

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра генетики

**ОЦЕНКА ГАПЛОИНДУЦИРУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ
ЛИНИИ КУКУРУЗЫ ЗМС-II**

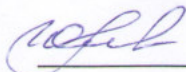
АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студента 4курса 421 группы
Направления 06.03.01 Биология
Биологического факультета
Чиркова Никиты Владимировича

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

 13.06.17 О.И. Юдакова

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

 13.06.17 О.И. Юдакова

Саратов 2017

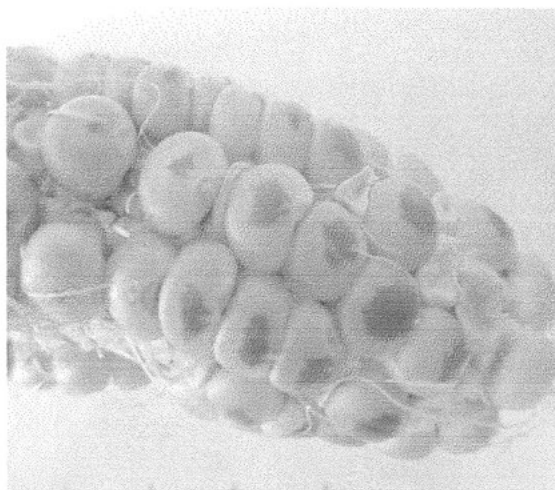
Введение. Гаплоидия (греч. *гапλος* – простой, одиночный) – это явление возникновения особей с гаметическим (половинным) числом хромосом. Главным практическим значением гаплоидии является возможность быстрого создания гомозиготных линий путем диплоидизации гаплоидов. Для массового получения гаплоидов эффективно используются линии с гаплоиндуцирующей способностью. Гаплоиндуцирующая способность описана у целого ряда линий кукурузы, в том числе саратовской (КМС, ЗМС-8) и краснодарской (ЗМК1, ЗМК1У, ЗМК3 и др.) селекции и др. [1]. Вместе с тем, создание новых гаплоиндукторов до сих пор является актуальной задачей. Это обусловлено необходимостью повышения эффективности гаплоиндукции, адаптации к различным географическим и климатическим условиям, срокам цветения материнских форм и др.

На основе линии ЗМС-8 в результате многолетнего отбора в отделе генетики и репродуктивной биологии УНЦ «Ботанический сад» Саратовского государственного университета имени Н.Г.Чернышевского была создана гаплоиндуцирующая линия ЗМС-П, которая в отличие от исходной формы имеет не только доминантные маркерные гены окраски эндосперма и зародыша, но и маркерные гены, контролирующие пурпурную окраску стеблей и листьев. Эти признаки позволяют быстро и точно отбирать гаплоиды как среди зерновок, так и среди проростков и взрослых растений. Целями проведенного исследования была оценка эффективности гаплоиндукции линии ЗМС-П при опылении ее пылью различных материнских форм кукурузы. Для реализации данной цели были поставлены и решены следующие задачи: 1. Получить гибридное потомство от скрещивания различных линий и форм кукурузы с линией ЗМС-П. 2. Проанализировать полученные гибридные семена и по морфологическим признакам провести отбор семян с предполагаемым гаплоидным зародышем. 3. Провести цитогенетический контроль пloidности отобранных предполагаемых гаплоидов. 4. Определить частоту индукции гаплоидии у различных линий и форм кукурузы.

зерновки в этом случае будут иметь маркированный диплоидный зародыш и маркированный эндосперм, а гибридные зерновки с гаплоидным зародышем будут иметь маркированный эндосперм и немаркированный зародыш.



Рисунок 1 - Растения линии ЗМС-П



такие зерновки присутствуют на гибридных початках наряду с гаплоидными зерновками, и также являются результатом нарушения процесса оплодотворения при опылении пылью гаплоиндукторов.

