

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

Кафедра генетики

**ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАРОДЫШЕВЫХ МЕШКОВ У РАЗНЫХ
ГЕНОТИПОВ ТАБАКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЕМПЕРАТУРНЫХ
УСЛОВИЙ**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ


студентки 2 курса 241 группы

направления подготовки магистратуры 06.04.01 Биология

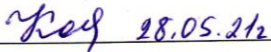
биологического факультета

Князевой Алины Константиновны


Научный руководитель
доцент каф. генетики, к.б.н.

 28.05.21 Л.П. Лобанова
подпись, дата

Консультант
с.н.с. ФГБНУ «НИИСХ
Юго-Востока», к.б.н.

 28.05.21 А.Ю. Колесова
подпись, дата

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

 28.05.21 О.И. Юдакова
подпись, дата

Саратов – 2021

Введение. Современный этап эмбриологии растений характеризуется интенсивным развитием экспериментального направления. Один из его аспектов заключается в широком использовании методов воздействия на генеративную сферу физико-химическими факторами с целью направленного изменения естественного хода эмбриологических процессов.

Женский гаметофит, или зародышевый мешок (ЗМ), является ключевым элементом системы размножения растений, в котором происходят процессы оплодотворения, развития зародыша и эндосперма. Осуществление этих событий и судьба следующего поколения зависят от структурно-функциональной организации зародышевого мешка.

Изучение изменчивости женских генеративных структур при экспериментально моделированных стрессах позволяет индуцировать такие явления, как гаплоидия, полиэмбриония, полиплоидия. Названные явления находят все более широкое практическое применение. Но немалое значение они имеют и в теоретическом плане, способствуя пониманию механизмов и закономерностей генеративного развития, определению размаха изменчивости зародышевых мешков в экстремальных условиях внешней среды, их нормы реакции у конкретных генотипов. Знания особенностей строения и изменчивости женских генеративных структур, вызванных экологическими факторами, позволяют точнее использовать информацию об их фенотипических вариациях в систематике и филогении.

Всестороннее изучение модификационной изменчивости женского гаметофита представляется достаточно актуальным, так как индуцированные изменения типичного строения ЗМ позволяют целенаправленно влиять на способ размножения культурных растений. Поэтому исследования, в которых анализируется реакция зародышевых мешков на экстремальные температурные воздействия на цитозембриологическом уровне, представляют большой интерес.

Цель настоящей работы заключалась в анализе морфологических и морфометрических особенностей зародышевых мешков у разных генотипов

табака и выявление зависимости их строения и размера от температурных условий развития.

В задачи экспериментальной работы входило:

- 1) определение спектра изменчивости зародышевых мешков у разных генотипов табака при оптимальных температурных условиях;
- 2) количественная и качественная оценка зародышевых мешков, развитие которых проходило при низкой температуре;
- 3) количественная и качественная оценка зародышевых мешков, развитие которых проходило при высокой температуре;
- 4) изучение влияния генотипа и температурного фактора на морфометрические показатели зародышевых мешков.

Структура и объем работы. Работа изложена на 63 страницах машинописного текста и включает 6 разделов: введение, обзор литературы, экспериментальную часть, заключение, выводы, список использованных источников, содержащий 62 наименования.

Научная новизна и значимость работы. Дана сравнительная характеристика структуры женского гаметофита 5 сортов и 2-х линий табака. Впервые проведено сравнение реакции женского гаметофита табака на экстремальные температурные условия в зависимости от генотипа. Показана универсальность качественных изменений в структуре ЗМ и морфометрических параметров при низкой и высокой температуре. Получена информация о диапазоне изменчивости числа клеточных элементов, клеточной дифференциации размера ЗМ у разных генотипов.

Основное содержание работы. Из литературных данных следует, что для растений *N. tabacum* L. оптимальными температурами для вегетативного роста, цветения и образования семян является диапазон температур 20-28°C. Поэтому ЗМ всех сортов и линий табака, сформировавшиеся с 1-ядерной стадии до зрелого гаметофита в условиях *in vitro* при температуре 25°C, послужили контролем для изучения влияния температуры на развитие и строение ЗМ.

