

УДК 581.331.2:633.11«324»]:632.254

UDC 581.331.2:633.11«324»]:632.254

ПОКАЗАТЕЛЬ ФЕРТИЛЬНОСТИ МУЖСКОГО ГАМЕТОФИТА КАК КРИТЕРИЙ В БИОТЕСТИРОВАНИИ ВЛИЯНИЯ ГЕРБИЦИДОВ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ СИСТЕМУ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

FERTILITY OF MALE GAMETOPHYTE AS A CRITERION IN THE BIOTESTING OF THE IMPACT OF HERBICIDES ON THE REPRODUCTIVE SYSTEM OF SOFT WHEAT

Звягина Анастасия Сергеевна
аспирант, кафедра генетики, селекции и семеноводства
Кубанский государственный аграрный университет, Россия, Краснодар, Калинина 13
yatsanmi@mail.ru

Zvyagina Anastasiya Sergeevna
postgraduate student, the Department of Genetics, selection and seed growing
Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia, Kalinina street 13

С помощью методики экспресс оценки состояния окружающей среды по тест-системе «Стерильность пыльцы растений-биоиндикаторов» было проведено исследование на определение фертильности мужского гаметофита озимой мягкой пшеницы в условиях гербицидной нагрузки

Using the method of rapid assessment of the environmental state on the Steel of pollen-bioindicators test-system the study was conducted to determine fertility of male gametophyte of soft wheat in the conditions of herbicide load

Ключевые слова: ПЫЛЬЦЕВОЕ ЗЕРНО, ФЕРТИЛЬНОСТЬ, ОЗИМАЯ ПШЕНИЦА, ГЕРБИЦИД

Keywords: POLLEN GRAINS, FERTILITY, WINTER WHEAT, HERBICIDE

Введение.

В современном мире на компоненты агроценоза все больше происходит антропогенное воздействие различных факторов, одним из которых является химическое загрязнение экосистемы, веществами абиогенного происхождения, к числу которых относятся пестициды, широко применяемые при выращивании сельскохозяйственной продукции [6].

Антропогенное влияние на растения проявляется комплексно в виде воздействия атмосферного, почвенного и водного загрязнений, нарушающих обмен веществ организмов. Объекты биоценоза выступают как накопители, перераспределители и фильтры на пути потока химических элементов в биосферном круговороте вещества и энергии, из которого растения не могут выйти и подвергаются воздействиям на территории обитания [7].

Для успешного процесса размножения семенных культур требуется значительное количество качественных семян растений. Стабильное получение качественных семян растений зависит от качества их зрелой пыльцы, которое во многом определяется нормальным развитием пыльника.

Изучением нетипичной пыльцы как индикаторов состояния окружающей среды стали заниматься относительно недавно. Большая часть работ, касающихся рассматриваемой проблемы, была посвящена пыльце растений, произрастающих в экологически неблагоприятных районах и исследовалась пыльца древесных и кустарниковых растений [1, 3, 8], пыльца зерновых и пропашных и овощных культур [4, 7].

При неблагоприятных условиях окружающей среды нарушается процесс развития генеративных органов растения [2]. Антропогенное загрязнение среды заметно снижает фертильность пыльцы, вызывает расширение спектра аномалий мужского гаметофита у цветковых и влияет на размер, пloidность и морфологические особенности пыльцевого зерна, химический состав и функционирование мужского гаметофита [1, 2]. Исследования реакции растений на действие каких-либо факторов позволяют выявить наиболее чувствительные фенофазы и критические стадии в развитии репродуктивных структур [8].

Современные ученые биологи используют по отношению к пыльцевым зернам с изменениями в морфологическом строении термин тератоморфные (уродливые) [1, 8, 9].

Морфологическая изменчивость оболочек пыльцевых зерен зависит от воздействия таких антропогенных факторов, как пожары, радиация, повышенная концентрация тяжелых металлов и пестицидов и других вредных веществ [2, 6].

