

МИНОБРНАУКИ РОССИИ  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ  
Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

Кафедра генетики

**ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОЙ ПРЕДОБРАБОТКИ ЗРЕЛЫХ  
ЗАРОДЫШЕЙ КУКУРУЗЫ НА КАЛЛУСОГЕНЕЗ**

Автореферат бакалаврской работы

Студента 4 курса 422 группы

Направление подготовки бакалавриата 06.03.01 Биология

Биологического факультета

Петрова Всеволода Глебовича

Научный руководитель  
зав. кафедрой генетики,  
д.б.н., доцент



О.И.Юдакова

Зав. кафедрой генетики,  
д.б.н., доцент



О.И.Юдакова

Саратов 2021

## ВВЕДЕНИЕ

Электромагнитное излучение (ЭМИ) является физическим фактором среды, который может оказывать на различные живые организмы существенное влияние, причем как негативное, так и положительное. ЭМИ может оказывать на объекты (в том числе и живые) два основных вида воздействия: тепловое (облучение непрерывным радиосигналом) и нетепловое (облучение импульсным радиосигналом). Облучение импульсным радиосигналом не приводит к повышению температуры исследуемого объекта, что в большинстве случаев является позитивным фактором. Однако, в отличие от теплового воздействия ЭМИ, которое достаточно хорошо изучено, исследования воздействия импульсного СВЧ излучения на биологические объекты находится в настоящее время в начальной стадии.

В качестве одного из модельных объектов для изучения влияния ЭМИ на процессы деления растительных клеток может быть использована культура тканей и органов *in vitro*.

Цель проведенного исследования – изучить влияние электромагнитной предобработки зрелых зародышей кукурузы на процесс каллусогенеза в культуре *in vitro*.

Для реализации поставленной цели решались следующие задачи:

- 1) провести электромагнитную предобработку зрелых зародышей кукурузы импульсным электромагнитным полем сверхвысокой частоты;
- 2) инициировать каллусогенез в культуре зрелых зародышей кукурузы в контроле (без предобработки) и опыте (с предобработкой зерновок).
- 3) изучить особенности инициации стерильной культуры и развития каллуса в контрольных и опытных вариантах.

**Структура ВКР:** работа состоит из трех глав, выводов и списка использованных источников. В первой главе приводится обзор литературы по вопросу влияние электромагнитного излучения на растения.

### **Основное содержание ВКР:**

Объектом исследования послужили две линии кукурузы: АТТМ и КМ.

Из обработанных стерилизующими растворами зрелых зерновок кукурузы в стерильных условиях ламинар-бокса выделяли зародыши и помещали их в пробирки на искусственную питательную среду Мурасиге и Скуга (МС). Закрывали пробирки стерильными пробками и подвергали воздействию переменного электромагнитного поля СВЧ-диапазона с частотой 60 ГГц в течение 5 минут. Эксперимент проводили в нескольких повторностях. В каждой повторности использовали 20 пробирок с облученными зародышами и 20 пробирок с необработанными ЭМИ зародышами, которые служили контролем. В качестве источника ЭМИ использовали генератор сигналов высоких частот Г4-142

Культивирование зрелых зародышей проводили на среде Мурасиге и Скуга (МС) с добавлением 2,0 мг/л 2,4-Д в климатокамере при температуре 27°C в темноте.

Анализ эксплантов через 4 недели культивирования показал, что у обеих изученных линий как в контрольном варианте (без обработки ЭМИ), так и в опытных вариантах на эксплантах происходило образование каллусной ткани. Однако у линии КМ в контроле частота инициации стерильных культур была существенно ниже по сравнению с линией АТТМ ( $33,3 \pm 15,3$  и  $60 \pm 27,4\%$ , соответственно) (рисунок 1, таблица 1). Причем в разных повторностях эксперимента у обеих линий наблюдалось значительное варьирование этого показателя. Так, у линии КМ частота инициации колебалась от 20,0 до 50,0% (коэффициент вариации  $CV=45,8\%$ ), а у линии АТТМ – от 35,0 до 80,0% (коэффициент вариации  $CV=45,6\%$ ). Это может указывать на зависимость успеха инициации стерильной культуры у данных линий от внешних факторов, которые могли в некоторой степени различаться при введении зародышей в культуру, например, температура в ламинар-боксе, влажность и др.

