

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

Кафедра генетики

ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОГЕНЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ
У НЕКОТОРЫХ ЛИНИЙ КУКУРУЗЫ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

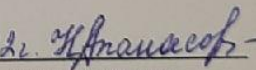
АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ
студента 4 курса 422 группы
направления подготовки бакалавриата 06.03.01 Биология
биологического факультета
Аткиной Маргариты Андреевны

Научный руководитель:
доцент, канд. биол. наук

15.06.22г. 
дата, подпись

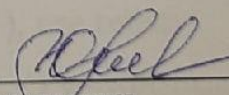
Т.А. Алаторцева

Научный консультант:
ведущий биолог лаборатории
биотехнологии
и репродуктивной биологии

15.06.22г. 
дата, подпись

Н.В. Апанасова

Зав. кафедрой:
док. биол. наук

15.06.22г. 
дата, подпись

О.И. Юдакова

Саратов 2022

Актуальность данной работы обусловлена необходимостью более быстрого создания новых качественных форм и сортов растений, чего можно добиться с помощью метода *in vitro*. Однако необходимо подобрать наиболее перспективные формы для данного метода.

Цель настоящей работы:

Оценить перспективы введения в культуру *in vitro* зрелых зародышей трёх генотипических форм кукурузы, производных партеногенетической линии.

В задачи эксперимента входило:

1. Изучить морфогенетические тенденции культивируемых зрелых зародышей трёх партеногенетических линий.
2. Сравнить реакцию зародышей исследуемых донорных линий кукурузы при культивировании на разных вариантах питательной среды.
3. Определить возможность использования зародышей разных линий кукурузы для получения регерационноспособных каллусных штаммов.

Краткая характеристика материалов:

Объектами для исследования являлись линии кукурузы с предрасположенностью к партеногенетическому развитию зародыша при задержке опыления:

1. АТ-ГПЛ .
2. Буковинская 217 – получена при скрещивании растений сортолинейного гибрида Буковинский 3 с пыльцевым родителем Коричневым Маркёром Чейза [61].
3. АТТМ – с генами y_1 , lg_2 , wx (результат скрещивания амфимиктичной линии ТМ и партеногенетической линии АТ-1), где гены:
 lg_1 – *liguleless leaf* (безлигульный лист) – (2 хромосома);
 wx – *waxy endosperms* (восковидный эндосперм) – (9 хромосома);
 y_1 – *yellow endosperm* (желтый эндосперм) – (6 хромосома);

Работа изложена на 54 страницах машинописного текста и включает в себя введение, 3 главы с 3 таблицами, 14 рисунками и 2 формулами и выводы. Список использованных источников насчитывает 62 наименования, из которых 46 на русском и 16 на иностранном языке.

Обзор литературы.

В данной главе рассматриваются литературные источники, посвященные морфогенезу, включая ранние исследования по данной теме. Рассматриваются типы эксплантов и питательных сред, фитогормоны, условия выращивания и ранее изученные генотипы.

Материалы и методы

В данной главе описаны используемые в работе генотипы, среды и методы исследования.

Достоверность полученных результатов оценивалась по критерию Стьюдента, применительно к альтернативному распределению для качественных показателей [1].

Результаты исследования

Изучение спектра морфогенеза в культуре зрелых зародышей кукурузы.

В ходе наблюдения за культивируемыми зародышами было установлено, что реакция эксплантов разных донорных линий в одинаковых условиях во многом идентична. Наличие или отсутствие в питательной среде ауксина 2,4 – Д являлось доминирующим фактором, определяющим направление морфогенеза. В присутствии 2,4-Д, зародыши прорастают, но при этом происходит ингибирование корнеобразования.

В результате растения формируются без корней. На поверхности колеоптиле или от самого зародыша в этом случае появляются глобулярные структуры, которые затем могут формировать либо ризогенный каллус серого или белого цвета, либо жёлтый морфогенный.

Ризогенный каллус мог увеличиваться в объёме, но при этом никаких⁴ новообразований, кроме корней, в нём не появлялось, даже при последующем пассировании. Со временем он ослизнялся и некротизировал.

Жёлтый, глобулярный каллус обладал тенденцией к регенерации растений, но для этого требовалась пересадка на питательную среду другого состава (с заменой 2,4-Д на другие фитогормоны).

На безгормональной среде развитие зародышей всех исследуемых донорных линий происходило по обычной схеме: сначала появлялись корешок и coleoptile, а затем и настоящие листья.

Одновременно с прорастанием зародыша в области щитка мог появиться раневой каллус, пролиферация которого сопровождалась иногда слабым ризогенезом. Кроме того, было замечено, что 2,4 –Д оказывал легкий тормозящий эффект на прорастающий зародыш. В присутствии этого ауксина зародыши обычно прорастали медленнее, чем на безгормональной среде.

Реакция зародышей разных линий кукурузы в зависимости от состава питательной среды

Согласно результатам зародыши при ингибировании корнеобразования происходит только на средах, содержащих 2,4 –Д в любой концентрации. Значимых различий по частотам проявления этого признака на указанных вариантах (варианты среды: №2, №3, №5, № 6) не обнаружено.