У пыльцевых зерен, сформировавшихся из аномальных микроспор, обычно дефектны оболочка и протопласты клеток. Разные показатели качества пыльцы: фертильность, жизнеспособность, степень дефектности,

прорастание на искусственных средах, морфологические особенности успешно используются в биотестировании различных поллютантов на репродуктивную систему растений [7].

Проведение пыльцевого анализа позволяет определить репродуктивный потенциал растений по характерным особенностям пыльцевых зёрен: размеру, его фертильности и жизнеспособности. Эти характеристики учитывают при проведении селекционных работ с целью получения продуктивного потомства.

Цель нашей работы заключалась в изучение использования пыльцы озимой мягкой пшеницы сорта Таня как биотестера при оценки негативного действия гербицидов на репродуктивную систему пшеницы.

Для достижения поставленной цели были решены следующие задачи: проведены полевые и лабораторные опыты, выбрана методика тестирования с учетом объекта изучения, проведен цитологический анализ на определение фертильности и проведена статистическая оценка результатов.

Материал и методика исследования.

Объектом исследования служила озимая мягкая пшеница сорта Таня (разновидность *lutescens*). Для проведения исследований была выбрана методика экспресс оценки состояния окружающей среды по тест-системе «Стерильность пыльцы растений-биоиндикаторов»[3]. Весной в фазу кущения делянки обработали смесью гербицидов Пума Супер 100 и Секатор Турбо норма расхода 0,75 л/га + 0,15 кг/га, в качестве контроля использовали делянки, где не вносились гербициды.

В фенофазу начала цветения отбирали по 25 растений с обработанных гербицидами делянках и необработанных участков, которые выступали в роли контроля. От каждого растения отбирали по 10 зрелых нераскрывшихся пыльников из средней трети соцветия (колос). Затем извлекали пыльцу из пыльников, с помощью препаровальной иглы на предметном

стекле, производили окрашивание ацетокармином (рисунок 1). Пыльцевые зерна пшеницы окрашивали ацетокармином, т.к. установлено ранее, что на этот краситель у озимой пшеницы, как аллогексаплоидного растения, наиболее четко прокрашиваются пыльцевые зерна по сравнению с другими красителями [5].



Рисунок 1 – Извлечение пыльцевых зерен из пыльника на предметное стекло в каплю красителя

Пыльцу рассматривали под микроскопом Микрос МС 100 с фото-насадкой и фотоаппаратом Canon A-620 7.1 mega pixels. Увеличение на микроскопе при исследованиях пыльцы было 10x25, 40x65.

Считали общее количества пыльцевых зерен, а также фертильных (нормальной морфологии) и аномальных пыльцевых зерен (стерильных) в зрелых пыльниках пшеницы. Полученные данные обрабатывали статистически с применением программы Microsoft Excel 2000.

Результаты исследований.

В опыте изучали несколько делянок, которые были обработаны одной концентрацией смеси гербицидов Пума Супер 100 и Секатор Турбо. По данным таблицы 1 достоверные изменения фертильности пыльцевых зерен по сравнению с контролем отмечены на делянках № 31 и № 17, на остальных делянках этот показатель значительно не отличается от контроля.

Таблица 1 - Фертильность пыльцевых зерен озимой мягкой пшеницы сорта Таня (%), подвергшихся воздействию гербицидов, 2012 г., учхоз «Кубань», г. Краснодар

Делянка*	Повторности				Среднее
	1	2	3	4	
Контроль	84,3	89,5	90,1	84,4	87,08
№ 4 (Пума+Секатор)	77,1	69,9	89,4	84,8	80,30
№ 17 (Пума+Секатор)	82,1	77,7	72,4	84,9	79,28
№ 31 (Пума+Секатор)	81,2	79,7	77,1	81,5	79,85
№ 63 (Пума+Секатор)	84,3	73,7	88,1	89,1	83,78
НСР ₀₅					6,58

Примечание: * рассматривались разные делянки обработанные смесью гербицидов опытного поля.