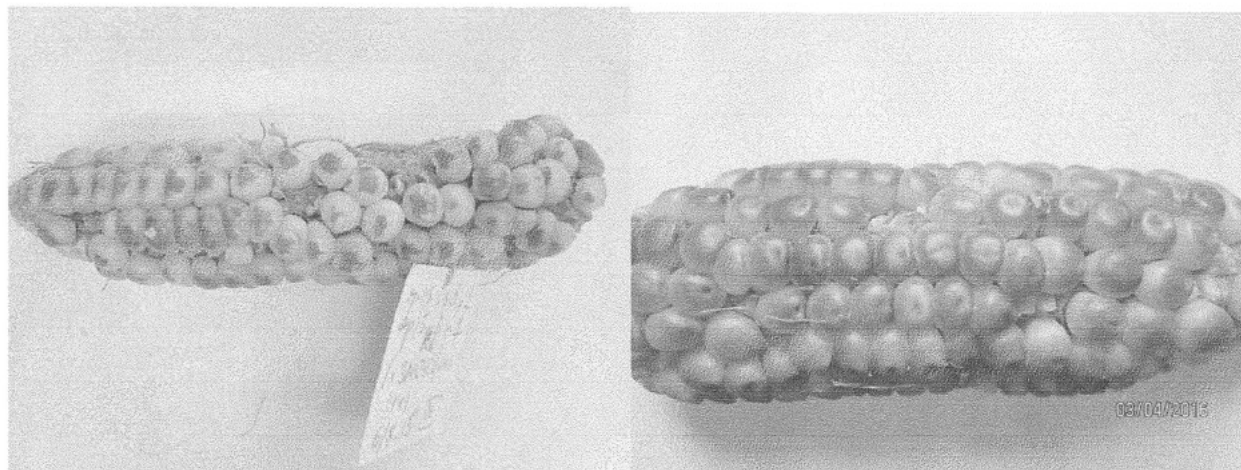


Рисунок 3 - Гибриды F1 (опылитель – гаплоиндуцирующая линия ЗМС-П)

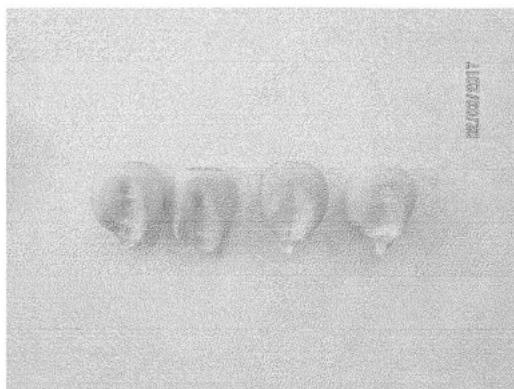


Рисунок 4 - Гибридные зерновки: слева - с маркированным зародышем (диплоиды);справа – с немаркированным (гаплоиды).