В экспериментальном варианте (после воздействия на зародыши ЭМИ) у обеих линий успешно инициировались к развитию в среднем около 60% эксплантов (рисунок 1, таблица 1).

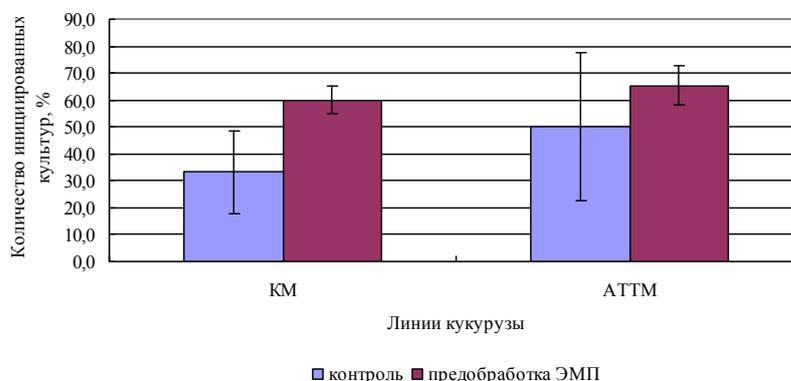


Рисунок 1 – Частота развития каллуса в культуре зародышей кукурузы, не обработанных (контроль) и обработанных импульсным электромагнитным полем сверхвысокой частоты (через 4 недели культивирования)

Таблица 1 – Влияние генотипа линии и предобработки зрелых зародышей на инициацию стерильных культур (4 недели культивирования)

Линия (фактор А)	№ повторности	Кол-во инициированных культур, %		Средняя по фактору А
		контроль	после воздействия ЭМИ (фактор В)	
KM	1	20,0	55,0	46,67a
	2	50,0	65,0	
	3	30,0	60,0	
	Среднее значение	33,3±15,3	60,0±5,0	
ATTM	1	35	60	62,50b
	2	80	75	
	3	65	60	
	Среднее значение	60±27,4	65,4±7,1	
Средняя по фактору В		46,67a	62,50b	
F(A) 9,7* F (B) 9,7* F (A×B) 4,56 ns				

Примечание: В каждом варианте изучены три повторности по 20 эксплантов. Данные, обозначенные разными буквами в одном столбце, достоверно различаются друг от друга по критерию Дункана по результатам двухфакторного дисперсионного анализа (Duncan's Multiple Range Test); \*  $p \leq 0,5$ .

В повторностях эксперимента частота инициации варьировала в меньшей степени, по сравнению с контролем. Так, у линии КМ количество иницированных культур после воздействия на зародыши ЭМИ составило от 55,0 до 60,0% (коэффициент вариации  $CV=8,3\%$ ), а у линии АТТМ от 65,0 до 70,0% (коэффициент вариации  $CV=10,9\%$ ). Двухфакторный дисперсионный анализ полученных данных показал, что на частоту инициации культур оказывает достоверное влияние как генотип линии (при  $p \leq 0,5$ ), так и воздействие на экспланты ЭМИ.

Для того, чтобы определить оказывает ли влияние обработка зародыша импульсным электромагнитным полем сверхвысокой частоты на рост каллуса, через 6 недель культивирования экспланты извлекали из пробирок и взвешивали. Двухфакторный дисперсионный анализ полученных данных показал, что рост каллуса достоверно зависит от генотипа линии (при  $p \leq 0,5$ ) (таблица 2).