В результате цитологического анализа установлено, что клетки стерильной и фертильной пыльцы отличаются по интенсивности окрашивания (табл. 1). У фертильных пыльцевых зерен зернистая цитоплазма и спермии окрашены в густой карминово-красный цвет. Стерильные пыльцевые зерна почти не окрашиваются кармином или окрашиваются неравномерно всего на 10-30 %, приобретая слабый практически прозрачный светло-коричневый цвет (рисунок 2-3).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что поллютанты оказывают негативное влияние на состояние мужского гаметофита, так на контроле показатель фертильности составил 87,08 %, а на делянках с применением гербицидов снизился.

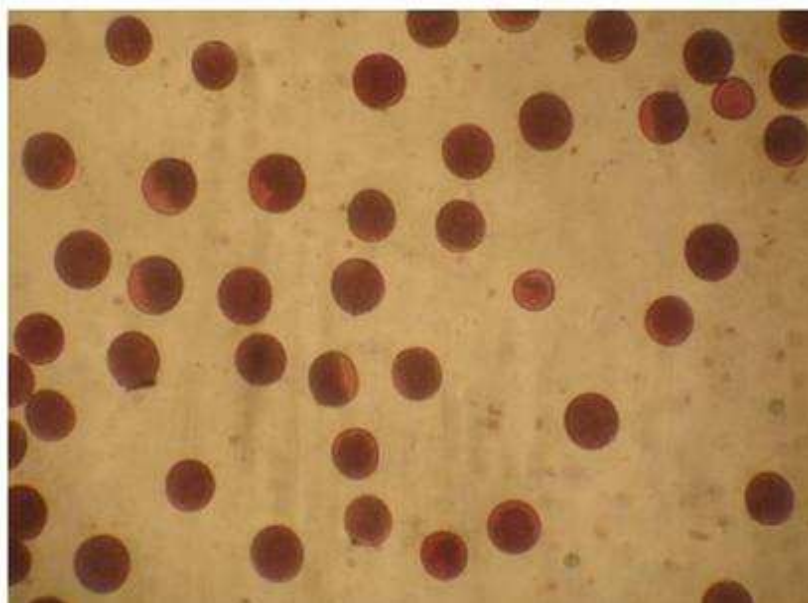


Рисунок 2 – Пыльцевые зерна озимой мягкой пшеницы сорта Таня, окрашенные ацетокармином в варианте, без обработки гербицидами (контроль)

