

ГЕНЕТИКА, ЦИТОЛОГИЯ И РЕПРОДУКТИВНАЯ БИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 581.16 +575.42

ЗНАЧЕНИЕ ВЕЛИЧИНЫ ВЫБОРКИ СЕМЯН ПРИ ОТБОРЕ НА ПОЛИЭМБРИОНИЮ У КУКУРУЗЫ И ПШЕНИЦЫ

В.С. Тырнов, Ю. В. Смолькина, Н.Г. Геворгян

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов

Полиэмбриония - явление возникновения более одного зародыша в одном семени, представляет интерес по разным причинам. Она может быть связана с разными эмбриологическими предпосылками, гетероплоидией, половыми и неполовыми системами размножения (апомиксисом, партеногенезом, андрогенезом, гаплоидией) (Поддубная-Арнольди, 1976; Хохлов и др., 1976; Лакшманан, Амбегаокар, 1990; Maheshwari, 1963). Все эти явления обычно трудны для диагностики и поэтому полиэмбриония, как коррелятивный и наиболее простой, легко доступный для анализа признак, может быть своего рода маркером при их выявлении и отборе. Кроме того, за счёт увеличения числа зародышей не исключена возможность снижения нормы высева семян, повышения их пищевых качеств, увеличения продуктивности зелёной массы (Селиванов, 1983).

Семена разных видов, популяций одного вида, а также разных сортов и линий возделываемых культур могут сильно различаться по склонности к полиэмбрионии. В большинстве случаев её частоты лежат в пределах десятых и сотых долей процента, в том числе и у исследуемых нами видов (Хохлов и др., 1976; Зайкина, 1978; Цветова, 1971). Однако их можно увеличить путём отбора в потомстве близнецовых растений (Хохлов и др., 1976; Селиванов, 1983).

Отбор обычно связан с проращиванием большого количества семян десятков, сотен, а иногда и тысяч различных образцов популяций, сортов или линий. Напротив, после первичного отбора потомство второго и даже третьего поколения единичных отобранных растений, в зависимости от их семенной продуктивности, может быть представлено очень небольшим количеством семян. Поэтому мы, на основе конкретных экспериментов, попытались определить, какое минимальное количество семян необходимо прорастить на самых первых этапах отбора, чтобы сделать заключение о предрасположенности исходной формы к полиэмбрионии, и какое количество семян необходимо иметь для получения достаточного количества полиэмбрионных семян при дальнейшей работе.

Материал и методы

В качестве исходного материала мы использовали различные линии кукурузы и сорта мягкой яровой пшеницы. Из них лишь у двух линий кукурузы АТ-1 и АТ-3 с генетически обусловленной способностью к партеногенезу была известна высокая предрасположенность и к полиэмбрионии, достигающая нескольких процентов (Смолькина, 2002). Все линии кукурузы были созданы в Отделе генетики и репродуктивной биологии СГУ. Сорта пшеницы мы ежегодно получали из НИИСХ Юго-Востока (г. Саратов).

Весь семенной материал пшеницы был разделён на отдельные партии по 3000 зерновок, которые проращивались одновременно или в разное время. Аналогичная работа проводилась с частью линий кукурузы. Однако у линий АТ-1 и АТ-3, из-за их высокой предрасположенности к полиэмбрионии, использовались партии зерновок состоящие из 500 зерновок.

Зерновки проращивались в эмалированных кюветах на влажной фильтровальной бумаге и полиэмбрионные зерновки отбирались на стадии coleoptилей, имеющих размеры 2 – 4 см.

Результаты и обсуждение

В таблицах 1 и 2 приводятся данные по числу полиэмбрионных зерновок, найденных в каждой партии. Поскольку определённая часть зерновок (в основном в пределах 5 -10%) не проросла, то средние частоты рассчитывались не на их общую сумму, а на конкретное число проростков. В графах «Частоты полиэмбрионии» приведены соотношения всех полиэмбрионов к общему числу проростков за все годы, число проростков, на которое приходится 1 зерновка с близнецами и процент полиэмбрионии.

Таблица 1.

Встречаемость полиэмбрионных зерновок у линий кукурузы среди отдельных партий зерновок

Линия	Год	Количество полиэмбрионных зерновок, шт.	Частоты полиэмбрионии
СК-1	2000	0, 1, 1, 1	10: 43476
	2001	0, 0, 0, 2	1: 4348
	2002	0, 0, 0, 3	0,02%
	2003	0, 0, 1, 1	
ПТ-1	2000	0, 0, 2, 3	15: 29830
	2001	0, 0, 0, 4	1: 1989
	2002	0, 1, 1, 4	0,05%
АТ-3	2002	1, 1, 2, 2, 3, 3, 4, 5, 5, 9	67: 11031
	2003	1, 1, 2, 3, 4, 6	1: 165
	2004	1, 1, 1, 2, 4, 7	0,6%
АТ-1	2001	5, 7, 8, 12	107: 4967
	2002	3, 9, 11, 13	1: 46
	2003	3, 10, 12, 14	2,6%

Показатель частоты полиэмбрионии, выраженный в единице к числу проростков, приводится в связи с удобством его использования при практической работе, поскольку он сразу позволяет определить количество семенного материала, необходимого для получения желаемого количества зерновок с близнецами. Этот показатель иногда более нагляден, чем десятые и сотые доли процента.

