

ФЕРТИЛЬНОСТЬ ПЫЛЬЦЫ У ВИДОВ *CERASUS* И *MICROCERASUS* (*ROSACEAE*)

Л.Ф. ЯНДОВКА,

кандидат биологических наук, доцент кафедры биологии,
Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина



Ключевые слова: фертильность пыльцы, водный и температурный стрессы, УФ- и электронное облучение, генетическое происхождение сортов, *Cerasus fruticosa*, *C. vulgaris*, *C. avium*, *Microcerasus tomentosa*.

392622, г. Тамбов,
ул. Интернациональная, 33;
тел. 8-9606608454;
e-mail: yandovkatgu@mail.ru

Растения вишни и черешни человечество сотни лет использует в пищу как в свежем виде, так и в консервированном. Плоды этих растений содержат богатый комплекс биологически активных веществ, полезных для организма человека.

Издавна культивируемые растения вишни и черешни в настоящее время в ряде регионов выводятся из сельскохозяйственного производства в связи с гибелью их насаждений. Для дальнейшего успеха селекции плодовых растений необходимо выведение новых форм, устойчивых к неблагоприятным условиям и способных ежегодно давать большой урожай плодов. Эти попытки не всегда являются успешными. Одна из причин неудач селекционеров – значительное исчерпание резервов генофонда косточковых растений для селекции их хозяйственно-ценных признаков, узкая генетическая основа современных сортов. В связи с этим возникла необходимость использования в селекции признаков (генов), имеющих не только у культурных форм растений, но и признаков (генов) их исходных форм.

Повторное введение в геном культурных растений «полезных» генов от их дикорастущих предков невозможно без детального изучения последних. Это направление исследований приобретает актуальность и в связи с выявлением механизмов воздействия внешних неблагоприятных факторов на репродуктивные структуры в аспекте общей проблемы сохранения биологического разнообразия, а также выведения новых

форм культурных растений.

Изучение фертильности пыльцы представляет особый интерес в исследованиях онтогенеза растений. По качеству пыльцевых зёрен как одному из признаков можно производить отбор наиболее урожайных форм. Имеющиеся литературные данные посвящены разным аспектам формирования тетрад микроспор и развития пыльцевого зерна [3, 4, 8]. Однако характер влияния разных факторов на фертильность пыльцы у косточковых растений изучен недостаточно. Представленный материал в основном носит фрагментарный характер. Одни авторы [4] выделяют влияние двух факторов (условия года и генотип) на фертильность пыльцы, другие [1] считают, что на жизнеспособность пыльцы плодовых растений оказывает влияние агротехника выращивания и погодные условия. Установлено неблагоприятное влияние температурного стресса на процесс формирования пыльцевых зёрен [1, 2].

До настоящего времени изложенные выше проблемы у косточковых плодовых растений были изучены недостаточно, что и определяет актуальность темы.

Цель и методика исследований

Целью работы было изучение факторов, влияющих на процессы формирования мужской генеративной сферы у косточковых плодовых растений для выявления возможностей селекционной работы и определения перспективных форм. В качестве объектов были взяты представители нескольких видов, отно-

сящихся, согласно Н.Н. Цвелеву [6], к трём родам: *Cerasus Mill.* (*Cerasus fruticosa*, *C. vulgaris* – широко известный в ЦЧЗ России сорт Владимирская и новые сорта: вишнёвый гибрид Интенсивная, вишне-черешневый гибрид Фея и вишне-черёмуховый гибрид Харитоновская селекции ВНИИГиСПР им. Мичурина), *C. avium* (сорт Италиянка), *Microcerasus M. Roem.* (*M. tomentosa*).

Фертильность пыльцы оценивали с помощью следующих методов:

- 1) ацетокарминовый метод, базирующийся на способности пыльцевых зёрен по-разному адсорбировать химические вещества (ацетокармин);
- 2) метод проращивания пыльцы на искусственных питательных средах, состоящих из агар-агара, сахарозы и борной кислоты [5].