В контроле у разных генотипов количество ЗМ нормального строения варьировало от 82 до 97 %. (рисунок 1). Наиболее высокое содержание типичных ЗМ обнаружено у линий БГ-4 и БГ-5 (97 и 96 %). Минимальное количество типичных ЗМ образовывалось у сортов Вирджиния и Приднестровский.

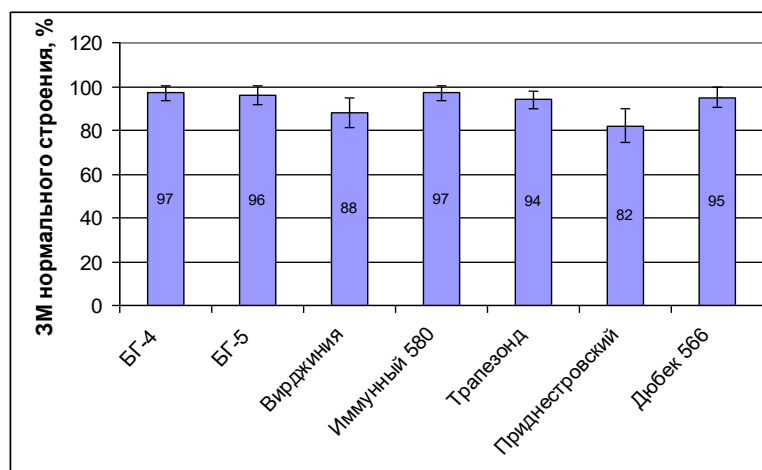


Рисунок 1 – Частоты зародышевых мешков нормального строения у разных генотипов табака при температуре 25°C

Нормальные ЗМ табака биполярны и содержат 7 клеток: 3-х клеточный яйцевой аппарат, центральную клетку и 3 антиподы. Яйцевой аппарат находится на микропиллярном полюсе ЗМ и состоит из яйцеклетки и 2-х синергид. Центральная клетка содержит два крупных гаплоидных полярных ядра или одно диплоидное вторичное или центральное. Ядра обычно располагаются рядом с яйцевым аппаратом и реже на полюсах или в центре (таблица 1). Исключение составляет сорт Приднестровский, у которого в 36% ЗМ полярные ядра располагаются на полюсах, а у 21% - в центре. Число ЗМ со слившимися полярными ядрами доминирует у всех генотипов за исключением сорта Приднестровский. Только в трех вариантах у 5-6% ЗМ наблюдали расположение центрального ядра в центре, а у линии БГ-5 – у антипод (2%).

При 25°C аномальные гаметофиты были представлены в основном ценоцитными ЗМ с числом ядер менее 7 (рисунок 2). Этот тип аномалий не обнаружен только у сорта Трапезонд. У четырех сортов формировались 7-8-

ядерные с аномальной клеточной дифференцировкой. У сортов Дюбек и Вирджиния обнаружены единичные многоядерные клеточные ЗМ.

Таблица 1 – Характеристика ЗМ нормального строения при оптимальной температуре развития

Линии, сорта	ЗМ нормального строения, шт.	ЗМ со следующими признаками, %						я/ п син.
		ПЯ не слились			ПЯ слились			
		у я/а	в центре	на полюсах	у я/а	в центре	у антипод	
БГ-4	100	37,0	6,0	12,0	38,0	6,0	0,0	1,0
БГ-5	95	12,6	2,1	6,3	69,5	6,3	2,1	1,1
Вирджиния	77	40,3	10,4	2,6	45,4	0,0	0,0	1,3
Иммунный 580	116	14,6	6,0	26,7	46,6	5,2	0,0	0,9
Трапезонд	66	33,3	9,1	15,1	42,4	0,0	0,0	1,5
Приднестровский	47	36,2	21,3	36,2	6,3	0,0	0,0	0,0
Дюбек 566	95	33,7	13,7	5,2	47,4	0,0	0,0	0,0

