

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

Кафедра генетики

**ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ МУЖСКИХ И ЖЕНСКИХ ГЕНЕРАТИВНЫХ
СТРУКТУР У ЛИНИИ КУКУРУЗЫ В47**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 4 курса 422 группы

Направления подготовки бакалавриата 06.03.01 Биология

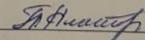
Биологического факультета

Ищенко Виктории Андреевны

Научный руководитель:

доцент, канд. биол. наук

15.06.22



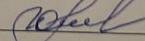
Т.А. Алаторцева

подпись, дата

Зав. кафедрой генетики:

док. биол. наук

15.06.22



О.И. Юдакова

подпись, дата

Саратов 2022

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

Кафедра генетики

**ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ МУЖСКИХ И ЖЕНСКИХ ГЕНЕРАТИВНЫХ
СТРУКТУР У ЛИНИИ КУКУРУЗЫ В47**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 4 курса 422 группы

Направления подготовки бакалавриата 06.03.01 Биология

Биологического факультета

Ищенко Викторией Андреевны

Научный руководитель:

доцент, канд. биол. наук

Т.А. Алаторцева

подпись, дата

Зав. кафедрой генетики:

док. биол. наук

О.И. Юдакова

подпись, дата

Саратов 2022

Введение. Половая дифференциация является одним из самых сложных и наименее изученных процессов онтогенеза растений, хотя история открытия пола у растений Камерариусом насчитывает уже несколько столетий. В настоящее время накоплен значительный материал о генетических факторах и факторах внешней среды, влияющих на формирование и переопределение пола. Определена роль органов и синтезируемых в них фитогормонов в определении признаков пола у двудомных растений и однодомных с раздельнополыми цветками. Однако имеющиеся сведения о контроле и механизмах проявления пола у растений значительно скромнее, чем требуется для их использования в прикладных целях, например, для разработки приёмов повышения урожайности сельскохозяйственных культур [1].

В связи с этим, исследования, направленные на изучение репродуктивной сферы у растений кукурузы, имеющих аномалии при половой дифференцировке, являются актуальными и практически значимыми.

Новизна данной работы связана с уникальностью изучаемой линии, обладающей одновременно «многопочатковостью» и способностью формировать мужские колоски и женских соцветиях – початках.

Цель работы: Оценить состояние репродуктивной сферы линии кукурузы В47.

Задачи исследования:

1. Провести морфометрическое изучение пыльников и пыльцы в женских и мужских соцветиях.
2. Исследовать качество пыльцы в метёлках и мужских колосках, образовавшихся на початках.
3. Провести сравнительный анализ морфологических и морфометрических показателей пыльцы в метёлках линий В47 и КМ.
4. Изучить строение зародышевых мешков линии В47.
5. Оценить возможность участия пыльцы из мужских колосков, образовавшихся на початках, в опылении завязей.

В работе всего 21 глава со следующими названиями: обозначения и сокращения, введение, обзор литературы, биологическая характеристика кукурузы, развитие генеративных структур кукурузы и органогенез, развитие и строение мужского гаметофита, развитие и строение женского гаметофита, нарушения в строении женского и мужского гаметофитов, переопределение пола, материал и методы, материал исследования, методы исследования, результаты исследования и обсуждение, изучение мужской генеративной сферы, размеры пыльников, качество пыльцы, форма и размеры пыльцевых зёрен, характеристика женского гаметофита у растений линии В47, заключение, выводы, список использованных источников.

Основное содержание работы. В качестве объекта исследования использовалась диплоидная линия кукурузы В47, переданная из ФГБНУ «Российский научно-исследовательский и проектно-технологический институт сорго и кукурузы». При опылении початков линии В47 пыльцой тетраплоидных растений обнаружено образование зерновок с тетраплоидными зародышами, что свидетельствует о наличии у данной линии нередуцированных зародышевых мешков [2].

Контролем служила диплоидная линия КМ (коричневый маркёр).

Исследуемые растения выращивали в поле по правилам селекционной работы (делянки 4 ряда по 15-20 растений). Сбор материала проводили во время цветения в июле-августе. Для исключения возможности опыления початки до появления рылец закрывали пергаментными изоляторами и фиксировали через 7-9 суток после образования рылец. Зрелую пыльцу собирали утром из растрескавшихся пыльников метёлок. Собранную пыльцу и завязи фиксировали и хранили в ацеталкоголе (1: 3).