Результаты исследований

Морфология и фертильность пыльцы. У изученных растений в условиях контроля пыльца округлая и трёхбороздная. Форма пыльцевых зёрен, согласно классификации Эрдтмана [7], почти сфероидальная. Наблюдается деформированность пыльцевых зёрен, которая выражается в уменьшении клеточного содержимого наряду с изменениями формы и размера,

Pollen fertility, water and temperature regimes, Uf- and electronic radiation, genetic origin of sorts, Cerasus fruticosa, C. vulgaris, C. avium, Microcerasus tomentosa.

связанными с воздействиями внешних условий. Наблюдается широкий диапазон изменчивости пыльцевых зёрен по размеру, причём даже в пределах одного пыльника (мелкая пыльца – менее 20 мкм, крупная пыльца – более 50 мкм, пыльца средних размеров – 21-49 мкм). Мелкая и крупная пыльца часто не окрашивается ацетокармином; из неё, как правило, в процессе роста образуются короткие пыльцевые трубки или такие пыльцевые зёрна вообще не прорастают. Слишком крупные пыльцевые зёрна, по-видимому, могут обеспечить возможность получения полиплоидных растений в практической селекции. У вишни войлочной в основном образуется пыльца средних размеров; размеры пыльцевых зёрен – 22,4 мкм. У черешни пыльцевые зёрна мало различаются (23,5 мкм). У вишни обыкновенной (сорт Владимирская) средний диаметр пыльцевых зёрен – 26,3 мкм (у гибридов пыльца немного крупнее); встречается крупная и мелкая пыльца. Вишня степная характеризуется самым большим из изученных видов разнообразием пыльцы по размеру; средний диаметр пыльцевых зёрен – 33,2 мкм. У исследуемых растений во время опыления при прорастании вегетативной клетки пыльцевой трубкой генеративная клетка делится с образованием двух спермиев, которые впоследствии принимают удлинённую форму с заострёнными концами. Сле-

довательно, зрелое пыльцевое зерно у видов трёхклеточное.

Оценка фертильности пыльцы разными методами свидетельствует о том, что полученные результаты различаются. Окрашивание пыльцы с помощью ацетокармина выявило у всех растений достаточно высокий процент фертильных, морфологически сформированных пыльцевых зёрен – 72-98%. Пыльца по-разному прорастает на искусственной питательной среде: пыльцевыми трубками средней (5-12 диаметров пыльцевого зерна), большой (>13 диаметров) и короткой (менее 3-5 диаметров пыльцевого зерна) длины. Вишня обыкновенная (сорт Владимирская) характеризуется наибольшими показателями прорастания пыльцы на искусственной питательной среде – 60,5% (табл. 1). У вишни степной, черешни и вишни войлочной жизнеспособность пыльцы составляет 47,6-48,2%. Соотношение образовавшихся при прорастании пыльцы на искусственной питательной среде пыльцевых трубок у видов различается. Наибольшее количество средних и длинных пыльцевых трубок, имеющих оплодотворяющую способность, выявлено при прорастании пыльцы вишни обыкновенной – 78,3% (табл. 1).

Аномалии роста в виде скручивания двух пыльцевых трубок в одну, изменения направления роста, остановки в росте, образования на концах утолщений булабовидной формы и т.п.

Таблица 1

Фертильность пыльцы видов *Cerasus* и *Microcerasus* (прорастивание на искусственной питательной среде)

Вид	Пыльцевые зёрна		Пыльцевые трубки, %		
	всего, шт.	не проросшие, %±m	длинные	средние	короткие
<i>Cerasus vulgaris</i> – вишня обыкновенная (сорт Владимирская)	524	39,50±2,1	48,15	30,18	21,67
<i>Cerasus fruticosa</i> – вишня степная	488	51,84±2,2	7,50	36,83	55,67
<i>Cerasus avium</i> – черешня (сорт Италиянка)	600	52,43±2,0	19,25	43,22	37,43
<i>Microcerasus tomentosa</i> – вишня войлочная	768	51,30±1,8	22,15	31,33	46,52

