УДК 57.088.1:581.331.2]:633/635(076)

ПЫЛЬЦЕВОЙ АНАЛИЗ В СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ

Цаценко Людмила Владимировна
д.б.н., профессор

Синельникова Анастасия Сергеевна,
аспирантка
Кубанский государственный аграрный университет, г. Краснодар, Россия

В работе рассматриваются различные аспекты применения пыльцевого анализа в селекционной практике. В качестве базовых характеристик используются фертильность и жизнеспособность пыльцевых зерен, изменение морфологических характеристик пыльцы. Анализируется связь пыльцевого анализа с репродуктивным потенциалом растений

Ключевые слова: ПЫЛЬЦЕВОЙ АНАЛИЗ, СЕЛЕКЦИОННАЯ ПРАКТИКА, ФЕРТИЛЬНОСТЬ, СТЕРИЛЬНОСТЬ ПЫЛЬЦЫ, ВЕЛИЧИНА ПЫЛЬЦЕВЫХ ЗЕРЕН, АНОМАЛЬНАЯ ПЫЛЬЦА

UDC 57.088.1:581.331.2]:633/635(076)

POLLEN ANALYSIS IN PLANT BREEDING

LydmilaVladimirovnaTsatsenko
Dr.Sci.Biol., professor

Anastasiya SergeevnaSinelnikova
postgraduate student
Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia

Different aspects of applying the pollen analysis were studied in plant breeding. Fertility, pollen viability, change of pollen morphological characteristic were used by basic characteristics. Connection between pollen analysis and plant reproduction potential have been analyzed

Keywords: POLLEN ANALYSIS, PLANT BREEDING PRACTICE, FERTILITY, VIABILITY OF POLLEN GRAIN, SIZE OF POLLEN GRAIN, ABNORMAL POLLEN

Пыльцевой анализ это метод исследования, позволяющий определять репродуктивный потенциал растений по характерным морфологическим особенностям пыльцевых зёрен: размеру, рисунку экзины пыльцевого зерна, его фертильности и жизнеспособности. Все эти характеристики очень важны при проведении селекционных работ с целью получения продуктивного потомства. Пыльцевые зерна являются частью растения, поэтому изменение их базовых характеристик могут сказаться на фертильности и репродуктивной биологии растения [1]. Различные морфологические характеристики, такие как поверхность пыльцевого зерна, диаметр, размер – на все это влияет множество факторов, как биотические, так и абиотические. Таким образом, аномальные пыльцевые зерна могут влиять на фертильность, тем самым снижая репродуктивный потенциал культуры [3]. Ранее пыльцевой анализ использовался как косвенных метод определения плоидности растений, по наличию

фертильных и жизнеспособных пыльцевых зерен можно судить об успешности селекционных работ при отдаленной гибридизации. В задачу нашей работы входило - показать новые возможности использования пыльцевого анализа в селекционной практике на основе обзора литературных данных различных исследований и собственных в том числе.

Пыльцевой анализ в качестве тест-реакции хемочувствительности пыльцы к озону и пероксидам.

Озон и образующиеся при взаимодействии с компонентами наружного слоя пыльцевого зерна пероксиды воспринимаются поверхностью пыльцы, что, в конечном счете, приводит к включению или к блокаде пускового механизма прорастания пыльцевой трубки. В качестве тест-реакции, характеризующей чувствительность поверхностных компонентов к различным воздействиям, была выбрана способность к автофлюоресценции поверхности пыльцы и ее способность прорастать in vitro, которая отражает состояние преобладающих в ней компонентов, участвующих в окислительно-восстановительных реакциях. Основными флюоресцирующими компонентами пыльцы являются каротиноиды, фенолы и терпеноиды[12]. Об изменении их состояния под влиянием озона и озонидов можно судить по спектру флюоресценции интактной пыльцы. Прорастание пыльцы in vitro характеризует в целом ее жизнеспособность коррелирует с изменениями автофлюоресценции ее поверхности. В работе были исследованы виды растений, различающиеся по пигментному составу пыльцевых зерен: обогащенные каротиноидами и антоцианами; лишенные каротиноидов, но обогащенные фенолами; лишенные пигментов. В результате исследований удалось установить, что чувствительность пыльцы к озону зависит от содержания в ней пигментов [3]. Пигменты каротиноиды и фенолы, вероятно, могут выполнять роль