Для линий кукурузы, у которых частоты полиэмбрионии низкие, лежащие в пределах 0,02 – 0,05%, отмечено 50 и более процентов случаев отсутствия близнецов в партиях семян по 3000 штук. Вместе с тем, в отдельных партиях встречались 2 – 4 полиэмбрионные зерновки. Это связано со случайным распределением последних при разделении общей суммы семян на отдельные более мелкие варианты, и в зависимости от того, какая партия будет проращена, могут быть допущены ошибки в заключениях о высокой или низкой склонности к полиэмбрионии исходного материала.

При частотах полиэмбрионии 0,02 – 0,05% минимальная партия семян, вероятно, не может быть менее 10000.

Иная ситуация наблюдается у линий, которым свойственна более высокая частота полиэмбрионии (0,6 – 2,6%). У них, несмотря на то, что минимальная партия семян содержала всего 500 зерновок, не было ни одного «нулевого» варианта из 34. Однако, размах изменчивости по встречаемости полиэмбрионных зерновок лежал в пределах 1 – 9 (для АТ-3) и 3 – 14 (для АТ-1), что соответствует частотам 0,2 – 2,8 процентов, то есть различия могут быть больше одного порядка. Это может вести к некоторым затруднениям при выборе вариантов для дальнейшего отбора и увеличению объёма работ. Вероятно, более надёжную оценку, приближающуюся к истинной средней можно получить при использовании трёх – пяти тысяч семян.

Мы также попытались получить ориентировочные данные при дроблении 600 зерновок на 3 партии по 200 (для линии АТ-3). В двух повторностях выявилось по одному «нулевому» варианту. Таким образом, при первичном отборе, опираясь лишь на показатель «присутствие – отсутствие признака» и выбранном уровне частот полиэмбрионии от 0,5% и несколько выше, можно ограничиться выборкой, включающей около 500 зерновок.

Сходные закономерности были выявлены также и у пшеницы. У сорта Саратовская 64, при средней частоте полиэмбрионии около 0,2 %, среди 51-й партии по 3000 зерновок не было ни одного нулевого варианта; даже доля единичных случаев полиэмбрионии (6 из 51) достигает всего лишь около 12%. В то же время, относительно высокая встречаемость полиэмбрионии (5 – 10 на одну партию) наблюдалась в более 50 процентов случаев. В остальных партиях число полиэмбрионных зерновок варьировало от 2-х до 4-х. Всё это указывает на то, что при средней частоте около 0,2% (или 1: 500) минимальная выборка в 3000 зерновок может быть вполне достаточной для оценки исходного материала, особенно при 2-х, 3-х кратной повторности. Более надёжные результаты,

характеризующие повышенную склонность к полиэмбрионии, вероятно, могут быть получены при некотором относительно минимальном увеличении выборки (до 5 – 6 тысяч). В ряде других опытов мы использовали партии зерновок по 6 тысяч. Соответственно отдельной партии, полиэмбрионные зерновки были получены в количестве 6, 8, 10, 11, 11, 12. При проращивании 9000 зерновок выделено 15 полиэмбрионных.

Таблица 2.

Встречаемость полиэмбрионии у сортов мягкой яровой пшеницы в разных партиях зерновок по 3000 штук

Сорт	Год	Количество полиэмбрионных зерновок, шт.	Частоты полиэмбрионии
Саратовская 64	2000	2, 3, 4	310: 181028 1: 584 0,17%
	2001	1, 2, 3,3, 5, 6, 7, 8, 9	
	2002	1,1, 2,2, 3,3, 4, 5,5,5,5,5, 6,6, 7, 8,8	
	2003	1, 2, 4,4, 5, 6, 7, 10	
	2004	1,1, 3,3,3, 5,5,5, 6,6,6, 9, 10	
Юго-Восточная 2	2000	2, 3, 6	55: 88530 1: 1609 0,06%
	2001	1, 1, 2	
	2002	0,0,0, 1,1,1,1,1, 2,2,2, 3, 4,4	
	2003	1,1,1, 2,2	
	2004	1, 2	
Ершовская 32	2000	0, 1,1	7: 43910 1: 5489 0,016%
	2001	0	
	2002	0,0,0,0,0,0, 1,1	
	2004	1,1,1	
	2000	0,0,0	
2002	0,0,0,0,0,0, 1,1		
2004	0,0		
Саратовская 62	2000	0,0, 1	1: 9816 0,01%
	2001	0,0,0	
Альбидум 43	2000	0,0, 1	1: 8350 0,01%
	2001	0,0	

Иные результаты получены для сорта Юго-Восточная 2, у которого средняя частота равна около 0,06 % (1: 1609). В 27 партиях найдено 3 нулевых варианта (11 %), 10 содержащих по одной полиэмбрионной зерновке (37%); последние в остальных вариантах встречались в количестве 2, 3, 4, 6 (52%). Таким образом, при оценке по малым выборкам (около 3000 штук), имеется равная вероятность отнесения «среднечастотного» сорта к «низко- или высокочастотным».