Таблица 2

Фертильность пыльцы *Cerasus* и *Microcerasus* в связи с разным водообеспечением

Вид	Условия водообеспечения	Ацетокарминовый метод			Прорастивание на искусственной питательной среде		
		всего пыльцевых зёрен, шт.	окрашенные, шт.	% окрашенных ±m	всего пыльцевых зёрен, шт.	проросшие, шт.	% проросших ±m
<i>Cerasus fruticosa</i>	К	509	497	97,64±0,7	488	235	48,16±2,3
	П	735	706	96,05±0,7	624	308	49,36±2,0
	ПЗ	611	574	93,94±1,0	579	232	40,07±2,0
<i>Cerasus vulgaris</i> (Владимирская)	К	515	369	71,58±2,0	368	117	31,79±2,4
	П	559	415	74,24±1,9	376	95	25,27±2,2
	ПЗ	542	337	62,18±2,1	320	44	13,73±1,9
<i>Cerasus avium</i> (Италиянка)	К	511	450	88,06±1,4	600	284	47,33±2,0
	П	436	394	90,37±1,4	512	246	48,05±2,2
	ПЗ	518	414	79,92±1,8	625	257	41,12±2,0
<i>Microcerasus tomentosa</i>	К	459	401	87,36±1,6	293	93	31,74±2,7
	П	380	336	88,42±1,6	313	100	31,94±2,6
	ПЗ	328	278	84,76±2,0	303	61	20,13±2,3

отмечены в небольшом количестве у всех видов.

Влияние факторов на фертильность пыльцы. На фертильность пыльцы влияет комплекс факторов экзогенной и эндогенной природы. Каждый фактор в отдельности и вся совокупность факторов формируют у растения фенотип, наиболее приспособленный к условиям обитания. В природных условиях оценить действие всего комплекса факторов, влияющих на растения, практически невозможно. Удобнее рассматривать действие каждого фактора в отдельности.

Генетическое происхождение растений. Генетически сбалансированные сорта обыкновенной вишни (сорт Владимирская) со сравнительно стабильно проходящим мейозом по сравнению с гибридами имеют наибольшее количество хорошо окрашивающейся пыльцы. В годы с характерными для Тамбовской области метеоусловиями (2005) фертильность пыльцы, определяемая ацетокарминовым методом, у вишни Владимирской была более 85%. У гибридов обыкновенной вишни процент морфологически нормальной пыльцы значительно меньше (57,7-73,7%). У вишни Владимирской среди общей массы пыльцевых зёрен доминируют пыльцевые зёрна среднего размера; у гибридов много мелкой или очень крупной пыльцы. Генетически сбалансированные генотипы (Владимирская) характеризуются наибольшими показателями прорастания пыльцы (83,3%). У гибридов вишни обыкновенной процент прорастания пыльцы ниже: сорт Харитоновская – 67,8; Фея – 22,0; Интенсивная – 21,8%. У гибридов чаще, чем у вишни Владимирской, встречаются аномалии роста пыльцевых трубок.

Вода. Изучение качества пыльцевых зёрен у исследуемых растений проводили в разных условиях их водообеспечения: 1) контроль – влажность почвы 70-75% ППВ; 2) почвенная засуха – 30-45% ППВ; 3) полив – более 85-90% ППВ. Полученные результаты свидетельствуют о влиянии водообеспечения растений на фертильность пыльцы.

При оценке фертильности пыльцы ацетокарминовым методом было обнаружено, что у растений, испытывающих водный стресс (85-90% ППВ и 30-45% ППВ), соотношение пыльцевых зёрен мелких, крупных и средних отличается от такового у контрольных растений. У поливаемых растений чаще, чем в контроле, встречается крупная пыльца. У растений, произрастающих в условиях почвенной засухи (30-45% ППВ), образуются в основном мелкие пыльцевые зёрна, наряду с этим имеется пыльца средних размеров, а крупные пыльцевые зёрна редки. Между растениями с разным водообеспечением имеются различия в количестве морфологически сформированных пыльцевых зёрен.