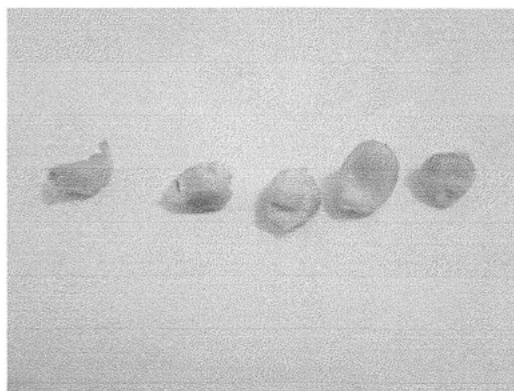


Рисунок 5 - Дефектные зерновки гибридного початка

Полностью гибридные зерновки, предполагаемые гаплоидные, и совсем немаркированные прорастивались до стадии 3х-4х листьев для установления частоты гаплоиндукции. Перед прорастиванием сухие зерновки замачивались в воде на ночь, затем промывались чистой водой и выкладывались на стекло, покрытое фильтровальной бумагой. Стекло с семенами помещалось в эмалированные кюветы. На дно кюветы наливалась вода до верхнего края стекла для поддержания необходимой влажности, сверху кювета накрывалась алюминиевой крышкой (рисунок 6). Дорастивание проростков до стадии трех листьев осуществлялось в открытых кюветах. Проростки размещались по краю кюветы, корни покрывались фильтровальной бумагой, смоченной водой (рисунок 7). Отбор гаплоидов среди проростков осуществлялся с помощью морфометрического метода. Предполагаемые гаплоиды имели почти вдвое меньшие по сравнению с диплоидными проростками размеры побега и корешка. На стадии трех листьев, первый лист гаплоидных растений был укороченным и широким. К тому же, гибридные проростки имели окрашенный стебель, в отличие от гаплоидных, стебель которых был неокрашенным. Пloidность проростков подтверждалась цитологическим методом (приготовлением давленных препаратов корешков) по стандартным методикам (рисунок 8).

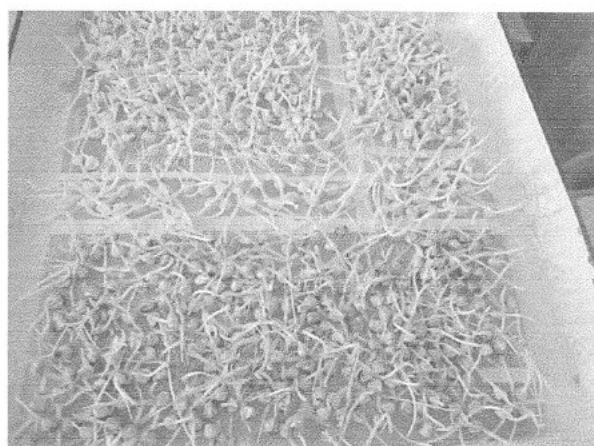


Рисунок 6 - Гибридные зерновки на стадии проростков

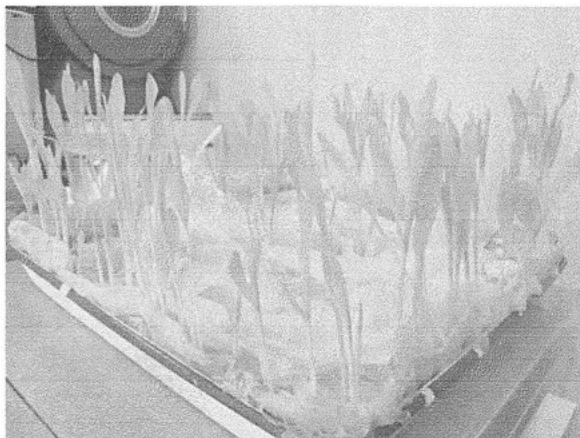


Рисунок 7 - Проростки гибридов на стадии трех листьев



Рисунок 8 - Препараты давленных корешков проростков кукурузы: слева- диплоид $2n=20$; справа- гаплоид $1n=10$.

Для определения частоты гаплоиндукции велся подсчет всех классов зерновок (таблица). Частота гаплоиндукции определялась как отношение количества гаплоидных проростков к общему количеству проанализированных проростков гибридного потомства, выраженное в процентах.

Гаплоиды у протестированных вариантов завязывались с разной частотой (от 0 до 10,84% гаплоидов на початок) (таблица). Причем, наблюдалось варьирование частоты гаплоидии не только между линиями, но и внутри линий. Наибольшая частота гаплоидов на один початок

зарегистрирована у гибрида Марух 390. Вместе с тем, у некоторых растений на початках гаплоиды не завязывались.

