

УДК 631.527:633.112.9

РУБЕЦ В.С., канд. биол. наук

МИТРОШИНА О.В., аспирантка

ПЫЛЬНЕВ В.В., д-р биол. наук

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева

ИЗБИРАТЕЛЬНОСТЬ ОПОЛОДОТВОРЕНИЯ КАК ВОЗМОЖНАЯ ПРИЧИНА БИОЛОГИЧЕСКОГО ЗАСОРЕНИЯ СЕМЕНОВОДЧЕСКИХ ПОСЕВОВ ТРИТИКАЛЕ

Проведено изучение избирательности оплодотворения сортообразцов озимой гексаплоидной тритикале косвенным и прямым методами. Первый заключался в оценке степени прорастания собственной и чужой пыльцы на рыльцах пестиков, а также в сравнении динамики роста пыльцевых трубок собственных и чужих гаметофитов в тканях рылец. Об избирательности оплодотворения прямым методом судили по соотношению негибридных и гибридных растений в потомстве от опыления прокастрированных цветков смесью пыльцы, состоящей из собственной пыльцы и пыльцы другого сорта тритикале. Показано, что сорта тритикале существенно различаются по избирательности оплодотворения, что следует учитывать при ведении их семеноводства.

Ключевые слова: тритикале, семеноводство, избирательность оплодотворения, негибридные и гибридные растения.

Постановка проблемы, анализ последних исследований и публикаций. Одной из причин регулярного появления в семеноводческих посевах тритикале нетипичных растений может быть биологическое засорение, являющееся следствием спонтанной межсортовой гибридизации. Это, главным образом, определяется биологией цветения и опыления тритикале, поскольку она сочетает в своем генотипе геном самоопылителя (пшеницы) и геном перекрестноопыляющегося вида (ржи). Влияние последнего выражается в повышенной склонности этой гибридной культуры к факультативной аллогамии (до 17 %), что предоставляет возможность для появления нетипичных растений в посевах тритикале [2, 6, 8].

Большинство цветков тритикале цветут открыто, что дает возможность попадания на рыльца пестиков наряду с собственной пылью пыльцы других сортов. Какая пыльца в итоге будет участвовать в образовании семени, зависит от избирательности пыльцы в прогамную фазу оплодотворения. Благоприятный исход оплодотворения зависит от многих причин, в т.ч. от жизнеспособности и совместимости женского и мужского гаметофитов, проявляющихся в прогамную фазу оплодотворения [6, 7, 9, 10, 11].

Предпочтение собственной или чужой пыльцы может выражаться в более раннем прорастании пыльцевых зерен, в более энергичном росте пыльцевых трубок, их большей длине, и в итоге – в появлении в чистосортном посеве гибридных растений, снижающих его сортовую чистоту.

Цель и задания исследований. Данное исследование посвящено изучению избирательности оплодотворения у сортообразцов озимой тритикале, проявляющейся в прогамную и постгамную фазы оплодотворения. Предполагается, что при избирательности пыльцы у изучаемого сортообразца будут наблюдаться следующие явления: 1) на рыльцах пестиков будет быстрее прорасти та пыльца, которая более предпочтительна для осуществления оплодотворения; 2) предпочитаемые микрогаметофиты будут иметь более длинные пыльцевые трубки; 3) при опылении смесью пыльцы прокастрированных цветков в потомстве будут преобладать гибридные или негибридные растения в зависимости от того, какая пыльца более предпочтительна (собственная или чужая). Отсутствие избирательности оплодотворения приведет к примерно одинаковой доле гибридных и негибридных растений у потомства. Сдвиг равновесия в сторону преобладания любой группы растений будет означать наличие избирательности своей либо чужой пыльцы.

Материал и методика. Исследования проводились на кафедре селекции и семеноводства полевых культур и селекционной станции имени П.И. Лисицына Российского государственного аграрного университета МСХА им. К.А. Тимирязева в 2011-2012 гг. В изучении в качестве модельных объектов использовали сортообразцы озимой гексаплоидной тритикале с рецессивными признаками (белый колос, неопушенные колосковые чешуи): Валентин (РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева), линия 21759/97 (Донской зональный НИИСХ, Ростовская область), Гермес

(Московский НИИСХ «Немчиновка»). Эти образцы, по нашим предварительным исследованиям, различались по реакции на самоопыление (два первых образца довольно сильно снижали завязываемость зерен при изоляции колосьев, но последний – никак на нее не реагировал) [5].

Для оценки избирательности оплодотворения у этих сортообразцов использовали два сорта с доминантными признаками (красная окраска колоса, опушенные колосковые чешуи) – Водолей (Донской зональный НИИСХ, Ростовская область) и Presto (Польша).