В отличие от линии КМ у линии АТТМ каллусная ткань более активно нарастала как в опытном варианте, так и в контроле. Достоверных отличий по интенсивности развития каллуса в контроле и опыте у линии АТТМ не обнаружено. В контроле средний вес эксплантов составил  $41,0 \pm 32,8$  мг, в опытном варианте –  $42,0 \pm 13,8$  мг (таблица 2, рисунок 2). У линии КМ, напротив, вес эксплантов после воздействия на зародыши ЭМИ был достоверно больше, чем в контроле ( $29,3 \pm 2,4$  и  $18,9 \pm 4,5$  мг, соответственно при  $p \leq 0,5$ ).

У кукурузы из тканей щитка зародыша может развиваться два типа морфогенного каллуса: каллус I типа и каллус II типа. Каллус I типа – белый или желтый, плотный, компактный. Он медленно растет, быстро переходит к регенерации и не способен к длительной пролиферации в культуре. Каллус II типа – мягкий, хрупкий, белый или бледно-желтый, часто прозрачный. Он отличается быстрым ростом, при регулярном субкультивировании на свежую питательную среду может поддерживаться в культуре более 2 лет.

Таблица 2 – Влияние предобработки зародыша импульсным электромагнитным полем сверхвысокой частоты на рост каллуса (через 6 недель культивирования)

Линия (фактор А)	№ повторности эксперимента	Средний вес каллуса, мг		Средняя по фактору А
		контроль	после воздействия ЭМИ (фактор В)	
КМ	1	15,7	27,6	24,1a
	2	22,0	31,0	
	Среднее значение	18,9±4,5	29,3±2,4	
АТТМ	3	10,0	44,0	41,5в
	4	17,0	23,0	
	6	78,0	56,0	
	7	59,0	45,0	
	Среднее значение	41,0±32,8	42,0±13,8	
Средняя по фактору В		29,95a	35,65a	
F(A) 10,7* F (B) 4,7 ns F (A×B) 4,3 ns				

Примечание: В каждом варианте изучены три повторности по 20 эксплантов. Данные, обозначенные разными буквами в одном столбце, достоверно различаются друг от друга по критерию Дункана по результатам двухфакторного дисперсионного анализа (Duncan's Multiple Range Test); \*  $p \leq 0,5$ .

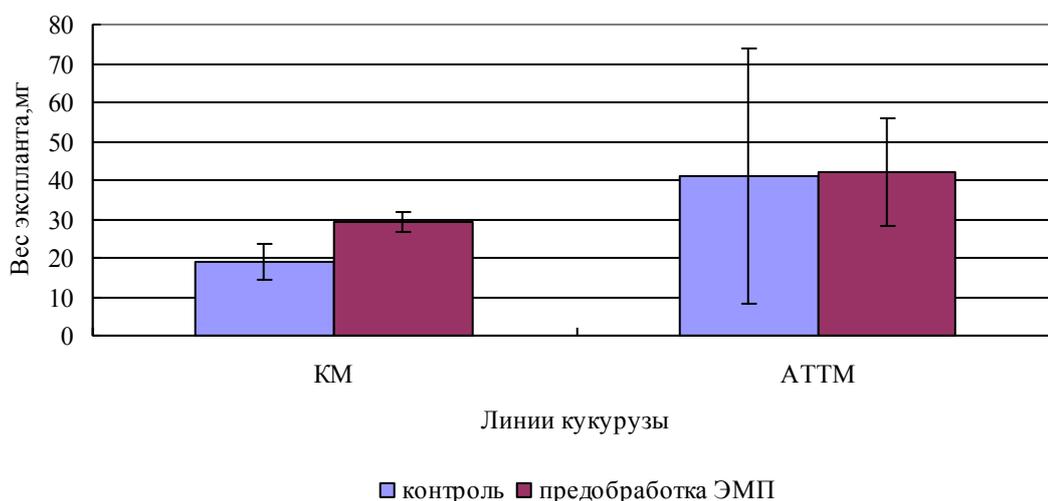


Рисунок 2 – Вес эксплантов в культуре зародышей кукурузы, не обработанных (контроль) и обработанных импульсным электромагнитным полем сверхвысокой частоты через 6 недели культивирования)

В проведенном эксперименте у линии КМ из щитка зародыша развивался каллус первого типа, т.е. плотный и компактный (рисунок 3).