Особенно ухудшает процесс формирования пыльцы дефицит влаги в почве

(табл. 2). У неполиваемых растений вишни обыкновенной (Владимирская) и черешни выявлен наименьший процент морфологически сформированной пыльцы по сравнению с контролем (разница между опытом и контролем – 10 и более процентов). У вишни степной и вишни войлочной разница между неполиваемыми и контрольными растениями не существенная. Избыточное водообеспечение незначительно снижает процент фертильной пыльцы, а в некоторых случаях (вишня Владимирская, черешня) увеличивает количество морфологически сформированных пыльцевых зёрен по сравнению с контролем (на 3-6%).

Изучение жизнеспособности пыльцы методом проращивания показало различную реакцию видов на водный режим. При почвенной засухе у исследуемых растений образовавшаяся пыльца в большей по сравнению с контролем степени не прорастает на искусственной питательной среде. Особенно заметна разница между контрольными и неполиваемыми растениями у вишни обыкновенной (57%) и вишни войлочной (37%). На избыток влаги в почве разные виды реагируют неодинаково. У вишни обыкновенной на 20,5% жизнеспособность пыльцы поливаемых растений ниже, чем в контроле. У остальных видов избыток влаги в почве почти не влияет на жизнеспособность пыльцы.

Температура. Многолетние наблюдения (1997-1999 и 2004-2009 гг.) и учёт температурных данных за годы исследования показали, что температура влияет на процессы формирования и развития пыльцы. Температурные условия ЦЧЗ России чрезвычайно вариabельны. Встречаются годы с резкими колебаниями температуры от максимума к минимуму.

Температурные условия всего года оказывают влияние на растения. Однако наиболее важны эффективные – положительные – температуры. Поэтому основное внимание при выявлении зависимости между показателями пыльцы и температурными данными уделялось данным температуры за апрель – октябрь. В этот период года проходят важные формообразовательные процессы в генеративных органах плодовых растений. Наиболее значимыми для процессов формирования пыльцевых зёрен являются конец июля – октябрь (период формирования археспория, микроспориангиев и спорогенной ткани в пыльниках), вторая половина апреля (процесс мейоза в микроспорицитах; образование микроспор); конец апреля – первая декада мая (цветение).

Анализ данных температуры всех лет исследования показал, что среднемесячные температуры с июля по октябрь в Тамбовской области в основном мало различаются, поэтому почти не влияют на качество пыльцы. Однако замечено, что слишком высокие температуры июля – октября (2007 г.) могут отрицательно повлиять на процес-

сы формирования пыльников. Значения эффективных температур апреля и мая имеют различия в разные годы. На фертильность пыльцы более всего влияет температура весенних месяцев (апрель – май), отрицательно сказываются пониженные температуры этих месяцев, а также их резкие перепады. Так, за период с 1997 по 1999 гг. фертильность пыльцы вишни обыкновенной, определяемая ацетокарминовым методом, различалась незначительно и составила 70-74%. Среднемесячные температуры апреля – начала мая в эти годы различались немного. Достаточно высокие дневные температуры апреля иногда чередовались с небольшими ночными заморозками. Фертильность пыльцы вишни Владимирской в 2004 г. превышала этот показатель в 1997-1999 гг. (83,2%). Жизнеспособность пыльцы вишни Владимирской, определяемая проращиванием, в 1997-1999 гг. была 30-34%, а в 2004 г. – 78,5%. Температура июля – октября 2003 г., когда закладывались генеративные почки цветков 2004 г., была близка к норме. Температуры апреля были в основном стабильны. Среднесуточные температуры первой декады мая (время цветения) были в пределах нормы (10-15°C). Очевидно, благоприятное сложение температур летне-осенних месяцев 2003 г. и весенних 2004 г. стало причиной нормального прохождения процессов формирования мужского гаметофита и достаточно высокой фертильности пыльцевых зёрен. В 2005 г. фертильность пыльцы вишни обыкновенной превысила значения предыдущих лет (85,3% - ацетокарминовым методом и 83,3% - методом проращивания). Среднемесячная температура апреля 2005 г. была выше таковой 2004 г. на 1,9°C (в пределах многолетней нормы). Пыльца 2009 г. у всех видов в основном была хорошо сформирована, о чём свидетельствуют высокие значения процента окрашенных пыльцевых зёрен. Среднемесячные температуры августа – октября 2008 г. были стабильными, в пределах нормы. Однако в апреле среднемесячная температура была немного ниже нормы (5,8°C), а в начале апреля (02.04.2009) ночью был мороз до -7°C. В начале мая по ночам также было прохладно. Невысокие весенние температуры повлияли на жизнеспособность пыльцы – процент проросшей на питательной среде пыльцы в 2009 г. был ниже по сравнению с прошлыми годами у всех видов (например, 52% у вишни Владимирской). Зимой 2005-2006 гг. наблюдались продолжительные аномально низкие температуры (до -45°C), которые, по данным метеорологов, бывают в Тамбовской области один раз в пятьдесят лет. Низкие температуры зимнего периода также отрицательно сказались на развитии мужского гаметофита вишни и черешни – цветение было.