Работа состоит из двух частей: лабораторного эксперимента по определению избирательности в прогамную фазу оплодотворения и полевого – в постгамную фазу.

В фазу колошения проводили кастрацию цветков у белоколосых образцов. Лабораторный эксперимент заключался в определении степени прорастания пыльцы на рыльцах пестиков в прогамную фазу оплодотворения. В фазу цветения срезали прокастрированные колосья, в лаборатории часть из них твел-методом опыляли собственной пыльцой, а часть – пыльцой красноколосого сорта. Затем проводили фиксацию опыленных колосьев уксусным алкоголем (96 % спирт: ледяная уксусная кислота в соотношении 3:1) через определенный промежуток времени (20, 45, 60, 90, 120 мин.) [3]. Далее проводили подсчет общего числа пыльцевых зерен, попавших на рыльце, числа проросших пыльцевых зерен под микроскопом «Primostar», а также измеряли длину пыльцевых трубок на временных гистологических препаратах. Приготовление препаратов осуществляли по следующей методике: выделяли завязи из цветков, проводили их мацерацию в течение 1 ч в 20 % растворе КОН в 70 % этиловом спирте [4], затем промывали их в дистиллированной воде и помещали в 0,01 % раствор красителя анилинового голубого. Окрашивание длилось в течение 24 ч, после чего завязи промывали в дистиллированной воде и заключали в каплю смеси глицерина и дистиллированной воды в соотношении 1:1 [3]. Сверху накрывали покровным стеклом, осторожно раздавливая завязи рукояткой препаровальной иглы так, чтобы рыльца были хорошо расправлены и легко просматривались.

Готовые временные препараты просматривали под флуоресцентным микроскопом «Axioscop 40». При освещении ультрафиолетовым светом пыльцевые трубки имеют желто-зеленую окраску (рис. 1), они хорошо видны как на поверхности, так и внутри ткани рылец.

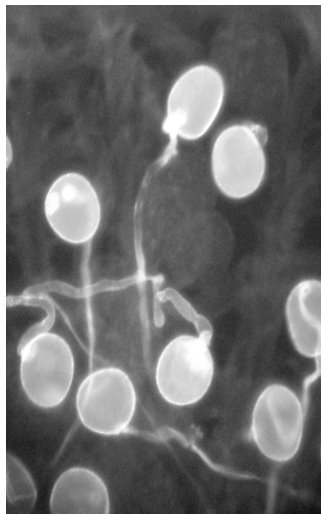


Рис. 1. Прорастание пыльцевых зерен тритикале на рыльцах пестиков.

Под микроскопом измеряли длину пыльцевых трубок на 50 временных препаратах (примерно 500-600 пыльцевых трубок на каждый вариант опыления, 6 колосьев на вариант опыления, 30 колосьев – на каждый сорт, контроль – вариант с опылением пыльцой собственного сорта).

Полевой эксперимент заключался в опылении прокастрированных цветков белоколосых сортообразцов смесью пыльцы (собственного образца и красноколосого сорта). В этом случае на каждый вариант опыления потребовалось по 30 прокастрированных колосьев. Полученные семена были высеяны в вегетационные сосуды и после яровизации перенесены в теплицу. После созревания, когда проявились доминантные признаки, в потомстве от каждого сорта были подсчитаны белоколосые и красноколосые растения.

Оценку избирательности оплодотворения проводили косвенным методом по динамике роста пыльцевых трубок и проценту проросших пыльцевых зерен на рыльцах при самоопылении и опылении пыльцой красноколосого сорта, и прямым методом – по проценту белоколосых и красноколосых растений, полученных от опыления белоколосых образцов смесью пыльцы. Следует отметить, что опытные образцы были подвергнуты самоопылению в течение 2 лет до начала данного опыта, поэтому у них вероятность гетерозигот очень мала.

Сравнение полученных данных проводили при помощи χ^2 и с помощью дисперсионного анализа [1]. При необходимости данные были преобразованы в угол-арксинус $\sqrt{\text{процент}}$.

Результаты исследований и их обсуждение. По литературным данным [6, 7], пыльца тритикале начинает прорастать только через 30 минут от опыления, в то время как по нашим

результатам, приведенным в таблице 1, уже через 20 минут от опыления в каждом варианте наблюдается довольно высокий процент проросших зерен (6-24 %). Самое интенсивное прорастание пыльцевых зерен отмечено на рыльцах пестиков сорта Гермес, причем собственная пыльца прорастает достоверно более интенсивно, чем пыльца сорта Водолей. Это подтверждается и при сравнении длины пыльцевых трубок (рис. 2) – при самоопылении уже через 20 мин пыльцевые трубки достоверно более длинные, чем при опылении пыльцой сорта Водолей.