Таблица 1- Результаты анализа проростков гибридов F_1 , полученных от опыления разных материнских форм линией-гаплоиндуктором ЗМС-П

Вариант	№ початка	Зерновки					Частота гаплоиндукции, %
		с диплоидным зародышем, шт.	с гаплоидным зародышем		дефектные	общее количество зерновок с зародышем	
			предполагаемым, шт.	истинным, шт.			
Гибриды							
ЕС Марко	1	160	11	11	5	171	6,43
ЮВ 193	2	32	7	4	2	39	10,25
Диана МВ	1	127	5	5	8	132	3,78
	2	39	1	1	7	40	2,50
Марух 390	1	69	14	9	6	83	10,84
Сорта							
Ранняя Лакомка	1	135	8	7	11	143	4,89
	2	122	27	10	4	149	6,71
	3	60	5	3	18	65	4,61
	4	97	2	2	24	99	2,02
	5	173	0	0	0	173	0,00
Лакомка	1	184	0	0	35	184	0,00
	2	400	11	11	15	411	2,67
Алина	1	262	5	5	18	267	1,87

	2	98	34	13	21	132	9,84
	3	230	11	10	0	241	4,15
Цукерка	1	246	16	11	0	262	4,20
	2	50	2	2	0	52	3,85
Линии							
Ух 50	1	90	11	7	0	101	6,93
	2	78	0	0	6	78	0,00
	3	220	31	15	8	251	5,97
	4	89	12	8	3	101	7,92
	5	202	16	9	8	218	4,12

Заключение. Гаплоиндуцирующая способность линии ЗМС-П проявилась на всех протестированных материнских формах. Наиболее эффективной она оказалась в скрещиваниях с гибридом Марух 390. В связи с тем, что у гибридов со всеми материнскими формами хорошо окрашивались в пурпурную окраску гибридный зародыш и эндосперм зерновки, к проанализированным гибридам, сортам и линиям можно применять метод генетического маркирования. Таким образом, линию-гаплоиндуктор ЗМС-П можно использовать для массового получения гаплоидов у протестированных материнских форм для ускоренного создания на их основе новых гомозиготных линий кукурузы.

Список использованных источников

- 1 Тырнов, В. С. Методы диагностики гаплоидов у покрытосеменных растений: учеб.-метод. пособие для студентов и аспирантов биол. фак. / В.С. Тырнов. Саратов: изд-во Саратов. ун-та, 2003. 28 с.
- 2 Атабекова, А. И. Цитология растений / А.И. Атабекова, Е.И. Устинова. 4-е изд., перераб. и доп. М.: Агропромиздат, 1987. 246 с.

- 3 Хохлов, С. С. Гаплоидия у покрытосеменных растений. В 2 ч. Ч. 1. / С. С. Хохлов, Е. В. Гришина, М. И. Зайцева, В. С. Тырнов, Н. А. Малышева-Шишкинская. Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 1970. 137 с.
- 4 Сое, Е. Н. A line of maize with high haploid frequency / Е. Н. Сое. Amer. Nat., 1959. Vol.93. P.381-382.
- 5 Гришина, Е. В. Получение гаплоидов у кукурузы при воздействии химическими мутагенами и физиологически активными веществами / Е. В. Гришина, И. М. Зайцева // Сб. Апомиксис и цитозмбриология растений. Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 1968. С. 65-68.
- 6 Тырнов, В. С. Индукция высокой частоты возникновения матроклиных гаплоидов у кукурузы / В. С. Тырнов, А. Н. Завалишина. Докл. АН СССР, 1984. № 3. С. 735-738.
- 7 Rober, F.K. In vivo induction in maize — performance of new inducers and significance of doubled lines in tybrid breeding. / F. K. Rober, G. A. Gordillo, H.H. Geiger. Maydica, 2005. Vol.50. P. 275-283.
- 8 Юдакова, О. И Методы исследования репродуктивных структур и органов растений : учеб.-метод. пособие для студентов биол. фак. / О.И. Юдакова, О.В. Гуторова, Ю.А. Беяченко. Саратов : изд-во Сарат. ун-та, 2012. 44 с.