УФ-обл... кварцевым

облучателем ПРК-4 на расстоянии 85 см от объекта). При облучении пыльцы ультрафиолетом изменяются её характеристики (соотношение количества типичных и с изменённой формой пыльцевых зёрен). Облучение небольшими дозами (5-30-минутные УФ-экспозиции) увеличивает частоту пыльцевых зёрен с изменённой формой. После 60-минутной УФ-экспозиции в некоторых случаях частота нарушений формы пыльцы, наоборот, ниже, чем в контроле и после малых доз УФ-облучения (5-30-минутные экспозиции). По-видимому, это можно объяснить тем, что при непродолжительных воздействиях УФ-лучей (5-30-минутные экспозиции) в пыльцевых зёрнах возникают малые мутации, которые в основном касаются формы пыльцевых зёрен. Облучение большими дозами (60-минутная УФ-экспозиция) помимо внешней структуры изменяет внутренние характеристики пыльцы. Сильно поражённые пыльцевые зёрна, скорее всего, гибнут. Под влиянием ультрафиолетовых лучей часть реакций обменного характера в пыльце замедляется, что в некоторых случаях отрицательно сказывается на её росте во время проращивания на искусственной питательной среде. Существенное снижение жизнеспособности пыльцы по сравнению с контролем у всех видов наблюдается после 40-минутной УФ-экспозиции. После 60-минутной УФ-экспозиции жизнеспособность пыльцевых зёрен по сравнению с контролем почти не изменяется, что обусловлено гибелью поражённой пыльцы. Погибшая пыльца сморщивается или разрывается, поэтому при подсчёте не учитывается. Темпы и характер изменения показателя жизнеспособности пыльцы после других доз УФ-облучения у разных видов неодинаковые. У вишни обыкновенной после 30-минутной УФ-экспозиции наблюдали повышение жизнеспособности пыльцы по сравнению с контролем на 18%; после 10- и 15-минутной УФ-экспозиции жизнеспособность пыльцы понижена. У вишни степной и вишни войлочной при всех вариантах УФ-экспозиции жизнеспособность пыльцы снижается. Черешня характеризуется повышением этого показателя после 30-минутного УФ-облучения на 5%. Остальные УФ-экспозиции у черешни снижают жизнеспособность пыльцы. Под влиянием УФ-облучения у всех видов в основном увеличивается количество пыльцы, проросшей короткими пыльцевыми трубками, не имеющими оплодотворяющей способности. Однако в некоторых случаях после УФ-облучения процент пыльцы, проросшей короткими трубками, уменьшается по сравнению с контролем (у вишни степной, черешни и вишни войлочной 30-минутная УФ-экспозиция снижает этот показатель по сравнению с контролем на 6-23%).