Таблица 1 – Процент проросших пыльцевых зерен на рыльцах пестиков различных сортообразцов тритикале

Вариант опыления	Время от опыления до фиксации опыленных цветков, мин				
	20	45	60	90	120
Гермес × Водолей	18,0±0,1	18,4±0,1	29,6±0,2	30,8±0,1	36,0±0,1
Гермес × Гермес	24,1±0,2	30,6±0,2	29,8±0,1	31,9±0,1	45,0±0,3
Л. 21759/97 × Presto	8,6±0,2	18,9±0,2	25,9±0,1	41,9±0,3	48,1±0,2
Л. 21759/97 × Л. 21759/97	18,5±0,2	19,5±0,2	22,9±0,3	23,2±0,2	34,9±0,2
Валентин × Валентин	8,0±0,2	16,7±0,1	22,8±0,5	27,3±0,2	26,7±0,1
Валентин × Presto	6,0±0,1	9,1±0,1	16,3±0,1	28,2±0,2	39,5±0,6

Через 45 мин после опыления также наблюдается преимущественное прорастание собственной пыльцы, затем при более поздних сроках фиксации пыльцевые зерна обоих сортов прорастают примерно одинаково на рыльцах пестиков сорта Гермес, однако длина пыльцевых при самоопылении всегда достоверно выше, чем при опылении пыльцой сорта Водолей, что косвенно свидетельствует о предпочтении собственной пыльцы (табл. 1, рис. 2).

У линии 21759/97 также при экспозициях в 20 и 45 минут от опыления отмечено более интенсивное прорастание собственной пыльцы. Затем при более длительных экспозициях преимущество получает пыльца другого сорта Presto (табл. 1). Подтверждение этому можно увидеть и по длине пыльцевых трубок – через 20 минут от опыления быстрее растут собственные пыльцевые трубки в сравнении с гаметофитами линии 21759/ 97 (рис. 2). Это косвенно свидетельствует о наличии избирательности чужой пыльцы у линии 21759/97.

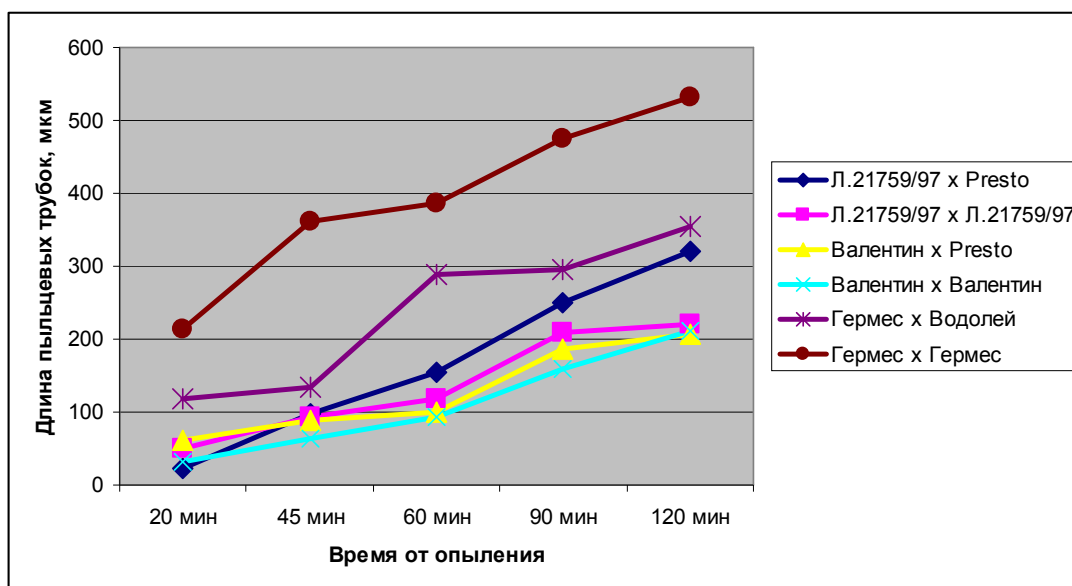


Рис. 2. Динамика роста пыльцевых зерен в тканях пестиков тритикале.

У сорта Валентин отмечен самый низкий процент прорастания пыльцевых зерен на рыльцах пестиков в первые 60 минут после опыления, причем процент проросших собственных пыльцевых зерен при экспозициях 20, 45 и 60 минут существенно выше, чем гаметофитов сорта Presto. Затем картина изменяется на противоположную. Однако в первые 45 минут пыльцевые трубки сорта Presto опережают по длине собственные гаметофиты, затем существенной разницы

между вариантами опыления не наблюдается, что свидетельствует об отсутствии у сорта Валентин предпочтения определенной пыльцы.