У остальных сортов (Ершовская 32, Саратовская 29, Саратовская 62, Альбидум 43), характеризующихся средними частотами (от 1: 5000 и ниже), большая часть выборок (28 из 39; 72%) представлена нулевыми вариантами. Каждый вариант остальных выборок содержал лишь по одной полиэмбрионной зерновке.

Наш эксперимент включает 3-х - 5-ти летние данные. В опытах тех лет, когда исследовалось наибольшее количество партий, как правило, встречались те же количественные показатели, которые выявлены в другие годы при использовании меньшего числа зерновок и соответственно меньшего числа вариантов. С одной стороны, это может указывать на определённую независимость проявления признака от годов эксперимента, которые обычно по каким-то показателям отличаются друг от друга. С другой стороны, исходя из установленной частоты полиэмбрионии и используемой выборки можно определить соответствие полученных данных истинным средним частотам. Это достаточно наглядно следует из опытов с сортом Саратовская 29. Ещё в 1969 году у этого сорта, полученного также из НИИСХ Юго-Востока, было выявлено 3 полиэмбрионных зерновки из 27000 (1: 9000) (Цвстова, 1971). Через несколько лет у этого сорта частота полиэмбрионии определена как 1: 6941 (Зайкина, 1978). Учитывая то, что нами в 2000 году исследовано 8090 проростков, а в 2004 году – 4737, вполне понятна вероятность чисто случайной встречаемости «нулевых» вариантов и соответственно снижения средней частоты. Учитывая свои и литературные данные, средняя частота полиэмбрионии для сорта Саратовская 29, вероятно, равна не 1: 18204, как это установлено в нашем конкретном опыте, а лежит где-то в пределах 1 на 10 – 12 тысяч.

Из приведённых данных следует, что при оценке склонности к полиэмбрионии (а равно и к другим явлениям – гаплоидии, апомиксису, андрогенезу и др.), даже при проращивании большой партии семян одновременно, целесообразнее разделить её, хотя бы условно, на множество более мелких партий. В дальнейшем, в зависимости от частоты встречаемости явления, можно будет на основе случайной комбинаторики (например, предлагаемой кем-то посторонним) виртуально объединять первичные выборки в многократные, что в конечном итоге, методами математической статистики, позволит минимизировать ошибки истинных средних частот.

Литература

Зайкина Т.Ф. Встречаемость полиэмбрионии у яровой мягкой и твёрдой пшеницы // Апомиксис и цитозембриология растений. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та. 1978. Вып. 4. С. 38 – 39.

Лакшманан К.К., Амбегаокар К.Б. Полиэмбриония // Эмбриология растений: использование в генетике, селекции, биотехнологии. М.: ВО «Агропромиздат». 1990. С. 5 – 38.

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

Селиванов А.С. Многозародышевость семян и селекция. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1983. Ч.1. 84 с.

Хохлов С.С., Тырнов В.С., Гришина Е.В. и др. Гаплоидия и селекция. М.: Наука. 1976. 221 с.

Цветова М.И. Исследование полиэмбрионии у некоторых сортов мягкой пшеницы // Апомиксис и цитозембриология растений. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та. 1971. Вып. 2. С.94 – 103.

Maheshwari P., Sachar R. C. Polyembryony // Recent advances in the embryology of angiosperms. Maheshwari P. (ed). 1963. P. 265 – 296.

УДК 581.3

МЕТАМОРФОЗЫ АНТИПОД ПРИ ПСЕВДОГАМНОМ АПОМИКСИСЕ У *POA PRATENSIS* L.

О.И. Юдакова, Т.Н. Шакина

Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского, г. Саратов

Характерной особенностью апомиктических популяций является формирование определенного процента зародышевых мешков с различными структурными аномалиями (Ноглер, 1990; Тырнов, Шишкинская, Юдакова, 2000). Их появление связано с нарушением процессов поляризации и дифференциации элементов мегagamетофита. Так, например, изменение «обычного» пути развития клеток яйцевого аппарата нередко приводит к формированию яйцеклеткоподобных синергид, дополнительных яйцеклеток, а в некоторых случаях, и дополнительных полярных ядер. При развитии антиподального комплекса мегagamетофита апомиктов также могут наблюдаться различные аномалии. Однако сведения о них в литературе практически отсутствуют. Возможно, это связано с тем, что исследователи, уделяя особое внимание развитию яйцевого аппарата и центральной клетки, зачастую оставляют вне своего поля зрения антиподальный комплекс. Анализ структуры зародышевых мешков апомиктической популяции *Poa pratensis* L. с использованием ускоренных методов позволил зарегистрировать интересные отклонения в развитии антипод, которые могут служить диагностическими признаками при выявлении апомиксиса.

Материал и методы

Материалом исследования послужила факультативно апомиктическая популяция *Poa pratensis*, произрастающая на территории г.Саратова. Фиксацию соцветий проводили ацетоалкоголем (3:1) темпорально в фазе бутона, когда в пыльниках присутствовала одноядерная пыльца, а также во время цветения и