Электронное облучение (в вакуумной колонне электронного микроскопа ЭМВ-101Л; E=50 keV; I=100 mA) влия-

ет на структуру и жизнеспособность пыльцы. Под его влиянием изменяется соотношение количества типичных и с изменённой формой пыльцевых зёрен. Характер изменения структуры пыльцевого зерна зависит от дозы облучения. После больших доз электронного облучения (1- и 5-минутные экспозиции) пыльцевые зёрна значительно деформируются: становятся плохо различимыми борозды, растрескивается оболочка. При проращивании на искусственной питательной среде стенки такой пыльцы разрушаются, и её содержимое выходит наружу, не образуя пыльцевых трубок. Облучение небольшими дозами (5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 сек.) также приводит к деформации пыльцевых зёрен. Изменения касаются в основном внутреннего содержимого пыльцевого зерна. Электронное облучение после 1- и 5-минутных экспозиций снижает жизнеспособность пыльцевых зёрен по сравнению с контролем в среднем на 60%. У вишни обыкновенной и вишни степной после 15 сек. облучения жи-

жизнеспособность пыльцы по сравнению с контролем повышается на 3-4,5%. Остальные варианты облучения пыльцы этих видов снижают её жизнеспособность. У черешни и вишни войлочной все варианты электронного облучения понижают процент проросшей на питательной среде пыльцы. Однако после 15 сек. облучения у пыльцы черешни и вишни войлочной этот показатель снижается незначительно. Под влиянием электронного облучения в большинстве случаев увеличивается процент пыльцевых зёрен, проросших короткими пыльцевыми трубками.

Выводы

1. Растения видов *Cerasus vulgaris*, *C. fruticosa*, *C. avium* и *Microcerasus tomentosa* имеют достаточно высокий процент фертильных (морфологически сформированных и жизнеспособных) пыльцевых зёрен. Фертильность пыльцы зависит от происхождения растений.

2. На фертильность пыльцы видов *Cerasus vulgaris*, *C. fruticosa*, *C. avium* и *Microcerasus tomentosa* влияют факто-

ры: температура (особенно во время весенних месяцев – апрель, май, – когда происходят процессы развития мужского гаметофита); водный режим (водный дефицит снижает фертильность пыльцы); УФ- и электронное облучение (изменяют морфологию и фертильность пыльцы, что зависит от происхождения растений и дозы облучения).

Рекомендации

1. Для повышения устойчивости генотипа сортов культурных растений к неблагоприятным факторам рекомендуется повторное введение в их геном «полезных» генов от дикорастущих предков, характеризующихся высокими показателями фертильности пыльцы.

2. Фертильность пыльцы, используемой в селекционной работе, можно повысить разными способами: выращиванием растений-доноров пыльцы в условиях оптимального водообеспечения (70-75% ППВ); УФ-облучением пыльцы (жизнеспособность пыльцы у вишни обыкновенной и черешни повышается после 30-минутной УФ-экспозиции).

Литература

1. Волошина А. А. Жизнеспособность пыльцы черешни, вишни и их гибридов // Бюл. гос. Никитск. бот. сада. 1970. Вып. 1. № 12. С. 18-20.
2. Грибановская Т. В. Биологические особенности пыльцы некоторых плодовых культур // М-лы Межд. науч.-практ. конф. молодых учёных. Мичуринск, 2000. Ч. 1. С. 20-25.
3. Дутова Л. И., Скрипка Е. А., Ульяновская Е. В. Избирательность опыления и оплодотворения вишни различными видами рода *Cerasus* // М-лы конф. по совершенствованию сортамента и технологии возделывания косточковых культур. Орёл, 1998. С. 53-55.
4. Рассветаева Э. Г. Характеристика особенностей пыльцевой фертильности косточковых // М-лы Всес. совещ. «Цитолого-эмбриологические и генетико-биохимические основы опыления и оплодотворения растений». Киев, 1982. С. 117-119.
5. Романова Н. П., Шелаботин Г. П., Леонченко В. Г. [и др.]. Методические рекомендации по применению цитологических методов в плодоводстве. М., 1988. 52 с.
6. Цвелев Н. Н. Определитель сосудистых растений северо-западной России (Ленинградская, Псковская и Новгородская области). СПб., 2000. С. 460-461.
7. Чигуряева А. А., Колоскова И. Г., Дайковский В. С. Учебно-методическое пособие по палинологии. Саратов : СГУ, 1987. 127 с.
8. Furucawa Y., Bucovac M. J. Embryo sac development in sour cherry during the pollination period as related to fruit set // Hort Sci. 1989. Vol. 24. № 6. P. 1005-1008.