Прямой метод оценки избирательности оплодотворения у озимой тритикале путем опыления прокастрированных цветков смесью пыльцы выявил что, у сорта Гермес негибридных белоколосых растений оказалось существенно больше, чем красноколосых. Сравнение проводили при помощи χ^2 (χ^2 фактический > χ^2 теоретический). У линии 21759/97 – наоборот – гибридные растения преобладают. У сорта Валентин в потомстве оказалось примерно одинаковое соотношение негибридных и гибридных растений, что показывает отсутствие избирательности оплодотворения у этого сорта.

Вывод. Обобщая все вышесказанное, следует отметить, что изучаемые белоколосые сортообразцы озимой гексаплоидной тритикале принципиально отличаются друг от друга по биологии оплодотворения, что должно определять ведение их семеноводства. Предпочтение сортом Гермес собственной пыльцы предопределяет необязательность изоляции семеноводческих посевов, тогда как для остальных образцов (линия 21759/97 и Валентин) пространственная изоляция желательна, особенно для линии 21759/97, проявившей явную склонность к перекрестному опылению.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Доспехов Б.Д. Методика полевого опыта / Б.Д. Доспехов. – М.: Колос, 1973. – 336 с.
2. Комаров Н.Н. Генеративная система тритикале и особенности селекции этой культуры / Н.Н. Комаров, Н.И. Соколенко, В.П. Леонова // Состояние и перспективы развития агропромышленного комплекса Южного Федерального округа. – Ставропольский ГАУ, 2008. – С. 3-35.
3. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений / Паушева З.П. – М.: Агропромиздат, 1988. – 271 с.
4. Поддубная-Арнольди В.А. Ускоренные приемы микроскопических исследований на фиксированном материале / В.А. Поддубная-Арнольди // Бюл. Гл. Бот. Сада РАН СССР, 1954. – Вып. 18. – С. 95.
5. Рубец В.С. Особенности опыления сортов гексаплоидной озимой тритикале / В.С. Рубец, Е.А. Никитина, В.В. Пильнев // АГРО XXI. – № 7-9. – 2011. – С. 11-13.
6. Симинел В.Д. Особенности биологии цветения, опыления и оплодотворения тритикале / В.Д. Симинел, О.С. Кильчевская. – Кишинев: Штиинца, 1984. – 152 с.
7. Тихенко И.Д. Строение мужского гаметофита и прогамная фаза оплодотворения у тритикале различного уровня плоидности / И.Д. Тихенко // Проблемы опыления и оплодотворения у растений. / Сб. науч. трудов по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1986. –Т. 99. – С. 79-82.
8. Эмбриология зерновых, бобовых и овоще-бахчевых возделываемых растений / Чеботарь А.А., Челак В.Р., Мошкович А.М., Архипенко М.Г. – Кишинев: Изд-во Штиинца, 1987. – 225 с.
9. Robert Swanson. Species Specificity in pollen- pistil interaction / Robert Swanson, Anna F. Edlund and Daphne Preuss // Annu. Rev. Genet. – Vol. 38. – 2004. –P. 793-818.
10. Wouter Lange. The Crossing of common wheat (*triticum aestivum* L.) with cultivated rye (*secale cereal* L.). I. Crossability, pollen grain germination and pollen tube growth / Wouter Lange, Barbara Wojciechowska //Euphitica. – Vol. 25. – 1976. –P. 171-173.
11. Y. Heslop-Harrison. The pollen- stigma interaction in the grasses. Pollen – tube guidance and the regulation of tube number in *zea mays* L. / Y. Heslop-Harrison, J. Heslop-Harrison, B.J. Reeger // Acta Bot. Neerl. – Vol.34. – N.2. – 1985. –P. 193-211.

Вибірковість запліднення як можлива причина біологічного засмічення насінницьких посівів тритикале В.С. Рубець, О.В. Мітрошина, В.В. Пильнев

Проведено вивчення вибірковості запліднення сортозразків озимої гексаплоїдної тритикале непрямым і прямим методами. Перший полягав в оцінці ступеня проростання власного та чужого пилку на рильці маточки, а також у порівнянні динаміки зростання пилкових трубок власних і чужих гаметофітів у тканинах рилець. Про вибірковість запліднення прямим методом судили за співвідношенням негібридних і гібридних рослин у потомстві від запилення прокастрованих квіток сумішню пилку, що складається з власного пилку і пилку іншого сорту тритикале. Показано, що сорти тритикале істотно різняться за вибірковістю запліднення, що слід ураховувати при веденні їх насінництва.

Ключові слова: тритикале, насінництво, вибірковість запліднення, негібридні та гібридні рослини.

Надійшла 14.10.2013.