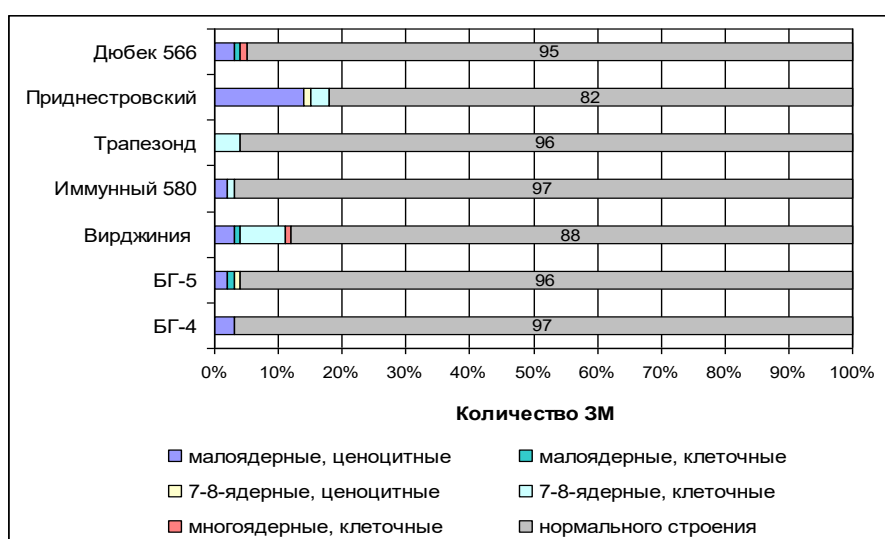


Рисунок 2 – Частоты типов ЗМ в завязях разных генотипов, развитие которых проходило при температуре 25°C

Таким образом, при оптимальной температуре (25°C) у изученных сортов и линий в большей части семязачатков формировались 8-ядерные ЗМ типичного строения, состоящие из двух синергид, яйцеклетки, центральной клетки с 2 полярными ядрами и трех антипод.

При температуре 10°C частота образования ЗМ нормального строения значительно снизилась по сравнению с контролем. У четырех генотипов их количество составило 33-40%, а у трех 2-12% (рисунок 3).

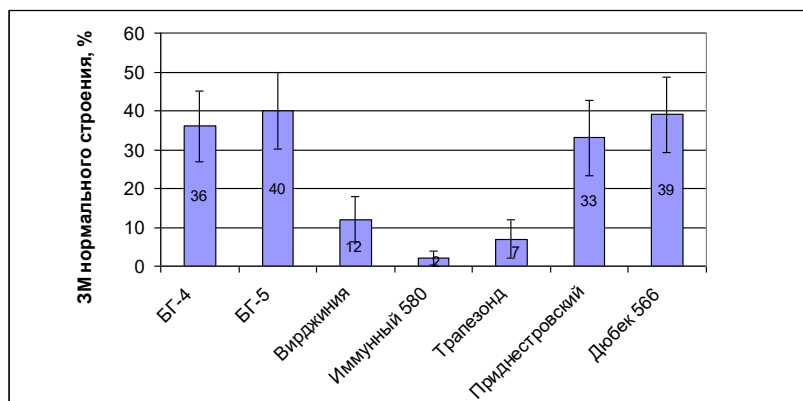


Рисунок 3 – Частоты ЗМ нормального строения у разных генотипов табака при температуре 10°C

Влияние низкой температуры на развитие ЗМ проявляется в угнетении митотических делений и цитокинеза в гаметогенезе, что приводит к образованию многочисленных ценоцитных малоядерных зародышевых мешков. Число ЗМ с незавершенным развитием, у разных генотипов варьировало от 60 до 91%. Остальные типы аномальных ЗМ встречались с низкой частотой (рисунок 4). В ЗМ типичного строения низкая температура препятствует слиянию полярных ядер и миграции халазального полярного ядра к яйцевому аппарату.

