

*Литература*

Титовец В.В., Еналеева Н.Х., Тырнов В.С. Цитозмбриологическое проявление элементов апомиксиса у линии кукурузы АТ-3 // Репродуктивная биология, генетика и селекция. Саратов, 2002. С. 69-74.

Тырнов В.С., Еналеева Н.Х. Автономное развитие зародыша и эндосперма у кукурузы // Докл. АН СССР. 1983. Т. 272. № 3. С. 722 – 725.

Тырнов В.С. Гаплоидия и апомиксис // Репродуктивная биология, генетика и селекция. Саратова, 2002. С.32 – 46.

Чеботарь А.А. Эмбриология кукурузы. Кишинев, 1972. 384 стр.

Enaleeva N. Kh., Tyrnov V.S. Cytological investigation of apomixis in AT-1 plants of corn // Maize Genetics Cooperation. Newsletter. 1997. Vol. 71. P. 74-75.

Tyrnov V.S. Producing of parthenogenetic form of maize // Maize Genetics Cooperation. Newsletter. 1997. Vol.71. P. 73 – 74.

УДК: 581.165.1

### ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ЗАВЯЗЕЙ У ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКИХ ЛИНИЙ КУКУРУЗЫ БЕЗ ОПЫЛЕНИЯ

Ю.В.Смолякина

*Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского*

Апомиксис, или бесполое семенное размножение, может использоваться для различных практических целей – закрепления гетерозиса, получения гомозиготных линий матроклинного и андрогенного происхождения и др. (Петров, 1988; Jefferson, 1994; Тырнов, 2000а; Toenniessen, 2001).

Апомиксис достаточно широко распространен у дикорастущих видов (Хохлов, 1967; Хохлов и др., 1978; Carman, 2000). Однако он очень редок у возделываемых культур. Поэтому выявление у них форм или индивидуумов размножающихся апомиктически является чрезвычайно актуальной задачей.

Партеногенез у растений (Тырнов, 2000б) является одним из основных элементов апомиксиса (Батыгина, 2000). Высказывалось предположение, что в результате партеногенетического развития зародыша, завязи изолированных и неопыленных соцветий могут разрастаться и увеличиваться в размерах (Довженко и др., 1964). Приводились цитозмбриологические данные о том, что у линии кукурузы, у которой возникают так называемые “крупные завязи”, отмечалось автономное развитие эндосперма (Лайкова, 1964, 1970).

Увеличение завязей при партеногенезе могло бы быть хорошим, легко выявляемым маркерным признаком при отборе на это явление. Поскольку после оплодотворения и начала развития зародыша и эндосперма происходит увеличение завязей в размерах, казалось вполне вероятным их увеличение и при развитии зародыша партеногенетическим путем, и автономном эмбриогенезе. После создания партеногенетических линий кукурузы (Тырнов, Еналеева, 1984; Тырнов, 1994; Тутнов, 1997) появилась возможность экспериментальной проверки этого предположения.

## Материал и методика

Для опытов использовались партеногенетические линии кукурузы АТ-1 и АТ-3, полученные ранее (Тутнов, 1997), а также производные от них аналоги, имеющие цитоплазмы типов Т, М и С (для АТ-1) и Т, М, С и В (Боливийский) для АТ-3. Кроме того, использовались реципрочные гибриды между линиями АТ-1 и АТ-3. Опыты проводились в течение 7 лет. Початки изолировали пергаментными пакетами до появления пестичных нитей. Первый анализ проводили через 10 суток после появления пестичных нитей у растущих рядом растений аналогичного размера и степени развития початков. Так делалось по той причине, что под изолятором практически невозможно определение первого дня появления пестичных нитей, а открытие их было нежелательным из-за возможности заноса пыльцы. Второй анализ проводился во время уборки зрелых початков. Возраст завязей при этом достигал 40–45 суток. Заключение о степени развития завязей делалось по визуальной оценке, как наиболее простой и доступной при массовом отборе. В качестве контроля использовали обычные непартеногенетические линии – Тестер Мангельсдорфа, Коричневый и Зародышевый маркеры, ЮВ-3, ПЛ-1, W401. Для анализа брались початки только из-под абсолютно неповрежденных изоляторов.

## Результаты и обсуждение

Всего за 7 лет у обеих линий и гибридов между ними было проанализировано около 1000 початков. Такое количество початков содержит в целом около 250–300 тысяч завязей.

Подавляющее большинство завязей во всех вариантах выглядело совершенно одинаково, так же, как у контрольных линий; то есть никакого увеличения большинства из них не отмечено. Визуально 40–45-суточные завязи были крупнее 10-суточных, но то же самое наблюдалось у обычных непартеногенетических линий. Отмечено лишь 16 случаев (приблизительно на 150 тысяч) увеличения завязей на 10-е сутки. На однородном фоне поверхности початка они выглядели как заметно выступающие бугорки. Такое явление не было приурочено к какому-либо одному варианту. Оно наблюдалось в разные годы у разных, в том числе у контрольных непартеногенетических, линий.