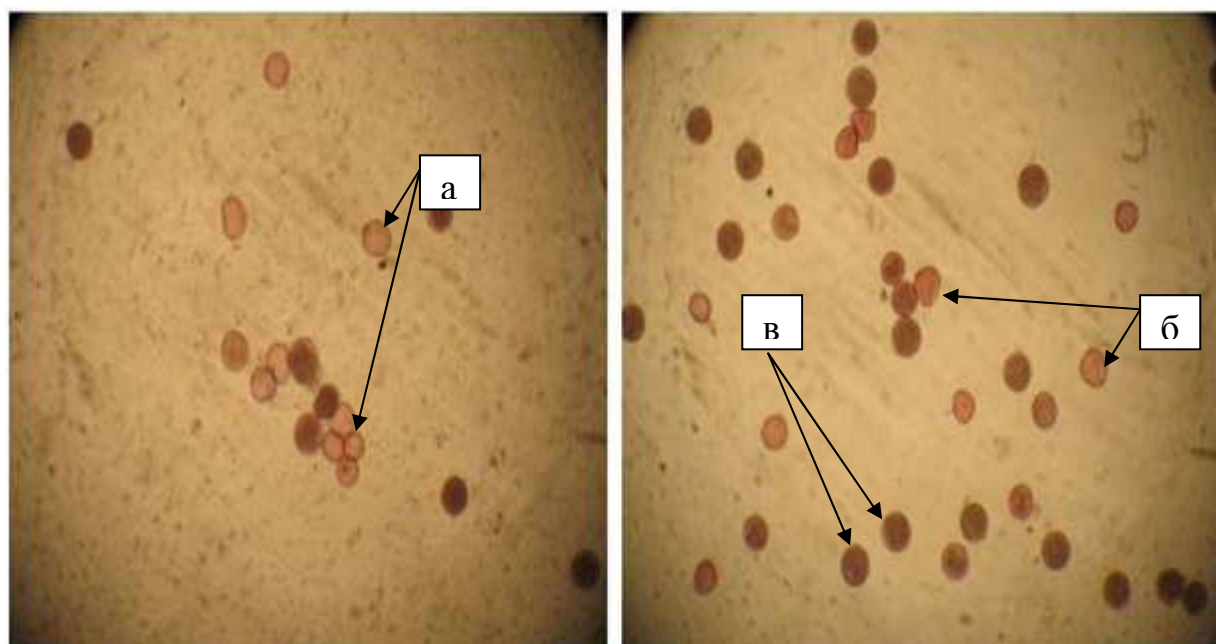


Рисунок 3 – Пыльцевые зерна озимой мягкой пшеницы сорта Таня, окрашенные ацетокармином в варианте с обработкой гербицидами

Все пыльцевые зерна равномерно окрашенные являются фертильными и могут успешно участвовать в процессе оплодотворения (на рис. 3в), а пыльцевые зерна имеющие светлый оттенок являются стерильными (на рис. 3а, б).

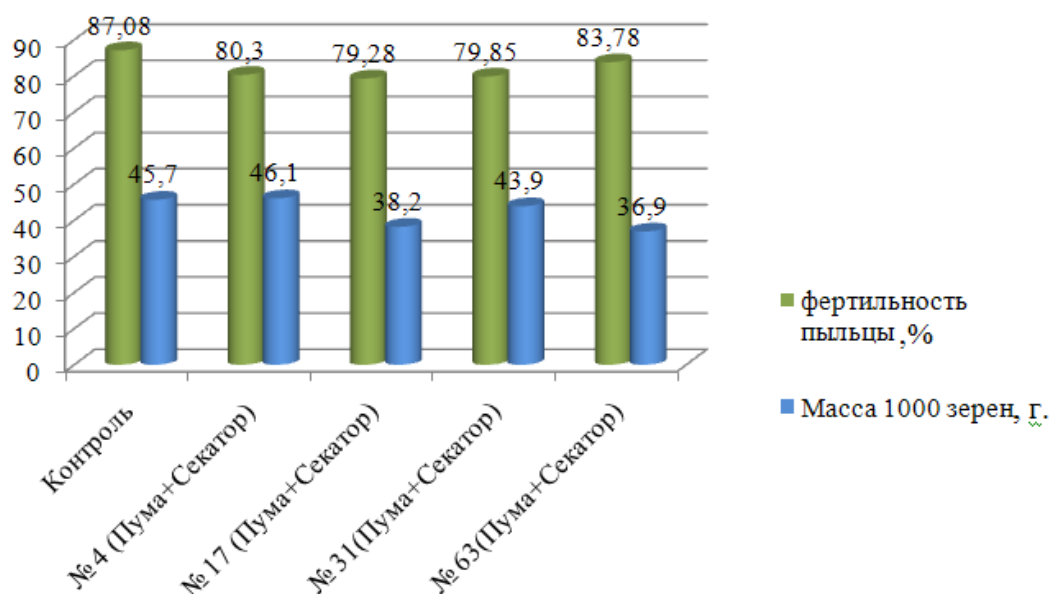


Рисунок 4 – Соотношение фертильности пыльцевых зерен озимой мягкой пшеницы и массой 1000 зерен

Цитологического анализа определения влияния гербицидов на репродуктивную систему пшеницы недостаточно для утверждения точного вывода действия поллютантов на систему размножения пшеницы. Поэтому мы решили определить есть ли закономерность между фертильностью пыльцевых зерен и формированием высоких урожаев. Для этого был проведен анализ структуры урожая, в результате которого установили, что на обработанных гербицидами вариантах не происходит снижения урожайности. Так на делянках №17, 31 (табл. 1), где растения имеют низкий процент фертильности, средняя масса 1000 зерен составила 38,2 и 43,9 г. соответственно, а на контроле - 45,7 г. (рис. 4).