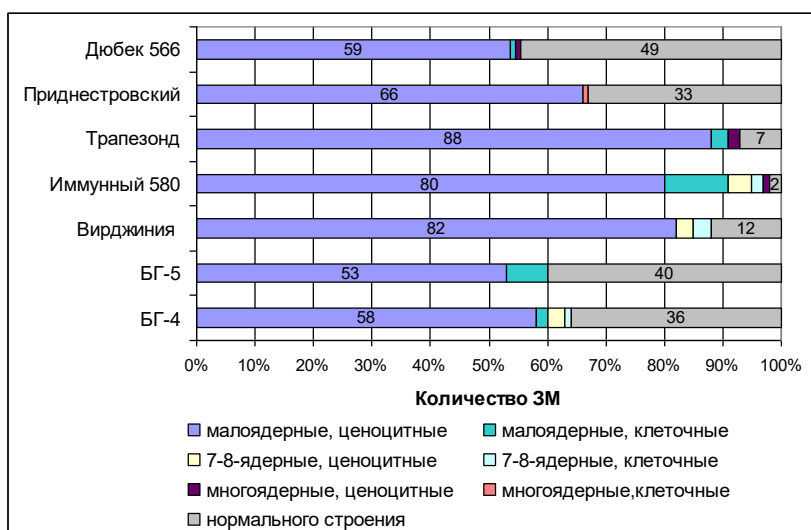


Рисунок 4 – Частоты типов ЗМ в завязях разных генотипов, развитие которых проходило при температуре 10°C

При температуре 37°C структура мешков в значительной степени зависит от генотипа. Количество ЗМ нормального строения варьирует у разных генотипов от 3 до 70% (рисунок 5). Наименьшее число типичных ЗМ при высокой температуре образуется у сорта Иммунный 580, а наибольшее у линии БГ-6. Действие высокой температуры на ЗМ нормального строения проявляется в подавлении слияния полярных ядер, но в отличие от низкотемпературного воздействия не слившиеся полярные ядра располагаются в основном не на полюсах, а у яйцевого аппарата.

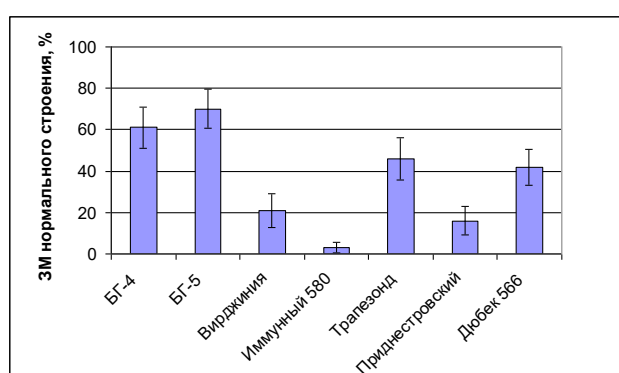


Рисунок 5 – Частоты ЗМ нормального строения у разных генотипов табака при температуре 37°C

При высокой температуре наблюдалось максимальное разнообразие типов аномальных ЗМ. Малоядерные ценоцитные мешки встречались с частотой от 6 до 66%. Специфика действия высокой температуры проявилась в индукции дополнительных митотических делений, что привело образованию многоядерных ценоцитных и клеточных ЗМ. Частота таких ЗМ у изученных форм варьировала – от 6 до 41%

Важной характеристикой женского гаметофита является его размер и размер клеток, входящих в его состав.

На основании результатов измерений длины и ширины в случайных выборках ЗМ пяти генотипов определены средние размеры трех типов ЗМ: остановившихся в развитии и содержащих от 2 до 6 ядер, зрелых зародышевых мешков нормального строения с 7-8 ядрами, многоядерных ЗМ и содержащих более 8 ядер.

Полученные данные свидетельствуют, что размеры ЗМ варьируют в зависимости от генотипа, температуры развития и степени развития ЗМ.