антоксидантов в силу обилия двойных связей, защищая поверхность пыльцевого зерна от повреждения. Так, автофлюоресценция пыльцы *Papaver orientale L.*и *Petunia hibrida,* содержащая антоцианы, мало изменились под влиянием озона. У пыльцы *Philadelphus grandiflorus* и *Hippeastrum hibridum,* содержащей каротиноиды и фенолы, наблюдалась большая устойчивость к озону, чем у непигментированной пыльцы *Plantago major.* В ходе экспериментов удалось показать, что пыльца *Philadelphus grandiflorus*, содержащая каротиноиды, заметно устойчивее к озону, чем пыльца *Plantago major*.

Пыльцевой анализ позволил установить интересную зависимость, что видоспецефичность чувствительности пыльцы к озону у разных видов во многом определяется именно пигментным составом ее оболочки и это свойство можно использовать в селекционной практике при создании генотипов, устойчивых к озону.

Жизнеспособность пыльцы как индикатор интрогрессии чужеродного материала при межвидовой гибридизации. Анализ жизнеспособности пыльцевого зерна представляется одним из важных элементов пыльцевого анализа. Стерильность гибридов является одной из неотъемлемых черт отдаленной гибридизации. В работе, выполненной на межвидовых гибридах сосны *Pinus mugo* L. и *Pinus sylvestris* L. рекомендуется использовать фертильную пыльцу как индикатор интрогрессивной природы при возникновении спонтанных гибридов у сосны. В качестве индикатора интрогрессии чужеродного материала при спонтанной гибридизации предлагается применять показатель жизнеспособности пыльцы и длины пыльцевых трубок [13].

Пыльцевой анализ в оценке качества пыльцевых зерен в условиях интродукции. Для успешной интродукции требуется значительное количество качественных семян растений. Стабильное

получение качественных семян интродуцированных растений зависит от качества их зрелой пыльцы, которое во многом определяется нормальным морфогенезом пыльника. Пыльцевой анализ успешно может быть использован для оценки цитогистологического статуса зрелых пыльников растений, что было продемонстрировано на остролодочнике сходном (*Oxytropis ambigua* (Pall.)DC), представителя семейства бобовых. В данном случае в анализ были включены следующие показатели: подсчет общего количества пыльцевых зерен, а также фертильных (нормальной морфологии) и аномальных пыльцевые зерна в зрелых пыльниках. При оценке статуса адаптации генотипа к условиям среды качество пыльцевых зерен является одним из важных показателей репродуктивной биологии, во многом определяющим способность амфимиктично размножающихся растений к формированию полноценных семян. Микро- и гаметогенез оценивают функционально-адаптивные процессы в числе прочих обеспечивающих надежность воспроизводства популяций растений [2]. Качество пыльцевых зерен связано с понятием «реальная семенная продуктивность» - важнейший показатель оценки систем семенного размножения [7]. Важно понимать, по мнению Куприянова П.Г.(1989), что практически в зрелом пыльнике, даже у растений с высокой репродуктивной способностью, помимо нормальной пыльцы имеется определенное количество аномальных пыльцевых зерен [6]. Согласно мнению большинства авторов, считается, что нарушение нормального развития пыльцевые зерна – ответная реакция растительного организма на воздействие неблагоприятных внешних факторов, особенно ярко выражается в критические периоды развития пыльника [5].