В работе был проведен анализ изменения доли основного типа пыльцевого зерна в зависимости от обработки гербицидом, посчитано об-

щее количество пыльцевых зерен, фертильных (нормальных) и аномальных пыльцевых зерен в зрелых пыльниках пшеницы.

Таблица 3 – Типы пыльцевых зерен озимой мягкой пшеницы сорта Таня, подвергшихся воздействию гербицидов, 2013 г., учхоз «Кубань», г. Краснодар.

Делянка	Пыльцевые зерна				
	Нормальные, %	Аномальные			
		Стерильные, %	Деформированные, %	Мелкие, %	Крупные, %
Контроль	83,2	14,2	0,3	1,3	1,2
№ 13 (Пума+Секатор)	76,8	18,4	1,6	1,3	1,9
№ 36 (Пума+Секатор)	82,2	12,6	0,8	3,3	1,1
№ 80 (Пума+Секатор)	78,9	15,3	3,9	0,8	1,1
№ 68 (Пума+Секатор)	72,2	23,2	1,3	3,1	0,3
НСР ₀₅	5,43	1,2	0,5	0,6	0,4

По результатам таблицы 3 можно сделать заключение, что применение гербицидов оказывает пагубное влияние на качество пыльцы, доля аномальных пыльцевых зерен на делянках с обработкой была выше по сравнению с контролем, при этом возрастает количество крупных, мелких и деформированных пыльцевых зерен, что доказывает негативное влияние пестицидов на репродуктивную систему пшеницы.

