

ЮДАНОВА¹ С.С., ПОЗНЯК^{1,2} С.И., МАЛЕЦКАЯ¹ Е.И.

¹ *Институт цитологии и генетики СО РАН,*

Россия, 630090, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10; e-mail: sonia_y@ngs.ru

² *Новосибирский Государственный Аграрный Университет, МСХ РФ,*

Россия, 630039, Новосибирск, ул. Добролюбова, 160

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ГОДА НА ЗАВЯЗЫВАЕМОСТЬ АГАМОСПЕРМНЫХ СЕМЯН И ПАРТЕНОКАРПИЧЕСКИХ ПЛОДОВ У САХАРНОЙ СВЕКЛЫ

Возникновение семян без участия пыльцевых зерен обозначают терминами “однородительская”, “апозиготическая” или “агамоспермная” репродукция. На цветоносных побегах свеклы образуется огромное, исчисляемое тысячами, число цветков (или соцветий-клубочков). Развитие плода (плодоили карпогенез) из тканей неоплодотворенного цветка называют партенокарпией. Эмбриогенез семени как при однородительской, так и двуродительской репродукции схожи. Цитоэмбриологические механизмы репродукции семян при апозиготии у свеклы включают: а) соматическую (нуцеллярную) эмбрионию — развитие зародыша из соматических клеток цветка; б) генеративную эмбрионию — развитие зародыша в закрытом цветке из клеток зародышевого мешка [1, 2, 3].

Как показали наблюдения, уровень семенной продуктивности пыльцестерильных растений при выращивании без опылителей сильно варьирует, однако в среднем этот уровень вполне сравним с пыльцефертильными растениями [3, 4, 5]. Внутривидовая вариабельность числа плодов (и семян) на растениях амбивалентный признак: он детерминируется генотипом растений, а также автономными процессами самоорганизации, происходящими в тканях растений при морфогенезе в ходе вегетации растений (эпигенетическая изменчивость), которые напрямую от генотипа не зависят.

Цель настоящей работы — провести сравнительный анализ изменчивости долей агамоспермных семян и партенокарпических плодов, получаемых при однородительском размножении сахарной свеклы в различные годы и в смежных поколениях.

Материал и методы

Материалом для исследования послужили: 1) подлинная, созданная на основе пыльцестерильной линии мсСОАН-5 с S-типом цитоплазмы селекции лаборатории популяционной генетики ИЦиГ СО РАН (мсСОАН-5-А-пА6)_{аз}-35А и 2) потомство этой подлинной, полученное при однородительской репродукции — (мсСОАН-5-А-пА6)_{аз}-35А-34А. В дальнейшем при описании результатов наблюдений будем использовать сокращенное обозначение “35А” и “35А-34А” соответственно.

Методика апозиготической семенной репродукции заключается в выращивании пыльцестерильных растений на изолированном участке [3,4]. У таких растений во время цветения нередко наблюдается мультивидуальная¹

¹ “мультивидуум” — полисистема, составленная из множества повторяющихся единиц, реализующих собственные программы индивидуального развития. Растительный организм состоит из множества фито- или метамеров (субиндивидов), каждый из которых реализует собственную программу индивидуального развития [6].

изменчивость: на цветоносных побегах закладывается множество цветков, одна часть которых формирует полностью дефектную пыльцу ($mc0$ и $mc1$), а другая часть — полуфертильную пыльцу ($mc2$). Для создания беспыльцевого режима на участке в период бутонизации и ежедневно во время цветения у всех растений определяют фенотип пыльцы. Растения с полуфертильной пыльцой ($mc2$) удаляют с поля и они не участвуют в размножении. Удаление таких растений требует чистота эксперимента, хотя наличие небольшого числа $mc2$ -растений не может оказать влияния на формирование семян у пыльцестерильных растений. В норме для реализации перекрестного оплодотворения требуется, чтобы на рыльце каждого цветка попало и проросло до 300–400 пыльцевых зерен [7]. “Многие исследователи..., работавшие с разнообразными растениями, показали, что единичные пыльцевые зерна часто совсем не прорастают на рыльцах, а если и прорастают, то обеспечить нормальное течение процесса оплодотворения не могут” [8, с. 195]. Говоря другими словами, оплодотворение у растений представляет собой кооперативный (синергетический) процесс с непременным участием большого числа пыльцевых зерен и пыльцевых трубок. Поэтому, даже если не проводить в поле выбраковки $mc2$ растений, то достаточного числа пыльцевых зерен, необходимого для осуществления перекрестного оплодотворения эти растения произвести не в состоянии.