При анализе в конце вегетации обнаружено 22 зерновки (также приблизительно на 150 тысяч завязей, в разных вариантах, в разные годы). Все эти зерновки скорее всего возникли в результате случайного попадания пыльцы. Пути ее попадания неясны. Однако ранее в специальных опытах под изоляторами мы обнаруживали очень мелких насекомых и пыльники на верхушке початка. Не исключено, что остались незамеченными мельчайшие отверстия на изоляторах. В пользу пыльцевого засорения говорит то, что 14 зерновок были явно гибридного происхождения. Они несли доминантные признаки (пурпурный алейрон или зародыш), присущие рядом растущим линиям. Остальные 8 зерновок дали растения материнского типа. Початки этих растений были изолированы с особой тщательностью. В конце вегетации ни

завязываемости зерновок, ни увеличения завязей у них не отмечено. Вероятно, что завязываемость исходных зерновок также связана с опылением, но только своей пыльцой. Возникновение единичных зерновок также наблюдалось и у изолированных, но не опыленных контрольных растений.

Таким образом, без опыления автономное развитие семян не отмечено.

Ранее Л.И. Лайковой (1964) отмечалось, что у линии кукурузы КЗР - 136 -1-Р, которая характеризовалась образованием крупных завязей, наблюдалось развитие эндосперма без оплодотворения. Он был обнаружен в 20 из 230 крупных завязей; в ее же работе 1970 года приводятся, вероятно, дополненные данные - 45 на 668 зародышевых мешков 72-х растений. Автономный эндосперм наблюдался на разных стадиях развития - ядерной и клеточной (от 80 до 2000 клеток); при этом партеногенетического развития зародыща не обнаружено.

Исследуемым нами линиям АТ-1 и АТ-3 свойственна псевдогамия - явление, когда зародыш развивается апомиктически, а эндосперм - в результате оплодотворения. Однако при цитозембриологическом анализе у этих линий установлена также способность к автономному эндоспермогенезу. Отмечено наличие нескольких ядер эндосперма, иногда более 40, случаи частичной целлюляризации (Еналеева, Тырнов, 1994; Enaleeva, Tyrnov, 1997; Tyrnov et al., 2001). При наличии ядер и клеток эндосперма, а также при их отсутствии наблюдались проэмбрио на стадиях от двухклеточного до глобулярного. Частоты этих явлений варьировали от нескольких процентов до нескольких десятков (более 50 %). Поэтому отсутствие "крупных завязей" нельзя объяснить редкостью партеногенеза. Следовательно, способность к партеногенезу и автономному эмбриогенезу не всегда связаны с гипертрофированным развитием завязей. Причинно-следственные связи между апомиксисом и развитием завязей, видимо, различны в нашем материале и у линий с крупными завязями. Развитие последних связано не с эмбрио- и эндоспермогенезом, как это бывает при половом и апомиктичном воспроизводстве, а, возможно, с гормональными особенностями разных линий. В пользу этого говорят опыты по воздействию на початки кукурузы, не предрасположенной к образованию крупных завязей, некоторых физиологически активных веществ, в частности, 2,4,5-трихлорфеноуксусной и нафтил-уксусной кислот (Зайцева, Звержанская, 1966). Такие воздействия вели к заметному увеличению завязей. Уже в первые 5 дней они превосходили по весу неопыленный контроль в 3 - 4 раза и приблизительно вдвое - варианты с опылением.

К сожалению, у наших линий без опыления не происходит не только развития зерновок, но и даже визуально заметного увеличения завязей, которое могло бы использоваться как простой сигнальный признак при отборе на партеногенез. Тем не менее, определенная польза из такой ситуации может быть извлечена. Например, можно контролировать случайное переопыление при взятии материала для различных работ - эмбриологического анализа, культивирования завязей *in vitro* и др. Превышение типичных размеров завязей может быть использовано в качестве маркерного признака при дальнейшем отборе на автономный эндоспермогенез. Увеличение размеров завязей в

принципе может быть с ним связано, особенно если эмбриогенез будет осуществляться нормально. Однако должны быть приняты все меры, чтобы исключить случайное попадание пыльцы на рыльца. В дальнейшем для усиления способности к автономному эндоспермогенезу целесообразно путем гибридизации соответствующих форм получить аналоги линий АТ с крупными завязями.

Работа выполнена при поддержке грантом РФФИ (№ 01-04-40385).