Сравнение размеров ЗМ у разных генотипов табака проводилось на ЗМ, развитие которых проходило при температуре 25°C. При нормальной температуре у разных сортов табака с частотой от 82 до 97 % развиваются дифференцированные ЗМ типичного строения.

Установлено, что некоторые сорта достоверно отличаются от других по длине и ширине ЗМ. Максимальные отличия зарегистрированы по длине, по ширине ЗМ более выровнены (рисунок 6).

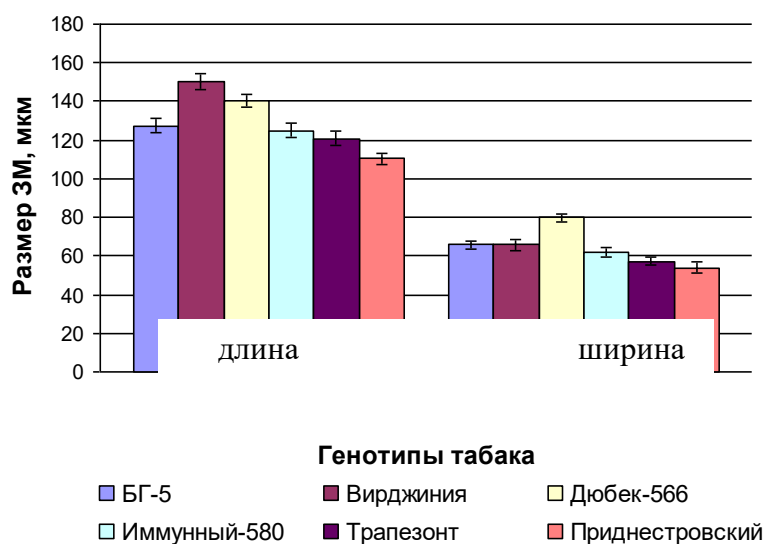
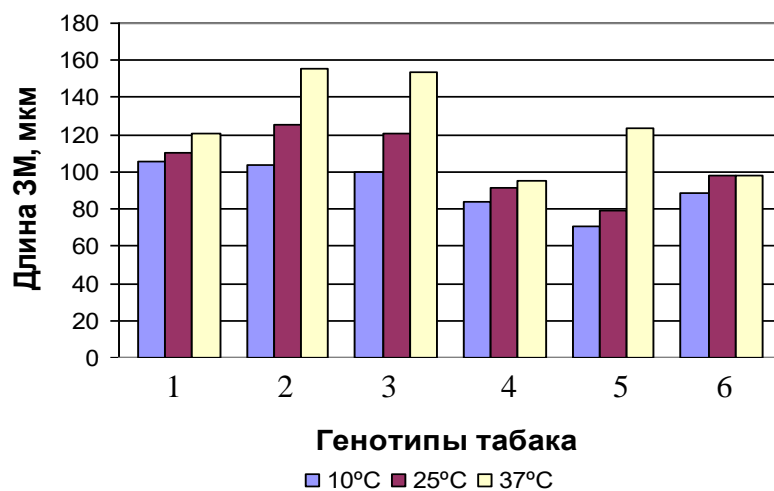


Рисунок 6 – Размер 7-8-ядерных зародышевых мешков нормального строения у разных генотипов табака, развитие которых проходило при температуре 25°C