Известно, что на качество пыльцевых зерен могут оказывать влияние различные факторы: способ размножения, внутривидовая гибридизация, цитоплазматическая стерильность, ядерная мужская стерильность,

антропогенные повреждающие факторы среды. Интересное мнение высказали Т.Б.Батыгина и В.Е.Васильева (1999) с позиции системы надежности, включающей определенные резервы, что различные аномалии клеток семязачатка и семени следует рассматривать как проявление апоптоза – генетически запрограммированной смерти клеток. По-видимому, определенные аномалии пыльцевых зерен растений, в том числе и вида остролодочника сходного, можно считать проявлением апоптоза [5]. Отдельная проблема в области исследований возникновения аномальных пыльцевых зерен состоит в оценке качества пыльцы у интродуцированных растений. Одной из причин нарушения развития генеративных органов интродуцентов называют именно интродукцию, как смену природного ареала растения, полагая, что особенно восприимчивы к этому пыльцевые зерна [7]. Ответ на вопрос о влиянии условий интродукции на состояние пыльника и пыльцевых зерен интродуцированных растений можно получить при детальном сравнительном исследовании пыльцевых зерен и морфогенеза пыльника растений в естественных условиях и при интродукции.

Пыльцевой анализ в изучении репродуктивных процессов в цветке для повышения результативности скрещивания в селекционной практике. Установлено, что имеется зависимость пыльцевой продуктивности и фертильности сортов сои от продолжительности вегетационного периода сорта и условий внешней среды. Например, у позднеспелых сортов сои, адаптированных к короткому дню, сохраняется высокая пыльцевая продуктивность в среднем 3754 шт. на один цветок. У позднеспелых сортов сои выявлена тенденция к уменьшению пыльцевой продуктивности, при поздних сроках посева – до 3460 шт. на цветок в условиях центральной зоны Краснодарского края.

Пыльцевой анализ позволил выявить ярусную зависимость пыльцевой продуктивности цветков у разных сортов сои. Было доказано, что количество пыльцы, образовавшейся в цветках верхнего яруса, в 1,5 раза меньше по сравнению с пыльцевой продуктивностью цветков нижнего яруса. У очень ранних и ранних сортов в узлах нижнего яруса фертильность пыльцы колеблется от 37,6%(сорт Ника) до 90,2% (сорт Aldana). Количество фертильных пыльцевых зерен у средних и поздних сортов сои, независимо от ярусной локализации цветков, во все сроки посева оставалось высоким и составляло в среднем 98,1% [16].

Пыльцевой анализ успешно используется в селекционных программах по созданию высокоадаптивных сортов сои со стабильной пыльцевой продуктивностью и фертильностью пыльцы для регионов с различной длиной дня [4].

Применение пыльцевого анализа в оценке коллекций (на примере табака и пеларгонии). Учитывая, что табак выращивают для получения урожая вегетативной массы, а основным методом является индивидуальный отбор растений по биометрическим показателям, и предполагая возможность проведения отбора растений по данным анализа мужского гаметофита. Необходимо обратить внимание, что этот отбор будет являться второстепенным (дополнительным) критерием индивидуального отбора, а для наибольшей эффективности применения этих критериев отбора желательно, чтобы корреляция между биометрическими показателями и данными анализа мужского гаметофита была наименьшей. Отсутствие корреляции между биометрическими показателями растения и основными показателями пыльцевого анализа приводит к наличию сходных по биометрии растений, но отличающихся по результатам пыльцевого анализа. В связи с этим было предложено, что эти различия могут влиять на потомство растений при индивидуальном

отборе и данные показатели можно применять в селекционном процессе, как дополнительный критерий отбора в том случае, когда биометрические показатели отобранных растений сходны, а объем выборки необходимо уменьшить.

Пыльцевой анализ у растений табака, на основе коллекционных сортов и гибридов, позволил установить шесть типов фертильных пыльцевых зерен и выделить основной тип. Экспериментально было доказано, что отбор растений для пересева с одинаковыми биометрическими показателями, но различающихся по доли основного типа пыльцы, приводит к различию потомства по биометрическим признакам [9].