Ризогенный каллусогенез имел место у этой линии на всех средах, за исключением безгормонального варианта №1, где отсутствовали сахара. Несмотря на варьирование частоты проявления этого признака на разных вариантах питательной среды, статистически значимых различий не было установлено.

Частота индукции морфогенного каллуса у линии Буковинская 217, также варьировала на всех вариантах питательной среды (кроме безгормональных № 1 и № 4) от 10,8 % (вариант №3) до 37,0 %, (вариант №6) при достоверном преимуществе среды №6.

Зародыши кукурузы линии АТ-ГПЛ, эксплантированные на⁵ аналогичные варианты питательной среды, проявляли сходную реакцию. Различия касались только частоты индукции морфогенетических процессов. Так, проростки без корней развивались на вариантах, содержащих фитогормон 2,4 –Д, или вероятность их появления была низкой – по 1,1% (варианты №1 и №4). Частота их развития на средах с 2,4-Д составляла от 37,3% до 41,8 % (варианты №2 и №3, соответственно).

Ризогенный каллусогенез был отмечен на всех средах, кроме безгормональных вариантов (№1 и №4). Частота его проявления в присутствии 2,4- Д варьировала от 2,3% до 8,7%. Наиболее интенсивно развивался этот тип каллуса на варианте №6 (сахароза – 2,0% и 2,4-Д- 2,0 мг/л).

Развитие морфогенного каллуса, как и ризогенного, было отмечено только при наличии в среде 2,4-Д.

Вероятность его индукции у зародышей линии АТ-ГПЛ был несколько ниже, по сравнению с линией Буковинская 217, и колебалась от 1,1 % (варианты среды №2 и №3) до 3,3% (вариант №6). Математическая обработка не выявила статистически значимых различий между этими величинами.

При культивировании зародышей кукурузы линии АТТМ была выявлена та же закономерность в направлениях морфогенеза, как и у двух других донорных форм (линии Буковинская 217 и АТ-ГПЛ).

Формирование проростков без корневой системы было возможным только на средах в присутствии ауксина 2,4-Д (варианты №2, №3, №5, №6). На безгормональных средах (№1 и № 4) из зародышей развивались проростки с корнями. Частота развития растений без корней варьировала от 43,0% (вариант № 2) до 54,5% (вариант №.5). Достоверных различий между гормональными средами в индукции данного признака не было выявлено.

Индукция ризогенного каллуса при культивировании зародышей линии АТТМ наблюдалась на всех средах, но с разной частотой. Минимальные

частоты – 1,1 % и 1,2 % были отмечены на безгормональных вариантах,⁶ соответственно №1 и №4 и достоверные самые высокие – от 16,7 % до 22,0% на средах №3, №5 и №6.

Формирование морфогенного каллуса у зародышей линии АТТМ происходило только на средах с 2,4- Д. В этом отношении все названные варианты питательной среды оказались в равной степени благоприятными. Частота индукции этого типа морфогенеза варьировала в зависимости от состава среды от 7,5% (вариант №3) до 20,0 % (вариант №6).

Исходя из выше сказанного, следует, что тип морфогенетических реакций у эксплантированных зародышей определяется в большей степени наличием в среде ауксина 2,4 – Д, который ингибирует процесс корнеобразования и стимулирует каллусогенез. Наличие в среде ауксина в максимальном количестве – 2,0 мг/л благоприятно сказывается на частоте проявления каллусогенеза у эксплантов всех донорных форм.

Результаты индукции морфогенного каллусогенеза у зародышей разных линий кукурузы

Учитывая важность индукции морфогенного каллуса для получения регенерантов, был проведён дополнительный сравнительный анализ частоты проявления этого признака в зависимости от генотипа донора и состава питательной среды.

Из полученных результатов следует, что доминирующей по тенденции к развитию морфогенного каллуса из этих трех линий оказалась Буковинская 217. Многократная пересадка морфогенного каллуса на свежую среду, позволила создать каллусные штаммы, из которых только у линии Буковинская 217 сохранялся исходный тип каллуса и обладал тенденцией к регенерации растений. Каллусный штамм линии АТТМ в дальнейшем преобразовался в неморфогенный и некротизировал.

ВЫВОДЫ

- 1 Зародыши всех исследованных форм кукурузы обладают идентичными морфогенетическими тенденциями. Возможно их прорастание и формирование каллусной ткани ризогенного и морфогенного типов.
- 2 Направление морфогенетических реакций у эксплантированных зародышей определяется наличием в среде ауксина 2,4 – Д, который ингибирует при развитии проростков процесс корнеобразования и стимулирует каллусогенез.
- 3 Присутствие в среде ауксина в максимальном количестве – 2,0 мг/л благоприятно сказывается на частоте проявления каллусогенеза у эксплантов всех донорных форм.
- 4 Из трёх исследованных генотипических форм кукурузы зародыши линии кукурузы Буковинская 217 и АТТМ обладают более выраженной тенденцией к развитию морфогенного каллуса.
- 5 Перспективной для создания каллусных штаммов, обладающих способностью к регенерации растений является линия Буковинская 217.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

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