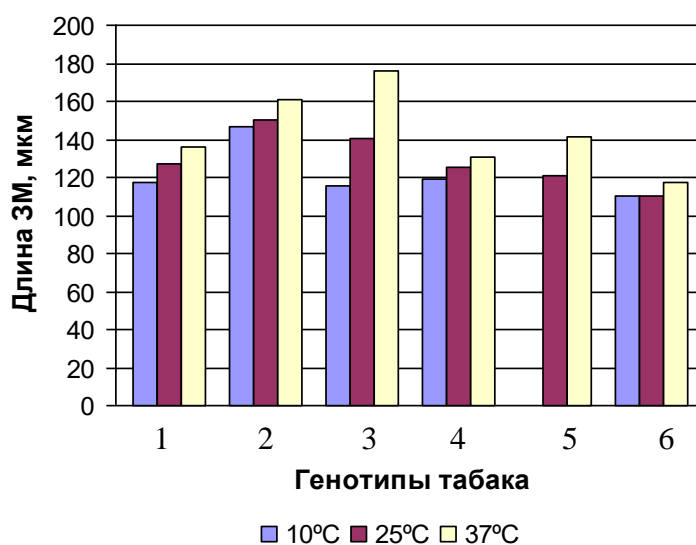
Повышение температуры развития ЗМ с 10 до 37°C приводит к увеличению размера ЗМ у всех генотипов. Минимальное увеличение длины 2-6-ядерных ЗМ (на 10 мкм) наблюдалось у сорта Приднестровский, а максимальное (на 53 мкм) у сорта Дюбек-566 (рисунок 7).

У сорта Дюбек-566 также наблюдалось максимальное увеличение размера ЗМ и у нормальных 7-8-ядерных ЗМ. Повышение температуры с 10 до 37°C увеличило длину ЗМ у данного сорта в среднем на 60,4 мкм (рисунок 8).



1 – БГ-5; 2- Вирджиния; 3 – Дюбек-566; 4 – Иммунный-580; 5 – Трапезонт; 6 – Приднестровский

Рисунок 7 – Длина 2-6-ядерных зародышевых мешков, сформировавшихся при разных температурах у разных сортов табака



1 – БГ-5; 2- Вирджиния; 3 – Дюбек-566; 4 – Иммунный-580; 5 – Трапезонт; 6 – Приднестровский

Рисунок 8 – Длина 7-8-ядерных нормального строения зародышевых мешков, сформировавшихся при разных температурах у разных сортов табака

Аналогичная тенденция зарегистрирована и при сравнении ширины ЗМ с разным количеством ядер, развитие которых проходило при разных

температурах. Наибольшая ширина у всех генотипов наблюдалась в высокотемпературном варианте, а наименьшая – в низкотемпературном.

Зависимость размера ЗМ от степени его развития определяли путем измерения ЗМ с разным числом ядер. На рисунке 9 и 10 представлены результаты анализа трех генотипов табака.

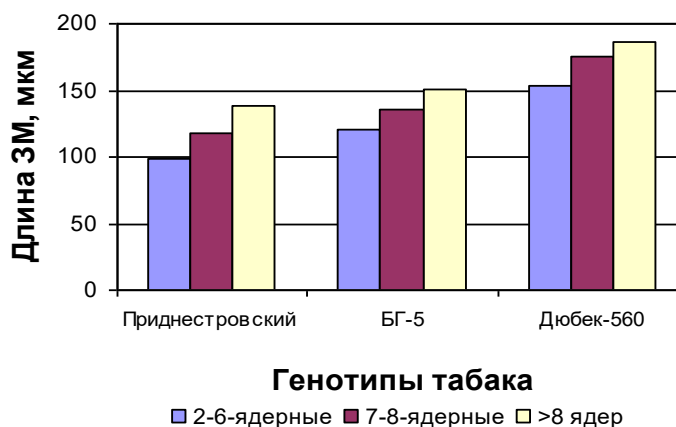


Рисунок 9 - Длина зародышевых мешков с разным числом ядер у трех сортов табака, развитие которых проходило при 37°C

Полученные данные свидетельствуют, что увеличение длины ЗМ сопровождается увеличением числа ядер в ЗМ. Многоядерные ЗМ характеризуются максимальной длиной, а малоядерные – минимальной. Ширина ЗМ изменяется аналогичным образом.