Изучение процессов микроспорогенеза у коллекционных сортов и гибридов пеларгонии показало, что пыльца у исследуемых образцов не является стабильной. Пыльцевые зерна в пределах сорта различаются по размеру, часто встречаются пыльцевые зерна с нарушенной целостностью, что в конечном итоге является препятствием для успешного процесса оплодотворения. Не смотря на то, что пеларгонии размножаются преимущественно черенкованием, при этом сохраняется генетически однородный материал. Но возможен и семенной метод размножения, позволяющий получать разнообразный генетический материал, среди которого встречаются всевозможные комбинации по цвету и форме цветка, форме листа. Это создает больший спектр для проведения селекционной работы. В этой связи отбор генотипов со стабильным пыльцеобразованием является актуальным для селекционной практики при создании сортов пеларгонии, способных к семенному размножению[17]. В пыльцевом анализе в качестве критериев оценки были использованы следующие показатели: однородность по размеру пыльцевых зерен, целостность и выравненность. Использование такого подхода в пыльцевом анализе

позволило из 46 сортов и гибридов герани, полученных на базе ГНУ ВНИИ цветоводства и субтропических культур выделить сорта и гибриды: Cherri Baby, Lord Butte, K-158, K-200, ГЗ – 128, ГЗ – 3-07-03 со стабильным пыльцеобразованием [17].

Пыльцевой анализ в оценке состояния мужского гаметафита на посевах, где применялись гербициды. Опытами многих исследователей установлено, что гербициды оказывают негативное влияние на процессы микроспорогенеза, затрагивают различные стадии мейоза и стадии формирования пыльцевого зерна [14]. В большинстве случаев пыльцевые зерна теряют фертильность и жизнеспособность, однако большое значение в изучении этого вопроса играет различная чувствительность сельскохозяйственных культур, плоидность генома, сорт- и гибрид-специфичность [15]. Например, установлена высокая устойчивость кукурузы к труднорастворимым симтриазинам. Это объясняется наличием в клеточном соке кукурузы специальных ферментов, способных инактивировать глюкозиды и бензоксазины, которые разрушают гербицид химически. Клеточный сок кукурузы, содержащий большой процент фермента пероксидазы, почти полностью разлагает симазин. Применение ацетала, примэкстры, харнеса, трофи, дуал и других почвенных гербицидов в рекомендованной дозе и даже в двойной дозе не влияет на микроспорогенез. Однако влияние послевсходовых гербицидов, таких как титус, магро и базис, которые на сегодняшний день наиболее часто используются по всходам кукурузы, особенно на участках гибридизации, практически недостаточно изучены в плане пыльцеообразующей способности кукурузы, полноте опыления женских соцветий пыльцой метелки растений, обработанных гербицидами [10].

Пыльцевой анализ как инструмент для определения оптимальных цветков в соцветии для сбора пыльцы в

гибридизационных работах. Особенности прорастания пыльцы из цветков, взятых с разных частей растения или даже в пределах одного соцветия, в зависимости от сроков зацветания, отмечали многие исследователи. Отдельные цветки в соцветии находятся не в одинаковых условиях питания, что приводит к определенной разнице в величине пыльцевых зерен и не может не отразится и на особенностях прорастания пыльцы. Для большинства видов растений исследователи отмечали максимальный процент проросших пыльцевых зерен из цветков нижней части соцветия, реже из средней части [8]. Так при опылении более жизнеспособной пыльцой из центральных стержней кукурузы формируются растения, более продуктивные по сравнению с растениями, полученным при опылении со всего соцветия, в массе менее жизнеспособных. При исследовании гибридов лилии отмечено, что разница в прорастании пыльцы сравниваемых цветков оказалась довольно значительной и далеко не всегда в пользу нижних цветков [11]. В связи с этим проведение пыльцевого анализа сложных соцветий позволяет отбирать более продуктивные по пыльце цветки в соцветии и включать их в схему гибридизации.

Пыльцевой анализ при оценке генотипов на устойчивость к засолению. Засоление почвы, как было установлено, вызывает стерильность пыльцы у растений, снижает ее жизнеспособность и тем самым нарушает прорастание пыльцевых трубок. Показано, что при концентрации соли 0,6% у всех сортов канолы снижалась жизнеспособность пыльцевых зерен [18]. Однако, капельное орошение соленой водой не влияло на рост пыльцевых трубок. Таким образом, при разработке систем орошения важно подбирать устойчивые сорта на засоление на основе пыльцевого анализа или вести селекцию на солеустойчивые генотипы.

