

## Литература

- Васильев А.Е. Цитоскелет генеративной сферы высших растений // Журн. общ. биол., 1996. Т.57, №5. С.567-590.
- Кашин А.С., Чернышова М.П. Частота апомиксиса в популяциях некоторых видов *Taraxacum* и *Hieracium* (*Asteraceae*) // Бот. журн., 1997.- Т. 82, № 9.- С.14-24
- Куприянов П.Г. Соотносительная роль факторов, вызывающих появление дефектных пыльцевых зёрен у растений в природе // Апомиксис и цитозембриология растений. Саратов, 1983. Вып.5. С.3-33.
- Сравнительная эмбриология цветковых растений. Л., 1987.- 391 с
- Тутаюк В.Х. Анатомия и морфология растений. 2е изд. М., 1980. 317 с.
- Хохлов С.С., Зайцева М.И. Опыт определения количества апомиктических видов во флоре окрестностей Саратова антморфологическим методом // Апомиксис и цитозембриология растений. Саратов, 1971. Вып. 2. С.25- 40.
- Birari S.P. Apomixis and sexuality in *Themeda Forssk.* at different ploidy levels (*Graminae*) // Genetica (Ned), 1980. V.54, № 2. P.133-139.
- Davis G.L. Apomixis and abnormal anther development in *Calotis Lappilacea* Benth. (*Compositae*) // Austr. J. Bot., 1968. V.16, №1. P. 1-17.
- Dawe R.K. Meiotic chromosome organization and segregation in plants // Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol., 1998. V.49. P. 371-395.
- Gustafsson A. Apomixis in higer plants. Part II. The causal aspect of apomixis. Lunds universitets arsskrift.N.F. Avd. 2, 1947. -Bd.43, №2. S.71-179.
- Quari C.L., Pozzobon M.T., Valls J.F.M. Cytology and reproductive behavior of diploid, tetraploid and hexaploid germplasm accessions of a wild forage grass: *Paspalum compressifolium* // Euphytica, 1996. V.90, №3. P. 345-349.
- Richards A.J. Eutriploid facultative agamospermy in *Taraxacum* // New Phytol., 1970. V. 69, №3. P.761-774.
- Rutishauser A. Fortpflanzungsmodus und Meiose apomiktischer Blütenpflanzen. // Protoplasmologia, 1967. N 3. S. 1-243.

УДК 581.143.6

### ГОРМОНОНЕЗАВИСИМОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ ЭМБРИОГЕНЕЗА *IN VITRO* У ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЛИНИИ КУКУРУЗЫ

Т.А.Алаторцева, В.С.Тырнов

Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского

Индукция автономного развития яйцеклетки *in vitro* зависит от многих факторов, включая состав питательных сред, их специфичность для разных видов и этапов культивирования. Обычно среды для индукции каллусо- и эмбриоидогенеза включают различные гормональные добавки в сочетании с углеводами (Yang, Zhou, 1982; Бугара, Русина, 1988; Mukhambetzhonov, 1997; Mol, 1999).

Установлено, что в культуре неопыленных завязей апомиктических форм сравнительно легко идет процесс формирования гаплоидных проэмбрио, эмбрионидов и регенерация из них растеньиц, так как развитие зародыша без оплодотворения уже генетически предопределено (Алаторцева, Тырнов, 1989). Эту особенность нами предложено использовать как маркерный признак для диагностики апомиксиса и отбора на этот признак (Алаторцева, Тырнов, 1993). Фактором, ограничивающим возможность реализации этой идеи, может быть индуцированный эмбриогенез не связанный с генетически обусловленной предрасположенностью к апомиксису. Перспективным подходом к решению этой проблемы может быть выявление и использование сред, содержащих те компоненты (или их концентрации), которые являются недостаточными для индукции морфогенеза у обычных половых форм, но не препятствует его проявлению у апомиктов.

Цель данного исследования заключалась в изучении реакции неопыленных завязей партеногенетической линии кукурузы на средах, не имеющих гормона 2,4-Д или включающих его в минимальных концентрациях (0,2 и 0,25 мг/л), при разных количествах сахарозы.