Пыльцу окрашивали по следующей методике: пыльцу из фиксатора пипеткой переносили в пробирку объёмом 1,5-2 мл и промывали дистиллированной водой 5 минут; помещали в квасцы на 20 минут; промывали дистиллированной водой 10 минут; заливали ацетокармином на 1-2 часа;

окрашенную пыльцу переносили пипеткой на предметное стекло в каплю хлоралгидрата для осветления, препарат накрывали покровным стеклом.

Для приготовления препаратов зародышевых мешков использовали метод ферментативной мацерации, с последующей диссекцией семязачатков включающий следующие этапы: завязи промывали в проточной воде в течение 8-12 часов; обрабатывали 4% железоаммонийными квасцами 40 минут; промывали проточной водой 3-4 раза в течение 30 минут; помещали в ацетокармин на 16 часов; промывали в проточной воде 10-12 часов.

Для мацерации завязи помещали в цитазу на 2-5 часов. После цитазы завязи несколько раз промывали водой. Под бинокулярным стереоскопическим микроскопом с помощью микроигл из завязей сначала выделяли семязачаток, а затем – зародышевый мешок. Зародышевый мешок переносили в каплю глицерина и накрывали покровным стеклом.

Анализ препаратов пыльцы и зародышевых мешков проводили при использовании стереомикроскопа «Axiostar plus» фирмы «Zeiss» с увеличением 10×40. Фотографии получены при помощи фотокамеры Canon и обработаны программой Zoom Browser.

При статистической обработке полученных данных был применён графический метод сравнения средних арифметических для количественных показателей и условных средних для качественных показателей, а также метод построения вариационных кривых [3].

Результаты исследования и обсуждение. Характерной особенностью исследуемой линии кукурузы В47 является образование мужских колосков с пыльниками на початках и формирование дополнительных початков (многопочатковость). В большинстве случаев пыльники остаются внутри колосков и не растрескиваются, но в единичных початках пыльники находятся снаружи и растрескиваются. В случае формирования фертильной пыльцы возможно самоопыление початка под изолятором и образование семян.

Состояние мужской генеративной сферы линии В47 оценивалось в мужских и женских соцветиях по следующим показателям: размеры пыльников, размеры пыльцевых зёрен, качество пыльцы.

У линии В47 величина пыльников на мужских соцветиях варьирует от 4 до 9 мм, в зависимости от года.

Например, по результатам 2021 года – от 4 до 8 мм и по результатам 2020 года – от 5 до 9 мм. В 2021 году половина исследованной пыльцы (49,2 %) имела размер 6 мм. Реже всего встречались пыльники 4 мм (1,9 %). В 2020 году наибольшее количество пыльников имело величину 7-8 мм (суммарная частота встречаемости – 78,3 %), что соответствовало стандартным размерам пыльцы на мужских соцветиях у кукурузы линии КМ.

Наряду с початками нормального строения у растений линии В47 обнаруживались початки с мужскими колосками, пыльники и пыльца которых далее анализировалась.

Было установлено, что размеры пыльников на початках значительно меньше по размерам, чем на метёлках и могут варьировать от 1 до 5 мм. Из проанализированной выборки наибольшая частота встречаемости была характерна для размеров 1 и 4 мм, соответственно, 29,5% и 30,7%.

В связи с этим, мы склонны предположить, что аномально малые размеры пыльников, развившихся на женских соцветиях линии В47, обусловлены нетипичным местом их возникновения.

Следующий критерий – качество пыльцы. Из литературных источников, касающихся других злаков, например, пшеницы, известно, что степень фертильности пыльцы не зависит от линейных размеров пыльников [4]. В своей работе мы решили проверить, насколько этот вывод актуален для изучаемых линий кукурузы. Было установлено, что качество и величина пыльцевых зёрен линии В47, образовавшихся в пыльниках на метёлках (мужских соцветиях) и початках (женских соцветиях) значительно различается.

Пыльца в мужских соцветиях этой линии в основном имела нормальное строение и была фертильной и дефектные пыльцевые зёрна встречались с меньшей частотой. В 2020 году средняя частота образования аномальной пыльцы составила 21,5 %, в 2021 году – всего 7,3 %.

Основная часть аномальных пыльцевых зёрен представлена пустыми или остановившимися в своём развитии на стадии 1, 2 и 3-ядерной. Также встречалась «склеенная» пыльца.

На всех початках, кроме одного (имеющего в пыльниках окрашенную пыльцу), формировались пыльники, в которых практически вся исследуемая пыльца была аномальной.