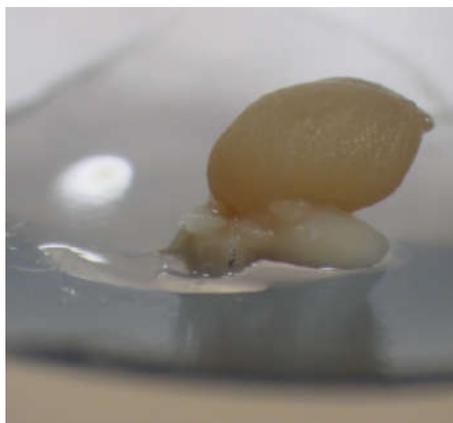


Рисунок 3 – Каллус, развившийся из щитка зародыша линии КМ через 2 месяца культивирования

У линии АТТМ развитие каллуса происходило по второму типу, т.е. формировался мягкий, хрупкий, белый или бледно-желтый каллус, который характеризуется более высокой скоростью роста по сравнению с каллусом первого типа, характерного для линии КМ (рисунок 4). Через 2 месяца культивирования на каллусе формировались глобулярные структуры, которые характерны для эмбрионного каллуса. Из таких структур при переносе каллуса на среды для регенерации развиваются растения-регенеранты посредством непрямого соматического эмбриогенеза или, реже, непрямого органогенеза (рисунок 4, *e*). Способность к развитию того или иного типа каллуса, как правило, определяется генотипом экспланта. Эта закономерность может объяснить, почему в культуре *in vitro* у линии АТТМ происходило более интенсивное развитие каллусной ткани.