### Материал и методы

В качестве объектов исследования использовали партеногенетическую линию кукурузы АТ-1 (Тырнов, Еналеева, 1983). Контролем служили десять обычных линий, не имеющих склонности к апомиксису. Растения-доноры выращивали в поле. Спустя 5 суток после появления пестичных нитей, початки, закрытые изоляторами для исключения опыления, срезали с растения, стерилизовали в 70% этиловом спирте и растворе натриевой соли этилмеркуртисалициловой кислоты. Питательная среда включала макро- и микроэлементы MS, витамины, агар-агар, а также в разных количественных соотношениях сахарозу и 2,4-Д. Для опытов отбирали завязи только средней части початка. Их культивировали в пробирках при температуре  $25 \pm 2^\circ \text{C}$  в темноте. Перед посадкой на среду часть завязей каждого соцветия фиксировали в растворе ацетоалкоголя (1:3) для уточнения стадии развития зародышевого мешка.

Частоту эмбриогенеза оценивали по суммарному количеству эксплантов с данным признаком спустя 2,5 месяца развития *in vitro*.

### Результаты и обсуждение

Эксперимент проводили, используя 7 вариантов питательной среды, отличающихся концентрациями 2,4-Д (0; 0,2; 0,25 мг/л) и сахарозы (1, 5, 9 %). Завязи в момент помещения на среду содержали зародышевые мешки либо с нормальной яйцеклеткой, либо с яйцеклеткой, вступившей в стадию деления. Иногда обнаруживали двух-шести-клеточные проэмбрио. В конце культивирования во вскрытых завязях были обнаружены глобулярные зародышеподобные структуры величиной до 2 мм в диаметре. Результаты количественной оценки таких явлений при разных условиях культивирования представлены в таблице 1.

Таблица 1. Частота эмбриогенеза *in vitro* в зависимости от количественных сочетаний 2,4-Д и сахарозы

2,4-Д, мг/л		Сахарозы, %	№ среды	Количество завязей	
				Всего	С эмбриогенезом, %
0	1	1	132	0	
	5	2	130	9,2	
	9	3	128	7,8	
0,2	1	4	139	3,6	
	5	5	131	12,2	
	9	6	132	7,6	

Было установлено, что на среде 1 (отсутствие 2,4-Д, 1% сахарозы) семечки прекращают развиваться и погибают.

Размеры завязей при этом остаются практически такими же, как и до культивирования. Их поверхность ослизняется и вскоре они полностью дегенерируют. Однако при больших концентрациях сахарозы (5 и 9%) частоты эмбриогенеза составляют 9,2 и 7,8%, в зависимости от количества углевода (среды 2 и 3).

В то же время при добавлении в среду 2,4-Д, даже в небольшом количестве (0,2 мг/л), частота встречаемости этого признака может варьировать от 3,6 до 12,2%, в зависимости от уровня сахарозы.

Однако достоверных различий (при уровне значимости 0,95) между всеми указанными частотами за исключением безгормонального варианта с минимумом углевода (среда 1), не выявлено.

Аналогичные исследования в другом эксперименте (табл.2) с использованием вариантов сред с малым количеством 2,4-Д (0,25 мг/л) и безгормонального, в сочетании с 9% сахарозы, показали, что, как и в первом опыте, отсутствие ауксина принципиально не сказывается на частоте проявления партеногенеза, и различия в величинах не являются достоверными.

Таблица 2. Частота эмбриогенеза в зависимости от присутствия в питательной среде 2,4-Д (при 9,0% сахарозы)

Концентрация 2,4-Д, мг/л	Количество завязей	
	Всего	С эмбриогенезом, %
0	127	3,2
0,25	129	4,7

Таким образом, возникновение и развитие апомиктического проэмбрио находятся в большей зависимости от количества углевода в среде, нежели от концентраций ауксина. И это, видимо, не случайно.

Партеногенез у этой линии генетически детерминирован и проявляется как *in vivo*, так и *in vitro*, в отличие от обычных амфимиктических линий (Алаторцева, Тырнов, 1994). Именно поэтому нет особой необходимости добавлять ауксин. Он (2,4-Д) обычно требуется позже для того, чтобы переключить программу развития глобулярного зародыша на формирование регенерационноспособных эмбриоидов и поддержание их клонов. Что касается сахарозы, то, как правило, в исходных пассажах в период адаптации эксплантов к новым условиям потребность в ней значительно выше, чем на поздних этапах - при каллусогенезе, регенерации растений и т.д. Это отмечено для культуры как гаплоидных, так и диплоидных тканей (Laudenir, William, 1989; Benkirane et al., 2000). Зависимость от углевода вполне объяснима, поскольку его присутствие необходимо растениям и для энергетического питания клеток, и для поддержания скорости метаболических процессов. Именно поэтому только определенное его количество способно обеспечить зародышеподобным структурам любого происхождения, в том числе и апомиктического, жизнеспособность *in vitro*, особенно в условиях, где невозможна фотосинтетическая активность.