В течение 4 лет (2004–2006 гг., 2008 г.) у растений образца “35А” проводили изучение семенной продуктивности при однополой (апоизоготической) репродукции. Такую же работу проводили с образцом “35А-34А” в 2006 и 2008 гг.

Определение доли партенокарпических плодов оценивали выборочным методом, проращивая их в чашках Петри (по 100 шт. от каждого растения). Плоды промывали в проточной воде (2 сут.), затем помещали в термостат на проращивание ($T=25$ °C). Первый подсчет проросших плодов проводили в конце 2-х суток после закладки в термостат, окончательный — на 10-е сутки. Плод, давший хотя бы один нормальный проросток, относили к группе агамоспермных. Плоды, не проросшие в течение 10 дней — к партенокарпическим.

Статистические методы. По каждой выборке находили средние геометрические (y) и их ошибки (m). Использование средней геометрической вызвано тем, что “число плодов на растениях” — признак счетный и в каждой выборке наблюдается очень большой разброс значений. Сравнение уровня семенной продуктивности проводили с помощью t -критерия Стьюдента [9].

Доли агамоспермных и партенокарпических плодов в семенных партиях сравнивали с нуль гипотезой, согласно которой процессы эмбрио- и карпогенеза независимы и реализуются случайным образом. В этом случае на побегах два типа плодов (агамоспермных и партенокарпических) должны встречаться в пропорции 1:1. При сравнении доли партенокарпических плодов в семенной партии (p) с нуль-гипотезой ($p_0=50\%$) u -критерий Фишера

рассчитывали по формуле $u = |\varphi - \varphi_0| \sqrt{n}$, а при сравнении двух семенных партий — $u = |\varphi_1 - \varphi_2| \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}}$, где $\varphi = 2 \arcsin \sqrt{p}$, n — объем выборки [9].

Результаты и обсуждение

В таблице представлены наблюдения за семенной продуктивностью у образцов “35А” и “35А-34А”, полученные в 2004–2008 гг. Проведено сравнение этих данных с нуль-гипотезой, согласно которой процессы эмбрио- и карпогенеза независимы и реализуются случайным образом (столбец U -критерий “1:1”). Как следует из представленных данных, только в одной из шести семенных партий соотношение двух типов плодов соответствовало пропорции 1:1, т.е. образование партенокарпических плодов и плодов с агамоспермными семенами на побегах не является случайным событием. Это наблюдение находится в соответствии с результатами анализа серийных последовательностей двух типов плодов на побегах свеклы, проведенных нами ранее. “Неслучайность возникновения ассоциаций двух типов плодов на побегах можно связать с действиями сигналов (или их отсутствием), распространяемых от восходящих субиндивидов к нисходящим... Гибель зародышевого мешка в неоплодотворенном цветке формирует бессемянный плод и выше расположенный цветок не получает индуктивного “сигнала”, в нем реализуется сценарий гибели зародышевого мешка, как и в нижележащем цветке: в этом случае на побеге рядом с одним пустым плодом возникает второй, затем третий и т.д. Чтобы прервать серию бессемянных плодов в очередном цветке необходимо спонтанное или индуцированное возникновение партеногенетического эмбриона, чтобы от него вновь исходил индуктивный “сигнал”, запускающий процесс партеногенеза в очередном цветке...” [6].

Следовало бы предположить, что в одном и том же материале в различные годы выращивания уровень семенной продуктивности и доля партенокарпических плодов в семенных партиях не должны существенно различаться. Наблюдения же за образцом “35А” в течение 4-х лет свидетельствует об обратном. Показатель “число плодов на одно растение” год от года возрастал: 1896 шт.— 2004 г., 3331 шт.— 2005 г., 4844 шт.— 2006 г. и 6805 шт.— 2008 г. Статистическое сравнение между вариантами опыта свидетельствует о достоверности различий в пяти случаях из шести: $t_{2004/2005} = 2,20^*$; $t_{2004/2006} = 3,348^{***}$; $t_{2004/2008} = 4,909^{***}$; $t_{2005/2006} = 1,198$; $t_{2005/2008} = 3,03^{**}$; $T_{2006/2008} = 2,03^*$. Сравнение долей партенокарпических плодов в разные годы так же свидетельствует о достоверных различиях между этим показателем в 5 случаях из шести: $u_{2004/2005} = 16,20^{**}$; $u_{2004/2006} = 0,25$; $u_{2004/2008} = 33,08^{**}$; $u_{2005/2006} = 20,63^{**}$; $u_{2005/2008} = 19,01^{**}$; $u_{2006/2008} = 45,93^{**}$. За исключением 2006 года с увеличением семенной продуктивности снижалась доля партенокарпических плодов.