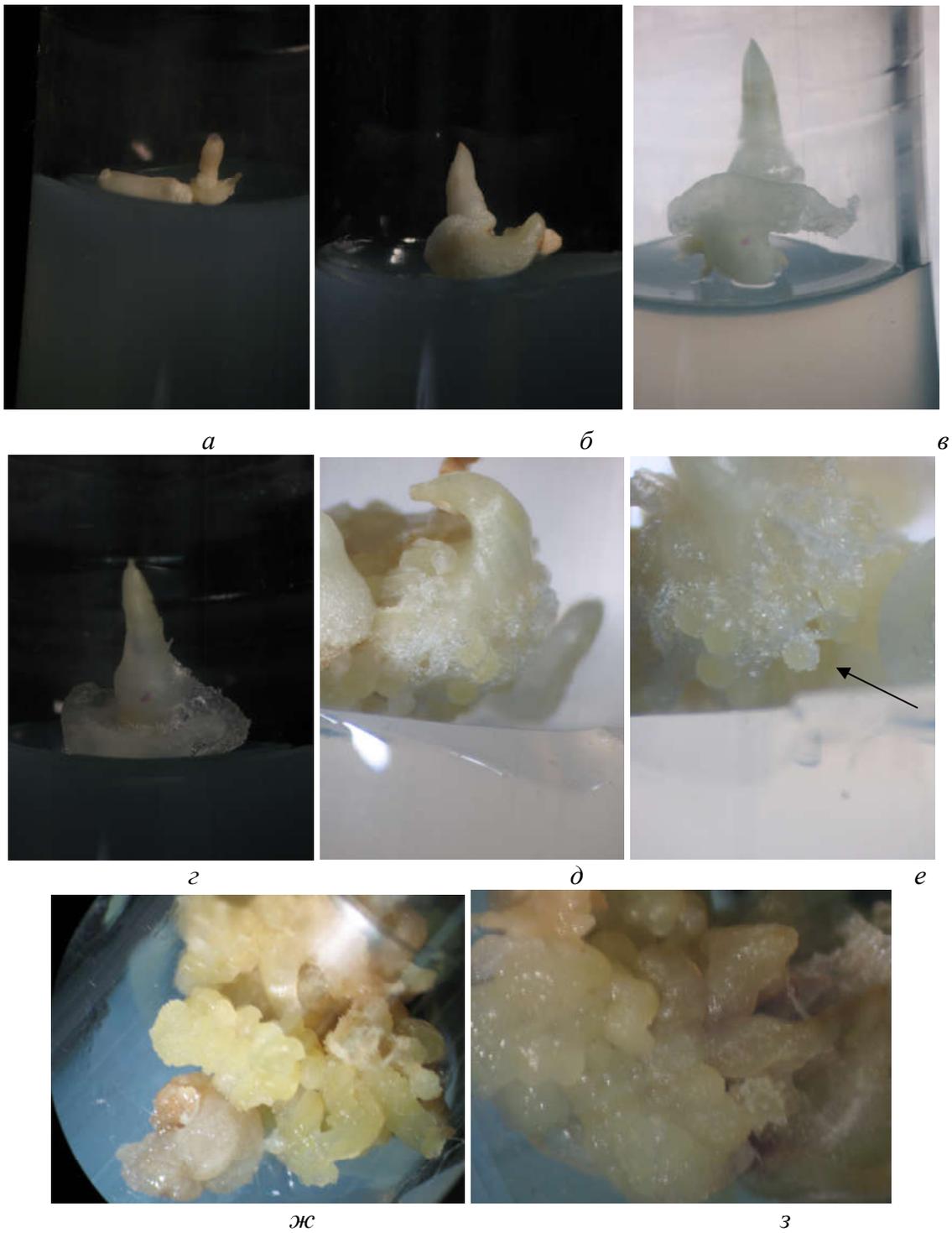


Рисунок 4 – Каллус, развившийся из щитка зародыша линии АТТМ:  
*а-г* – через 1 месяц культивирования; *д, е* – через 2 месяца культивирования; *е*  
– развитие на каллусе глобулярных структур (показано стрелкой); *ж, з* –  
через 1 месяц субкультивирования на среде МС с 2,0 мг/л 2,4-Д

## ВЫВОДЫ

1. При использовании в качестве эксплантов зрелых зародышей у изученных линий кукурузы (АТТМ и КМ) на частоту инициации каллусной культуры достоверное влияние (при  $p \leq 0,5$ ) оказывал как генотип линии, так и предобработка зародышей импульсным электромагнитным полем сверхвысокой частоты. У линии КМ наблюдалось существенное увеличение (в среднем на 25%) частоты инициации каллусных культур после предобработки эксплантов ЭМИ.

2. После предобработки эксплантов импульсным магнитным полем у линии КМ наблюдалось достоверное увеличение веса каллусов (при  $p \leq 0,5$ ) с  $18,9 \pm 4,5$  мг (контроль) до  $29,3 \pm 2,4$  мг. Достоверных отличий по интенсивности развития каллуса в контроле и опыте у линии АТТМ не обнаружено ( $41,0 \pm 32,8$  и  $42,0 \pm 13,8$  мг, соответственно).

3. У линии КМ из щитка зародыша развивался плотный и компактный каллус (каллус первого типа), который характеризуется медленным ростом. У линии АТТМ развитие каллуса происходило по второму типу, т. е. формировался мягкий, хрупкий, белый или бледно-желтый каллус, который характеризуется более высокой скоростью роста по сравнению с каллусом первого типа.

4. Выявленное положительное влияние предобработки эксплантов импульсным магнитным полем на процесс каллусогенеза свидетельствует о перспективности работ по подбору оптимальных параметров ЭМИ для индукции каллусогенеза у линий кукурузы с низким морфогенетическим потенциалом.