Таким образом, использование пыльцевого анализа позволяет значительно расширить понимание репродуктивной биологии растений, успешно решать вопросы интродукции растений, отдаленной гибридизации, генетического мониторинга растений при антропогенном загрязнении поллютантами и расширять спектр селекционных работ.

Литература

1. Батыгина Т.Б., Васильева В.Е. Размножение растений .СПб.:Изд-во Санкт-Петерб.ун-та, 1999.102с.
2. Батыгина Т.Б., Круглова Н.Н., Горбунова В.Ю. и др. От микроспоры – к сорту. М.: Наука, 2010. 174 с.
3. Голубинский И.Е. Биология прорастания пыльцы. Киев: Наукова думка, 1974. – 368с.
4. Зеленцов В.С., Цаценко Л.В. Проблема фертильности сортов сои северного экотипа в эколого-географических условиях юга России //Материалы Международ.конференции «Научное наследие Н.И.Вавилова – фундамент развития отечественного и мирового сельского хозяйства». 27-28 ноября, 2007. Москва. – С.61-62.
5. Круглова Н.Н. Оценка качества пыльцевых зерен в зрелых пыльниках остролодочника сходного в условиях интродукции // Вестник Удмуртского университета, Вып.1. 2011.-С.67-74.
6. Куприянов П.Г. Диагностика систем семенного размножения в популяциях цветковых растений. Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 1989. 160 с.
7. Левина Р.Е. Репродуктивная биология семенных растений. М.: Наука, 1981. 96 с.
8. Лыско И.А. Харакатеристика репродуктивной системы гибрида F1 Mo755x L.esculentum var.Racemigerum (large) Brezh.Tomato //Научный журнал Кубгау, №68(04), 2011. Режим доступа: http: ej.kubagro.ru/2011/04pdf/41/pdf/
9. Мосунов С.А., Цаценко Л.В. Фертильность пыльцы у *Nicotiana tabacum* L.//Сб.научных трудов института ГНУ ВНИИТТИ. – Краснодар, 2008. – С.55-60.
10. Очнев А.С.Продуктивность гибридов и самоопыленных линий кукурузы в зависимости от химического способа борьбы с сорняками на выщелоченном черноземе Западного Предкавказья: автореферат. дис.канд.с.-х.наук. – Краснодар, 2006. – 24с.
11. Пугачева А.Ю. Особенности прорастанеия пыльцы Lilium hybridum Nort. в связи с месторасположением цветка на растении//Промышленная ботаника, 2009. Вып.9.-С.194-199.
12. Рощина В.В., Мельникова Е.В. Хемочувствительность пыльцы к озону и пероксидам // Физиология растений. 2001. Т. 48, №1. С. 89-99.
13. Смирнов И.А. Жизнеспособность пыльцы некоторых видов хвойных интродуцентов //Бюл.ГБС АН СССР. – 1977. - №106. – С.32-38.
14. Фисюнов А.В. Справочник по борьбе с сорняками. – М.:Колос,-1984. 2-е изд.перераб. и доп. -255с.
15. Цаценко Л.В. Цитогенетическое воздействие различных систем земледелия на пшеницу// Вестник Российской академии с.х.наук.- 2000.-N3. – С.51-53.

16. Цаценко Л.В., Зеленцов В.С. Влияние продолжительности фотопериода на формирование элементов цветка сои //Сборник статей 2-й Международной конференции по сое «Современные проблемы селекции и технологии возделывания сои», 2008. Краснодар, -С.122-128.
17. Цаценко Л.В., Синельникова А.С., Гутиева Н.М. Цитологический анализ пыльцевых зерен коллекционных сортов и гибридов пеларгонии //Труды КубГАУ.2011.- №2(29)-С.77-80.
18. Gul H.,Ahmad R. Effect of salinity on pollen viability of different canola (Brassica napus L.) cultivars as reflected by the formation of fruits and seeds //Pak.J.Bot.2006. N38(2).- P.237-247.