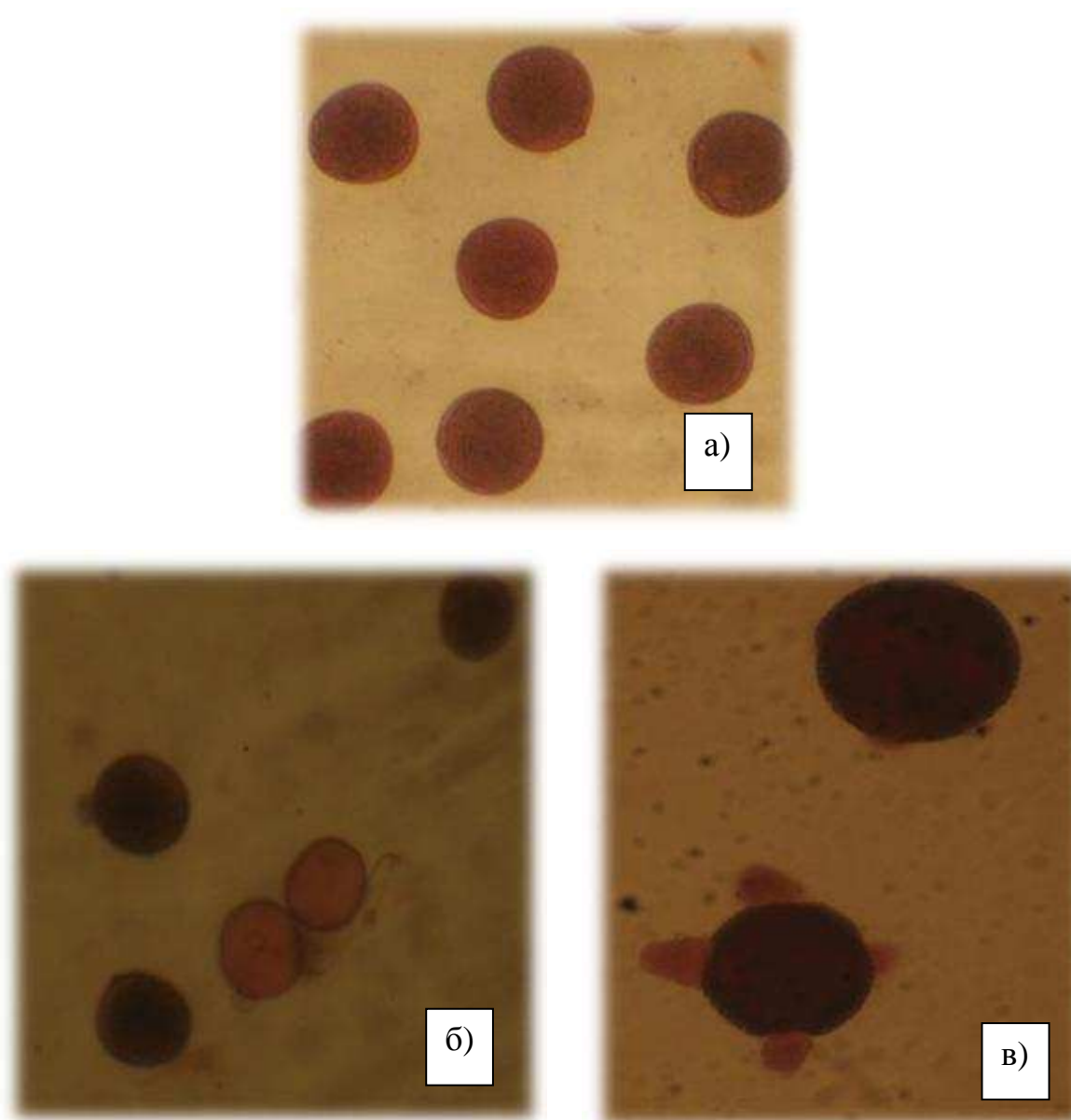


Рисунок 5 - Типы пыльцевых зерен пшеницы: а) нормальные; б) стерильные; в) деформированные за счет израстания, т.е. наружная оболочка прорывается и содержимое пыльцевого зерна изливается из пор пыльцевого зерна

Выводы:

В результате проведенных исследований было выявлено: 1) пыльца озимой мягкой пшеницы сорта Таня качественно изменяется при обработке гербицидами Пума Супер 100 и Секатор Турбо, при этом процент фертильности снижается по сравнению с контролем, а аномальность пыльце-

вых зерен возрастает; 2) происходит неоднозначное изменение качества пыльцы при воздействии препаратов. В большинстве случаев у исследуемых образцов фертильность была ниже, чем в контроле; 3) при структурном анализе урожайности пшеницы не выявлено негативного влияния гербицидов на репродуктивную систему. Так нами установлено, что средняя масса 1000 зерен на контроле составила 45,7 г., а на исследуемых вариантах колебалась от 46,1 до 36,9 г.