Сходные результаты демонстрирует родственный образец “35А-34А”, наблюдения за которым проводили 2006 и 2008 гг. (таблица). Как по

Таблица

Статистические параметры семенной продуктивности в разные годы выращивания

| п/п | Образец | Год | Число раст. | Число смян на раст. | $\bar{y} \pm m^1$ | Доля плодов, % | | U-критерий, «1.» ¹ |
|-----|---------|------|-------------|---------------------|-------------------|----------------|----------|-------------------------------|
| | | | | | | агамо- | партено- | |
| 1 | 35А | 2004 | 12 | 1809 | 7,01±0,31 | 51,17 | 48,83 | 1,021 |
| 2 | 35А | 2005 | 14 | 3332 | 7,86±0,23 | 73,74 | 26,26 | 28,631*** |
| 3 | 35А | 2006 | 20 | 4759 | 8,21±0,18 | 52,33 | 47,67 | 3,17** |
| 4 | 35А | 2008 | 24 | 6805 | 8,66±0,13 | 89,07 | 10,93 | 74,078** |
| 5 | 35А -34 | 2006 | 3 | 3626 | 8,19±0,09 | 41,37 | 58,63 | 10,417** |
| 6 | 35А -34 | 2008 | 22 | 8064 | 8,79±0,14 | 69,43 | 30,57 | 35,920** |

* P>0,95; ** P>0,99; *** P>0,999.

¹ Доли партенокарпических плодов в семенных партиях сравнивали с нуль гипотезой — теоретическое ожидание, согласно которому на побегах два типа плодов встречаются в равной пропорции (1:1), если процессы эмбрио- и карпогенеза независимы и реализуются случайным образом.

семенной продуктивности ($t_{2006/2008} = 3,6051***$), так и по доле партенокарпических плодов ($u_{2006/2008} = 28,66***$) наблюдаются достоверные различия. Увеличению общей завязываемости семян сопутствовало снижение доли партенокарпических плодов в семенной партии.

Вероятнее всего, что на уровень семенной продуктивности огромное влияние оказывают условия года. В таком случае близкородственные материалы не должны иметь существенных различий при их выращивании в одинаковых условиях. Наблюдения, проведенные за образцами “35А” и “35А-34А” в 2006 и 2008 гг. подтверждают это предположение: семенная продуктивность в обоих вариантах существенно не различалась ($t_{35А/35А-34А, 2006} = 0,099$; $t_{35А/35А-34А, 2008} = 0,680$). Однако, не смотря на идентичность условий выращивания этих родственных образцов, показатель “доля партенокарпических плодов в семенной партии” существенно различался ($U_{35А/35А-34А, 2006} = 9,21**$; $U_{35А/35А-34А, 2008} = 30,25***$).

Общепринятой теории морфогенеза растений в целом или его частей не существует. С одной стороны, монистический взгляд на развитие предполагает, что морфогенез запрограммирован геномом клетки и потому полностью должен быть им определен. С другой стороны, наблюдаемая картина формирования двух типов плодов у свеклы, однозначно свидетельствует о том, что динамика плодо- и семягенеза на растениях всегда неповторима (индивидуальна), несмотря на генетическую идентичность сравниваемых образцов. Это указывает на множественность факторов, определяющих ход морфогенеза: “геном и морфогенез — сущности совершенно разного порядка ... Морфогенез — это разворачивающейся в пространстве и времени континуальный ... процесс. Даже если принять, что каждый шаг морфогенеза связан с активацией или репрессией определенных генов..., то пространственно временное расписание активации/репрессии генов должно опреде-

ляться не ими самими, а ...эпигенетическими факторами, прямо или косвенно связанными с морфогенезом” [10, с. 29].

Очевидно, что процессы эмбрио- и карпогенеза определяются в отдельном цветке как внутренними (программой онтогенеза и процессами морфогенетической саморганизации), так и внешними (морфогенетические корреляции) факторами. Имеет место прямая корреляция между местоположением цветка на побеге и обеспеченностью этого цветка в ходе эмбрио- и карпогенеза питательными веществами, что служит одной из причин больших различий между числом цветков и числом сформированных плодов на побегах. Неудивительно, что верхушки цветоносных побегов, как правило, оказываются бесплодными и бессемянными, т.к. не получают необходимого количества пластических веществ.