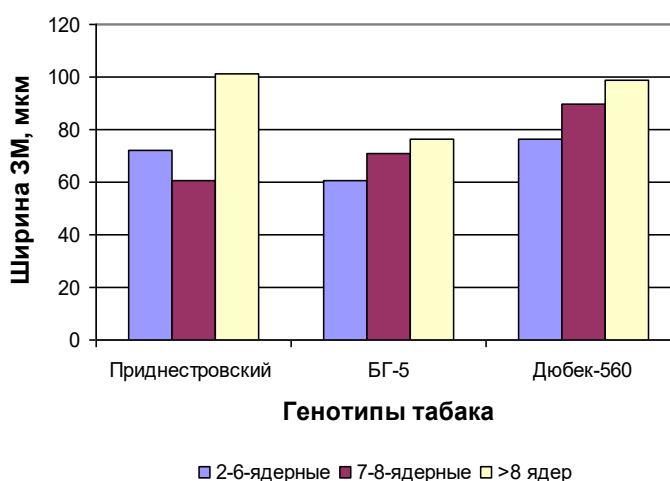


Рисунок 10 - Ширина зародышевых мешков с разным числом ядер у трех генотипов табака, развитие которых проходило при 37°C

Заключение. В ходе проведенного исследования получена информация о диапазоне и цитологических закономерностях изменчивости ЗМ у пяти сортов и двух линий табака. Показано, что морфологические вариации структурной организации ЗМ обусловлены изменениями в проявлении его основных признаков – числа клеточных элементов и клеточной дифференциации.

У всех изученных сортов и линий табака экстремально низкая температура (10°C) вызывала остановку развития ЗМ на ранних стадиях в значительной части семязачатков, а высокая температура (37°C) индуцировала дополнительные митотические деления и подавляла процесс заложения клеточных стенок. Высокая и низкая температуры нарушали также процесс дифференциации ЗМ. Спектр нарушений в развитии женского гаметофита сходен у разных сортов и линий табака, а частота возникновения разных типов аномалий в значительной степени определяется генотипом растений

Морфометрическое изучение зародышевых мешков показало универсальную реакцию ЗМ у всех шести исследованных генотипов табака: увеличение его размера с повышением температуры. В работе обсуждается возможность определенной связи между размером ЗМ и особенностями его строения.

Полученные данные показывают возможность целенаправленной модификации женского гаметофита растений экстремальными температурами. Выявленные изменения, индуцированные температурными условиями, представляют интерес для понимания механизмов развития ЗМ и могут быть полезны при решении ряда проблем цитозембриологии и, в частности, экологической эмбриологии.

ВЫВОДЫ

1. Развитие зародышевых мешков табака возможно при всех исследованных температурных режимах. При оптимальной температуре (25°C) у изученных сортов и линий в большей части семязачатков формируются 8-ядерные ЗМ типичного строения.
2. При нормальной температуре у разных генотипов формируется от 3 до 18 % ЗМ аномального строения. При 10°C доля ЗМ аномального строения возрастает до 30-97%, а при 37°C – до 60-91%.
3. Действие низкой и высокой температур на развитие ЗМ различается по морфологическому эффекту. Низкая температура вызывала остановку развития ЗМ на ранних стадиях, что приводило к образованию ценоцитных ЗМ с числом ядер менее восьми. Высокая температура индуцировала дополнительные ядерные деления в гаметогенезе и вызывала образование ценоцитных и клеточных ЗМ с числом ядер более 8.
4. Высокая и низкая температуры вызывали специфические изменения в дифференцировке клеток ЗМ с типичной структурой, влияя на расположение полярных ядер, их состояние и дифференциацию клеток яйцевого аппарата.
5. Спектр нарушений в развитии женского гаметофита сходен у разных сортов и линий табака, а частота возникновения разных типов аномалий в значительной степени определяется генотипом растений.
6. Морфометрическое изучение зародышевых мешков показало зависимость размера ЗМ от генотипа, температуры и числа ядер. У всех исследованных генотипов табака повышение температуры с 10 до 37°C на стадии гаметогенеза вызывает увеличение его размеров.
7. Таким образом, структурная организация зародышевых мешков может быть существенно изменена внешними факторами, влияние которых следует учитывать при диагностике систем размножения, в систематике и эмбриологии.