Литература

1. Бессонова В.Н. Состояние пыльцы как показатель загрязнения среды тяжелыми металлами // Экология. Екатеринбург, 1993. № 3. С. 45—50.
2. Зеленцов С. В. Стрессовые условия внешней среды как причина генетических рекомбинаций у цветковых растений на примере видов сои культурной *Glycine max (L.) Merr.*, сои уссурийской *G. soja Sieb. et Zucc.* и льна обыкновенного *Linum usitatissimum L.* // С. В. Зеленцов, Е. В. Мошненко, Л. В. Цаценко, В. С. Зеленцов / Научный диалог. Вып.1(25), 2014. – С.14-29.
3. Круглова А.Е. Оценка качества пыльцевых зерен в зрелых пыльниках остролодочника сходного в условиях интродукции // Вестник Удмуртского университета, Вып.1, 2011. – С. 67-74.
4. Лукомец В.М. Цитологический скрининг мужского гаметофита линий подсолнечника, устойчивых к имидазолиновым гербицидам // В.М. Лукомец, Н.И. Бочкарев, А.А. Цаценко и др./ Труды Кубанского государственного университета, №2(35), 2012– С.117-122.
5. Практикум по цитологии и цитогенетике растений / В.А. Пухальский, А.А. Соловьев, Е.Д. Бадаева и др. М.: КолосС, 2007. – 198 с.
6. Солнцева М. П., Глазунова К. П. Влияние промышленного и транспортного загрязнения среды на репродукцию семенных растений // Журнал общей биологии, 2010, Том 71, вып. № 2, С. 165-175.
7. Цаценко Л.В. Синельникова А.С. Пыльцевой анализ в селекции // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ, 2012. – №03(077). С. 88 – 98. – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2012/03/pdf/09.pdf>.
8. Цаценко Л.В., Нековаль С.Н. Пыльцевой анализ (монография) Краснодар, КубГАУ, 2012. - 126с.
9. Цаценко Л.В., Нековаль С.Н., Синельникова А.С. Пыльцевой анализ сельскохозяйственных растений (методическое пособие) Краснодар, КубГАУ, 2012. – 54с.

References

1. Bessonova V.N. Sostojanie pyl'cy kak pokazatel' zagrjaznenija sredy tjazhelymi me-tallami // Jekologija. Ekaterinburg, 1993. № 3. S. 45—50.

2. Zelencov S. V. Stressovye uslovija vneshnej sredy kak prichina geneticheskikh rekombinacij u cvetkovyh rastenij na primere vidov soi kul'turnoj *Glycine max* (L.) Merr., soi ussurijskoj *G. soja* Sieb. et Zucc. i l'na obyknovennoho *Linum usitatissimum* L. //S. V. Zelencov, E. V. Moshnenko, L. V. Cacenko, V. S. Zelencov / Nauchnyj dialog. Vyp.1(25), 2014. – S.14-29.
3. Kruglova A.E. Ocenka kachestva pyl'cevyh zeren v zrelyh pyl'nikah ostrolodochni-ka shodnogo v uslovijah introdukcii // Vestnik Udmurtskogo universiteta, Vyp.1, 2011. – S. 67-74.
4. Lukomec V.M. Citologicheskij skringing muzhskogo gametofita linij podsolnechni-ka, ustojchivyh k imidazolinonovym gerbicidam // V.M. Lukomec, N.I. Bochkarev, A.A. Cacenko i dr./ Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo universiteta, №2(35), 2012– S.117-122.
5. Praktikum po citologii i citogenetike rastenij / V.A. Puhalskij, A.A. Solov'-ev, E.D. Badaeva i dr. M.: KolosS, 2007. – 198 s.
6. Solnceva M. P., Glazunova K. P. Vlijanie promyshlennogo i transportnogo zagryaznenija sredy na reprodukciju semennyh rastenij //Zhurnal obshhej biologii, 2010, Tom 71, vyp. № 2, S. 165-175.
7. Cacenko L.V. Sinel'nikova A.S. Pyl'cevoj analiz v selekcii // Politematicheskij setevoj elektronnyj nauchnyj zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo univer-siteta (Nauchnyj zhurnal KubGAU) [Elektronnyj resurs]. – Krasnodar: KubGAU, 2012. – №03(077). S. 88 – 98. – Rezhim dostupa: <http://ej.kubagro.ru/2012/03/pdf/09.pdf>.
8. Cacenko L.V., Nekoval' S.N. Pyl'cevoj analiz (monografija) Krasnodar, KubGAU, 2012. - 126s.
9. Cacenko L.V., Nekoval' S.N., Sinel'nikova A.S. Pyl'cevoj analiz sel'skohozjaj-stvennyh rastenij (metodicheskoe posobie) Krasnodar, KubGAU, 2012. – 54s.