Аномалии были представлены пустыми, одноядерными плазмолизированными, либо одноядерными неплазмолизированными пыльцевыми зёрнами, остановившимися в своём развитии. На одном початке были обнаружены окрашенные пыльцевые зёрна.

У контрольной линии кукурузы КМ, образующей пыльники только на метёлках, в основном формировалась пыльца нормального строения. Аномалии встречались редко. Частота встречаемости пустых пыльцевых зёрен, как следует из рисунка 1, в среднем составляли 0,7 % от общего числа проанализированных, что свидетельствует о высокой степени мужской фертильности у растений этой линии.

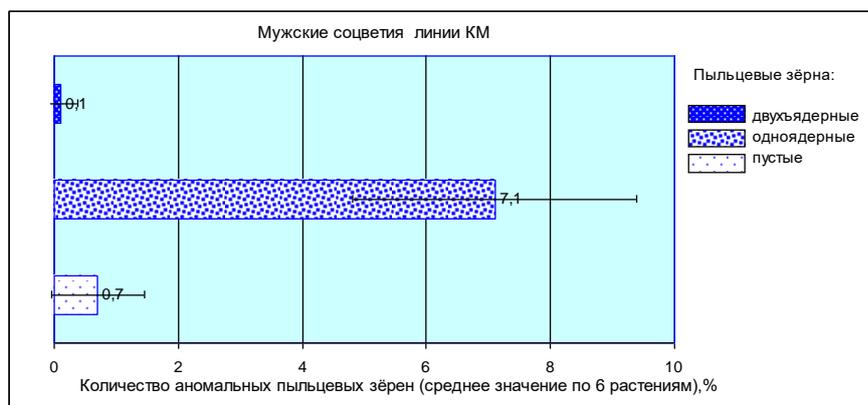


Рисунок 1 – Характеристика аномальной пыльцы в мужских соцветиях кукурузы линии КМ

Среди аномальных «непустых» пыльцевых зёрен чаще всего встречалась одноядерная пыльца (7,1%) и реже двухъядерная (0,1%). Эти значения могли варьировать в зависимости от растения: для пустой пыльцы от 0 до 1,2%, для одноядерной пыльцы – от 2,6 до 9,8%, для двухъядерной – от 0 до 0,8%.

Форма и размеры пыльцевых зёрен. Установлено пыльца может быть не только округлой, но и атипичной формы.

У линии В47 размеры (мужские соцветия) округлой пыльцы составляют от 44 до 127 мкм, пыльцы атипичной формы – от 65 до 133 мкм.

Для пыльцы линии КМ характерны размеры: округлой формы – от 65 до 122 мкм, атипичной формы – 72-110 мкм. У данных линий сходны не только размеры пыльцевых зёрен, но и сходна их частота встречаемости.

Таким образом, можно констатировать, что только пыльцевые зёрна, образовавшиеся у обеих линий на метёлках, имеют типичное для фертильной пыльцы строение и могут участвовать в опылении. В то время как, пыльца в пыльниках, появившихся на початках, обычно стерильна и не может быть причастна к завязыванию семян.

Характеристика женского гаметофита у растений линии В47. Основная часть проанализированных зародышевых мешков растений линии В47 (88 – 99%) имеет типичное для кукурузы строение и соответствует описаниям других авторов. Зародышевые мешки кукурузы нормального строения состоят из яйцевого аппарата, центральной клетки и антиподального комплекса.

В расширенной микропилярной части зародышевого мешка находится 3-х клеточный яйцевой аппарат, состоящий одной яйцеклетки и двух синергид грушевидной формы. В апикальной части синергид располагаются вакуоли, а в базальной части – ядро. Апикальные концы синергид опускаются внутрь зародышевого мешка, своими краями как бы охватывая яйцеклетку. Яйцеклетка расположена ниже синергид и вдаётся в центральную клетку. Ей свойственна полярность, отличная от таковой у синергид – ядро яйцеклетки располагается в

апикальной, а вакуоли – в базальной части клетки. Ядро у яйцеклетки обычно крупнее, чем ядра синергид.

Центральная клетка является самой большой и вакуолизированной клеткой зародышевого мешка. В центре клетки в густом тяже цитоплазмы, непосредственно под яйцевым аппаратом, расположены два полярных ядра. В части зародышевых мешков отмечено слияние полярных ядер с образованием вторичного диплоидного (центрального) ядра.

