМ). Тестер Мангельсдорфа имеет белые зерновки. Их окраска контролируется рецессивным геном *y1*, локализованным в хромосоме 6. Растения линии ТМ также имеют коричневые средние жилки, определяемые геном *bm2*, локализованным в хромосоме 1.

Новая партеногенетическая линия, имеющая гены *y1* и *bm2*, выявлялась в потомстве гибрида АТ-3 × ТМ. Для отбора использовались как свободно опыленные, так и изолированные пергаментными изоляторами початки, которые опылялись Зародышевым маркером, имеющим гены *R-nj:cudu* и *gl*.

Доминантный ген *R-nj:cudu* определяет пурпурную окраску зародыша, что позволяет выявлять среди гибридного потомства гаплоидные и диплоидные апомикты; рецессивный ген *gl* позволяет одновременно с матроклинными выявлять андрогенные растения.

Помимо оценки предрасположенности к партеногенезу по возникновению растений матроклинного типа на заключительном этапе отбора проводился цитозембриологический анализ зародышевых мешков. Предварительно изолированные початки фиксировались в ацетоалкоголе (1:3) на 5–6-е сутки после появления первых рылец. Зародышевые мешки извлекались иглами после ферментативной мацерации. Оценка партеногенеза сделана на основе микроскопического анализа 200 зародышевых мешков.

Результаты и их обсуждение

Схема создания новых линий включала следующие этапы:

- 1) получение гибрида F_1 АТ-3 × ТМ;
- 2) самоопыление гибрида и отбор зерновок белого цвета;
- 3) посев белых зерновок в поле, выявление растений, имеющих коричневую жилку и их самоопыление.

В дальнейшем отбор велся по важнейшим агрономическим признакам (скороспелость, неполегаемость, устойчивость к различным неблагоприятным факторам, двухпочатковость и др.). Одновременно велся отбор на способность к партеногенезу. Последнее осуществлялось путем отбора отдельных семей и среди них отдельных початков. При этом использовались разные подходы. Основными из них были следующие.

1. Опыление второго початка Зародышевым маркером и самоопыление первого початка. Если на втором початке возникало несколько гаплоидов, или диплоиды материнского типа, или полиэмбрионы, то зерновки первого початка высевались на следующий год в поле для дальнейшего отбора. Обычно потомство вторых початков анализировалось в зимнее время и поэтому выявляемые партеногенетические индивидуумы для дальнейшего отбора не использовались. Этот подход интересен тем, что он одновременно автоматически ведет к отбору на двухпочатковость.

2. В дальнейшем потомство отобранных початков оценивалось в поле. На каждой опытной делянке обычно росло 60–80 растений. Нередко на таких делянках среди диплоидов встречались от 1 до 4–6 гаплоидов. Поскольку на каждой делянке росло потомство с одного початка, такие варианты рассматривали как перспективные семьи. Выживаемость гаплоидов в полевых условиях свидетельствовала о хорошем генотипе этого материала.

3. Перспективные семьи опылялись Зародышевым маркером. Среди полученных зерновок выявлялись гаплоиды. Гаплоиды опылялись пылью матроклинных диплоидов или диплоидных близнецов, или просто хороших диплоидов данной семьи. Как правило, на гаплоидах завязывается от 1 до более десятка нормальных диплоидов. Таким образом достаточно несложно получить более сотни зерновок, носителей факторов партеногенеза, или, по крайней мере, значительно обогащенными ими.

4. На последних стадиях отбора можно использовать свободно опыленные початки, поскольку для воспроизводства принудительно опыляются лишь некоторые из них и всегда имеется большое количество зерновок, которые можно использовать для дополнительного анализа. Выявление гаплоидов и близнецов среди них позволяет оценивать семью на предрасположенность к партеногенезу. Гаплоиды в этих опытах выявляются морфометрическим методом (Тырнов, 1969, 2003).

Одна из семей на последних этапах отбора характеризовалась следующими показателями. (Ниже приводятся год, число зерновок и процент гаплоидии и полиэмбрионии).

2004 г.	1500	–	7,1	–	2,4
2005 г.	1240	–	6,4	–	3,7
2006 г.	1136	–	5,6	–	3,1

Среди полиэмбрионов встречались следующие типы близнецов: $n - n$, $2n - n$, $2n - 2n$. Такой цитологический тип полиэмбрионии свойствен исходной линии АТ-3.

В свободно опыленном потомстве 2006 г. процент гаплоидии составил 0,2% , а полиэмбрионии – 1,4%. Более низкие показатели частот не означают снижения эффективности отбора. Известно, что с увеличением возраста завязей частоты встречаемости гаплоидии и полиэмбрионии значительно увеличиваются. Поскольку при свободном опылении (без изоляции) рыльца опыляются сразу же по мере их появления, то зародышевые мешки будут «молодыми» и многие яйцеклетки еще не успеют выйти из состояния покоя.

Цитозембриологический анализ показал следующее. (Ниже приводится процент встречаемости признаков зародышевых мешков, имеющих непосредственное отношение к партеногенезу.)

Две яйцеклетки	4,8
Яйцеклетка + проэмбрио	0,5
Один автономный проэмбрио	5,5
Два автономных проэмбрио	0,5
Три автономных проэмбрио	1,0
Дополнительные клетки + проэмбрио	1,5

В целом отмечена очень высокая встречаемость автономных проэмбрио, возникших без опыления (9%). Высокая частота полигаметии (4,8%) также свойственна линии АТ-3 и также служит дополнительным признаком предрасположенности к партеногенезу. Таким образом, можно считать, что создан партеногенетический аналог линии АТ-3 с генами *yl* и *bt2*.

Библиографический список

- Тырнов В.С.* О возможности визуальной диагностики гаплоидов кукурузы среди проростков // Науч. докл. высшей школы. Биол. науки. 1969. Т.7. С.111–114.
- Тырнов В.С.* Гаплоидия и апомиксис // Репродуктивная биология, генетика и селекция. Саратов, 2002. С. 32–46.
- Тырнов В.С.* Методы диагностики гаплоидов у покрытосеменных растений: Учеб.-метод. пособие. Саратов, 2003. 28 с.
- Тырнов В.С., Еналеева Н.Х.* Автономное развитие зародыша и эндосперма у кукурузы // Докл. АН СССР. 1983. Т. 272, № 3. С. 722–725.
- Tyrnov V.S.* Producing of parthenogenetic form of maize // Maize Genetics Cooperation. Newsletter. 1997. Vol. 71. P. 73–74.