На примере плодо- и семяобразования у свеклы при апозиготической репродукции мы констатируем наличие особого типа мультидивидуальной количественной изменчивости, где сам мультидивидуум определяет динамику морфогенетических процессов формирования семян и плодов во времени. Так как наблюдаемая изменчивость возникает в ходе развития растений, то ее следует отнести к одному из вариантов эпигенетической изменчивости, в основе которой лежат автономные процессы самоорганизации и самоусложнения, происходящие в ходе процессов семя- и плодообразования. Специфика морфогенетических процессов при семя- и плодообразовании в апозиготических семенных потомствах сахарной свеклы подтверждает известное изречение об изменчивости: в природе нет двух одинаковых растений, как нет и двух одинаковых животных, несмотря на то, что сравниваемые между собой растения могут быть генетически идентичными.

Настоящая работа выполнена при поддержке Интеграционного гранта СО РАН №99 и гранта РФФИ 10-04-00697.

Литература

1. Сешлова Л.Б., Абдурахманов А.А., Хайленко Н.А. Эмбриология индуцированного апомиксиса у сахарной свеклы // Цитология и генетика, 1984. Т.18, №2.— С. 90–92.
2. Ширяева Э.И. Ярмолюк Г.И., Кулик А.Г., Червякова В.В. Апомиксис у самоопыленных линий сахарной свёклы и использование его в селекции // Цитология и генетика. 1989. Т.23, №3.— С. 39–44.
3. Малецкий С. И., Малецкая Е. И. Самофертильность и агамоспермия у сахарной свеклы (*Beta vulgaris*L.) // Генетика. 1996. 32. №12.— С. 1643–1650.
4. Юданова С.С., Малецкая Е.И. Связь эпигеномной изменчивости с семенной продуктивностью при апозиготическом способе размножения сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Достижения и проблемы генетики, селекции та биотехнологии. Киев.— Логос, 2007. Збірник наукових праць.— Т. 2.— С. 221–225.
5. Юданова С.С., Позняк С.И., Малецкая Е.И. Семенная продуктивность у диплоидной линии СОАН 5 при апозиготическом способе репродукции // Факторы экспериментальной эволюции организмов. Киев Логос, 2009, Том 6.— С. 101–105.
6. Малецкий С.И., Малецкая Е.И., Юданова С.С., Колодяжная Я.С. Серийные последовательности двух типов плодов у сахарной свёклы при апозиготической репродукции // Генетика, 2008, т.44, №1.— С. 72–80.

7. *Ter-Avanesian D.V.* The effect of varying the number of pollen grains used in fertilization // TAG, 1978, v. 52, p. 77–79.

8. *Зайковская Н.Э.* Биология цветения, цитология и эмбриология сахарной свеклы // Биология и селекция сахарной свёклы. М.: Колос, 1968.— С. 137–206.

9. *Урбах В.Ю.* Непараметрические критерии различия // Биометрические методы (статистическая обработка опытных данных в биологии, сельском хозяйстве и медицине). М.: Наука, 1964.— С. 245–267.

10. *Белоусов Л.В.* Морфогенез, морфомеханика и геном // Вестник ВОГиС, 2009, том 13, №1.— С. 29–35.

Резюме

В работе анализируются завязываемость семян и изменчивость долей агамо-спермных семян и партенокарпических плодов в семенных партиях, получаемых при однополомном размножении сахарной свеклы за 4 года в двух смежных поколениях.

A paper presents the four-year study of the seed setting and a variability of agamospermic seeds and parthenocarpic fruits parts in seed population of two allied generation, obtained by uniparental reproduction.

TSYGANKOVA V. A.

*Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry, NAS of Ukraine,
Kiev, Murmanskaya str., 1*

CIRCADIAN RHYTHMS OF GENE EXPRESSION AT LEAVES OF VEGETATING PLANTS

Using DOT-blot method the degree homology of cytoplasmical mRNA populations of plant leaves from different intervals of light day according to mRNAs of dark phase was investigated.

Materials and methods

The isolation of poly(A)⁺RNA, obtaining cDNA and conditions of hybridization cDNA with mRNA are presented early [1].

The leaves of dicotyledonous (soya, pea) and monocotyledonous plants (wheat, corn) at ten-day period of their vegetation after initiation of seed germination, sprouting in environmental (field) standard conditions, and first of all at strong clear and weak sunshine were used as a model. The leaves were separated from plants in different periods of light day: in the early morning (at 5 a.m.) — in the period of appearance of the first rays of a sun; then in the middle of day (at 2 p.m.) — in the period of maximal sunshine and in the evening period (at 9 p.m.). All of experiments were conducted at the beginning of June, when the most optimal growth and development of plant occur. The preparations of cytoplasmical mRNA were selected from leaves and as control were the