К суженной халазальной части центральной клетки прилегает антиподальный комплекс. В сформированном зародышевом мешке кукурузы антиподы продолжают активно делиться. Часто в антиподальных клетках происходят как митоз, так и эндомитоз, вследствие чего антиподы в одном зародышевом мешке различаются по величине, форме и строению ядер. У изученных растений число антипод варьирует от 6 до 42. Данные о количестве антипод представлены в таблице 1. Клетки антипод достаточно крупные и содержат 1-3 ядра. У одного растения обнаружены зародышевые мешки с одной и двумя разросшимися антиподальными клетками.

Таблица 1 – Число антиподальных клеток у кукурузы линии В47

№ растения	Год	Количество антипод	
		min	max
1	2020	10	34
2		6	30
1	2021	8	38
2		10	35
3		14	42

У 4-х растений отмечено образование синергидоподобных яйцеклеток (с базальным расположением ядра в клетке). Частота зародышевых мешков с нарушенной дифференциацией яйцевого аппарата варьировала у разных растений от 1 до 5%. У трёх растений наблюдалась дегенерация зародышевых

мешков типичного строения, что, вероятно, связано с достаточно поздней фиксацией завязей (9 суток после появления рылец).

Был проведён также анализ зародышевых мешков контрольной линии КМ, в ходе которого было установлено, что в целом её гаметофит имеет типичное строение и аномалии встречаются в незначительном количестве. Сравнение структуры женского гаметофита линии кукурузы В47 и КМ не выявило значимых различий в их строении.

Вышесказанное позволяет утверждать, что состояние зародышевых мешков растений кукурузы линии В47 типичное для кукурузы и не препятствует оплодотворению, развитию зародышей и зерновок. В случае формирования мужских цветков и пыльников на початках участие образовавшейся в них пыльцы в опылении завязей не исключается по причине возможного присутствия единичных нормальных пыльцевых зёрен.

В пыльниках мужских соцветий (метёлок) основная часть пыльцы является фертильной, в то же время образование крупных и мелких пыльцевых зёрен, а также пыльцы неправильной формы, может свидетельствовать об аномальном протекании мужского мейоза у линии В47.

Заключение. Подводя итог проведённому исследованию, следует сделать заключение о важности рассматриваемой проблемы изменения пола у растений, которая может иметь в перспективе не только теоретическое, но и практическое значение для селекционной работы, особенно при создании ценных гибридов, когда требуется строгий контроль опыления.

В качестве модельного объекта для исследования данного вопроса у однодомных раздельнополых растений может быть рекомендована линия кукурузы В47, обладающая «многопочатковостью» и непрогнозируемым образованием мужских колосков на женском соцветии.

Список использованных источников. 1 Хрянин, В.Н. Дифференциация пола у растений / Вестник Башкирского университета. – 2001. – Т. 1, № 2. – С. 170-173.

2 Цветова, М. И. Диплоидно-тетраплоидные скрещивания как инструмент для получения апомиктичных растений кукурузы / М. И. Цветова, Л. А. Эльконин, Ю. В. Итальянская // Доклады Российской академии сельхоз. наук, 2016. – Вып. 2. – С. 3-7.

3 Рокитский, П. Ф. Оценка достоверности статистических показателей. Биологическая статистика / П. Ф. Рокитский. – Минск: Высшая шк., 1973. – С. 95-96.

4 Рубец, В.С. Особенности цветения у линий яровой, мягкой пшеницы, полученных методом отдалённой гибридизации / В.С. Рубец, М.В. Ялтонская, В.В. Пыльнев // Сельскохозяйственная биология, 2013. – Вып. 1. – С. 102-106.

- 2 Цветова, М. И. Диплоидно-тетраплоидные скрещивания как инструмент для получения апомиктичных растений кукурузы / М. И. Цветова, Л. А. Эльконин, Ю. В. Итальянская // Доклады Российской академии сельхоз. наук, 2016. – Вып. 2. – С. 3-7.
- 3 Рокитский, П. Ф. Оценка достоверности статистических показателей. Биологическая статистика / П. Ф. Рокитский. – Минск: Высшая шк., 1973. – С. 95-96.
- 4 Рубец, В.С. Особенности цветения у линий яровой, мягкой пшеницы, полученных методом отдалённой гибридизации / В.С. Рубец, М.В. Ялтонская, В.В. Пыльнев // Сельскохозяйственная биология, 2013. – Вып. 1. – С. 102-106.

28