Культивирование *in vitro* неоплодотворенных завязей десяти обычных половых линий при использовании всех тех же веществ и концентраций показало их неспособность к эмбриогенезу. Видимо, при указанных условиях культивирования уже возможен отбор форм, предрасположенных к апомиксису, хотя и не исключена дальнейшая оптимизация этих условий.

### Выводы

1. Условием возникновения и развития проэмбрио *in vitro* у партеногенетической линии кукурузы является наличие в среде достаточного количества сахарозы (5–9 %).
2. Отсутствие ауксина 2,4-Д, при достаточном количестве сахарозы не оказывает негативного влияния на проявление эмбриогенеза у партеногенетической линии.
3. Показана принципиальная возможность отбора на партеногенез на основе использования технологии культуры завязей *in vitro*.

### Литература

Алаторцева Т.А., Тырнов В.С. Использование техники *in vitro* для доращивания проэмбрио при редуцированном партеногенезе у кукурузы // Биология культивируемых клеток и биотехнология. Тр. II Междунар. конф. Алмата, 1989. С. 139.

Алаторцева Т.А., Тырнов В.С. Сравнительное изучение развития неоплодотворенных завязей апо- и амфимиктических линий кукурузы *in vitro* // Апомиксис у

растений: состояние проблемы и перспективы исследований. Тр.Международ. симп. Саратов, 1994. С. 8-9.

Бугара А.М., Русина Л.В. Культура неоплодотворённых завязей и семяпочек как способ получения гаплоидных растений // Физиол. и биохимия культ. растений. 1988. Т.20. № 5 . С.419-430.

Тырнов В.С., Еналеева Е.Х. Автономное развитие зародыша и эндосперма у кукурузы // Докл. АН СССР. 1983. Т. 272.№3. С. 722-723.

Alatortseva T.A., Tyrnov V.S. The use of culture for identification apomictic form// Trends in Plant Biotechnology: II Symp. Puschino, 1993. P.342.

Benkirane H., Sabounji K., Chlyah A., Chlyah H. Somatic embryogenesis and plant regeneration from fragments of immature inflorescence and coleoptiles of durum wheat // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2000. Vol.61. P. 107-113.

Laudenir P., William S., Somatic embryogenesis and regeneration capacity in tropical maize inbreds // Rev. Bras. Genet. 1989. Vol.12. N3. P. 553-566.

Mol R. Embryological aspects of *in vitro* gynogenesis in plant organ cultures. Acta Biol.Cracov. Ser. Bot. Vol.41. 1999. P.67-74.

Mukhambetzhanov S.K. Culture of nonfertilized female gametophytes *in vitro*. Plant Cell. Tissue and Organ Culture. Vol. 48. 1997. P.111-119.

Yang H.J., Zhou C. In vitro induction of haploid plants from unpollinated ovaries and ovules // Theor. And Appl. Genet. 1982. Vol.63. № 2. P.97-104.

УДК: 631.52

## ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К ПОЛИЭМБРИОНИИ СОРТОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ САРАТОВСКОЙ СЕЛЕКЦИИ

И.Г. Геворгян

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

Полиэмбриония у растений (возникновение в одном семени нескольких зародышей) связана с рядом явлений, которые имеют важное селекционное значение. К ним относятся партеногенез, андрогенез, гаплоидия, апомиксис (Хохлов и др.,1976; Селиванов, 1983; Тырнов, 1986). Все они у большинства возделываемых растений встречаются крайне редко и их очень трудно выявлять. Полиэмбриония, напротив, самый легко диагностируемый признак, поэтому не исключено, что, производя отбор на полиэмбрионию, можно будет выявить формы, предрасположенные к вышеперечисленным явлениям.

По литературным данным, использование только апомиксиса при воспроизводстве риса должно дать дополнительную продукцию не менее чем на 2,5 миллиарда долларов в год (Koltunow, 1998). Не меньшие результаты могут быть получены и при возделывании пшеницы. Использование гаплоидии и андрогенеза позволяет в несколько раз сокращать сроки селекции. Поэтому изучение полиэмбрионии может оказаться очень перспективным направлением. Встречаемость полиэмбрионии у пшеницы отмечалась разными авторами (Селиванов, 1983; Цветова,1971; Зайкина,1978). Нами проведена оценка разных