### *Литература*

- Батыгина Т.Б. Апомиксис // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. СПб., 2000. С. 143 – 146.
- Довженко Л.И., Белоусова Н.И., Пономарева А.К. О наследственной способности к разрастанию завязей без опыления у кукурузы // Цитология и селекция культурных растений. Новосибирск, 1964. С.36-41.
- Зайцева М.И., Звержанская Л.С. Исследование возможности стимуляции образования апомиктических семян у кукурузы // Совещ. по пробл. апомиксиса у растений. Тезисы докл. Саратов, 1966. С.20 – 22.
- Еналеева Н.Х., Тырнов В.С. Цитологическое проявление элементов апомиксиса у линии кукурузы АТ-1 и ее гибридов // Апомиксис у растений: состояние проблемы и перспективы исследований. Труды Междунар. симп. - Саратов, 1994. С. 57 – 59.
- Лайкова Л.И. Автономное развитие эндосперма у кукурузы // Цитология и селекция культурных растений. Новосибирск, 1964. С. 29 – 35.
- Лайкова Л.И. Цитоэмбриологические данные об автономном образовании эндосперма у кукурузы // Апомиксис и селекция. М., 1970. С. 106 – 110.
- Петров Д.Ф. Апомиксис в природе и опыте. Новосибирск, 1988. 214 с.
- Тырнов В.С., Еналеева Н.Х. Автономное развитие зародыша и эндосперма у кукурузы // Докл. АН СССР. 1983. Т.272. № 3. С.722 – 725.
- Тырнов В.С. Гаплоидия и апомиксис // Апомиксис у растений: состояние проблемы и перспективы исследований. Тр. Междунар. симп. Саратов. 1994. С.141- 142.
- Тырнов В.С. Партеногенез // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. СПб., 2000а. С. 158-165.
- Тырнов В.С. Прикладные аспекты гаметофитного апомиксиса // Там же. 2000б. С. 203 – 206.
- Хохлов С.С. Апомиксис: классификация и распространение у покрытосеменных растений // Успехи совр. генетики. 1967. №1. С. 43-105.
- Хохлов С.С., Зайцева М.И., Куприянов П.Г. Выявление апомиктических форм во флоре цветковых растений СССР. Саратов, 1978. – 224 с.
- Carman J.G. The evolution of gametophytic apomixis // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. СПб., 2000. С. 218 – 245.
- Enaleeva N.Kh., Tyrnov V.S. Cytological manifestation of apomixis in АТ-1 plants of corn // Maize Genetics Cooperation Newsletter. - 1997. Vol.71. P.74.

Jefferson R. Apomixis: a social revolution for agriculture? // *Biotechnology Development Monitor*. 1994. №.19. P.1 – 16.

Toenniessen G.H. Feeding the World in the 21st Century: Plant Breeding, Biotechnology and Potential Role of Apomixis // *The flowering APOMIXIS: from Mechanisms to Genetic Engineering*. – Y.Savidan et al., editors. 2001. Chapter 1. P. 1 – 7.

Турнов V.S. Producing of parthenogenetic forms of maize // *Maize Genetics Cooperation Newsletter*. 1997. Vol.71. P.73 –74.

Турнов V.S., Smolkina Yu., Titovets V.V. Estimation of parthenogenesis frequency on the grounds of genetical and embryological data // *Maize Genetics Cooperation Newsletter*. 2001. Vol. 75. P.56-57.

УДК 582.988 : 581.163 +576.354.4

## ХАРАКТЕР НАРУШЕНИЙ В МУЖСКОЙ ГЕНЕРАТИВНОЙ СФЕРЕ В ДВУХ ПОПУЛЯЦИЯХ АГАМНОГО КОМПЛЕКСА *PILOSELLA*

А.С.Кашин, Ю.А. Демочко, М.И. Цветова\*

*Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского*

\* *НИИСХ Юго-Востока*

Исследования апомиктических форм покрытосеменных растений показали, что при автономном апомиксисе нередко наблюдаются явления морфологической редукции цветка. При этом в первую очередь происходят нарушения в развитии пыльца, а у некоторых апомиктических видов пыльца вообще не образуется (Хохлов, Зайцева, 1971; Куприянов 1983). Характер процессов, ведущих к образованию дефектных пыльцевых зёрен у разных форм апомиктических растений чрезвычайно разнообразен (Rutishauser, 1967). Так, у видов рода *Hieracium* в микроспорогенезе отмечали образование диад, полиад, монад, которые давали начало как диплоидным микроспорам, так и микроспорам с аномальным числом хромосом. У полиплоидных форм отмечали наряду с мультивалентами униваленты. У некоторых видов полностью отсутствовала конъюгация, хромосомы в первом делении мейоза претерпевали митотическое деление, давая начало диплоидным дочерним клеткам. В других случаях хромосомы в анафазе I расходились произвольно, и дочерние ядра получали разное количество хромосом. Нередко отмечалось возникновение реституционных ядер как в первом, так и во втором делениях мейоза (Gustafsson, 1947). Эти данные получены для видов, которым свойственна диплоспорическая форма апомиксиса. В данной работе приводятся результаты исследования микроспорогенеза у вида *Pilosella officinarum* F. Schultz et Sch. Bip. (синоним *Hieracium pilosella* L.), для которого характерна апоспория.

Исследование проводилось с целью выяснить, какие особенности микроспорогенеза определяют характеристики пыльца растений, выявленные ранее (Кашин, Чернышова, 1997).