DOI: 10.17117/na.2015.11.04.322

<http://ucom.ru/doc/na.2015.11.04.322.pdf>

Поступила (Received): 27.11.2015

**Козарь Е.Г., Федорова М.И.,
Балашова И.Т., Заячковский В.А.
Влияние температуры на прорастание
пыльцы свеклы столовой в условиях in vitro**

**Kozar E.G., Fedorova M.I., Balashova I.T., Zaiachkovskii V.A.
Effect of temperature on pollen germination of red beet in vitro**

Статья посвящена изучению реакции микрогаметофита свеклы столовой (*Beta vulgaris* L.) на изменение температуры проращивания в условиях in vitro. Обсуждается характер взаимосвязи функциональных параметров пыльцы инбредных растений (жизнеспособность и скорость роста пыльцевых трубок) с температурным фактором. Дано обоснование выбора оптимального диапазона температуры в качестве контрольного фона для проведения сравнительной оценки инбредных потомств свеклы столовой по параметрам микрогаметофита

Article is devoted to the study of the microgametophyte reaction of red beet (*Beta vulgaris* L.) to change temperature in vitro. Discusses the relationship of the functional parameters (viability and growth rate of pollen tubes) of inbred plants pollen with temperature factor. Determined the optimal temperature of germination of pollen to estimate parameters microgametophytes inbred plants red beet

Ключевые слова: свекла, микрогаметофит, жизнеспособность, пыльцевая трубка, температура

Key words: red beet, pollen, viability, pollen tube, temperature

Козарь Елена Георгиевна

Кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник
Всероссийский научно-исследовательский институт селекции и семеноводства овощных культур
Московская область, Одинцовский р-н, пос. ВНИИССОК, ул. Селекционная, 14

Kozar Elena Georgievna

Candidate of Agricultural Sciences, Leading Researcher
All-Russian research institute of vegetable breeding and seed production
Moscow region, Odintsovo district, p. VNISSOK, Selectionnaya st., 14

Федорова Маргарита Ивановна

Доктор сельскохозяйственных наук, профессор, главный научный сотрудник
Всероссийский научно-исследовательский институт селекции и семеноводства овощных культур
Московская область, Одинцовский р-н, пос. ВНИИССОК, ул. Селекционная, 14

Fedorova Margarita Ivanovna

Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Chief Researcher
All-Russian research institute of vegetable breeding and seed production
Moscow region, Odintsovo district, p. VNISSOK, Selectionnaya st., 14

Балашова Ирина Тимофеевна

Доктор биологических наук, заведующая лабораторией
Всероссийский научно-исследовательский институт селекции и семеноводства овощных культур
Московская область, Одинцовский р-н, пос. ВНИИССОК, ул. Селекционная, 14

Balashova Irina Timofeevna

Doctor of Biological Sciences, Head of laboratory
All-Russian research institute of vegetable breeding and seed production
Moscow region, Odintsovo district, p. VNISSOK, Selectionnaya st., 14

Заячковский Владимир Александрович

Кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник
Всероссийский научно-исследовательский институт селекции и семеноводства овощных культур
Московская область, Одинцовский р-н, пос. ВНИИССОК, ул. Селекционная, 14

Zaiachkovskii Vladimir Aleksandrovich

Candidate of Agricultural Sciences, Senior Researcher
All-Russian research institute of vegetable breeding and seed production
Moscow region, Odintsovo district, p. VNISSOK, Selectionnaya st., 14

Оценка биометрических и функциональных параметров микрогаметофита свеклы *in vitro* является важной частью предбридингового этапа селекции на гетерозис [1, 2]. Они могут служить дополнительными критериями отбора ценных генотипов в инбредных потомствах при создании линейного материала. Методика проведения сравнительного анализа параметров микрогаметофита инбредных растений свеклы столовой предусматривает не только оптимизацию состава питательной среды, но и подбор необходимых температурных условий проращивания для дифференциации генотипов по данным признакам.

Изучение реакции микрогаметофита свеклы столовой на температурный фактор проводили на фертильных семенных растениях пяти различных инбредных потомств сортопопуляции Нежность. Выделенную из пыльников раскрывшихся цветков пыльцу делили на части, высевали на модифицированную питательную среду [3] и инкубировали при температурах +10...+40°C (шаг 5°C) в течение 1-24 часов в зависимости от варианта опыта. Фиксировали препараты дифференциальным красителем [4]. Микрофотосъемку проводили на микроскопе Micros с использованием цифровой камеры Canon A560. Подсчет проросших и лопнувших пыльцевых зерен, измерение длины пыльцевых трубок (L_{pt}) осуществляли с помощью программы «Scope Photo». Жизнеспособность (ЖСП) определяли как процент проросшей пыльцы относительно общего числа пыльцевых зерен в пробе; скорость роста пыльцевых трубок (V_{pt}) рассчитывали как отношение средней длины пыльцевых трубок к временному интервалу проращивания.

Считается, что оптимальная температура воздуха для семенных растений в период цветения находится в диапазоне 16-25°C. Повышение или понижение температуры приводит к слабой жизнедеятельности пыльцы и снижению завязываемости семян [2]. По данным других авторов, лучшими условиями успешного опыления для свеклы столовой является диапазон 28-30°C [5]. Проращивание в условиях *in vitro* выявило, что зависимость ЖСП пыльцы свеклы столовой от температуры не является строго прямолинейной: коэффициенты корреляции среди отдельных инбредных потомств существенно варьировали

($r_{\text{ЖСП}}/T^{\circ}\text{C} = -0,22...+0,87$). Более точно характер этих взаимосвязей описывается полиномиальными кривыми третьего порядка (рис.1). Причем пыльца одних образцов имеет более высокие значения ЖСП в диапазоне температур 25-30 $^{\circ}\text{C}$, других – в диапазоне 30-40 $^{\circ}\text{C}$.

Рис. 1. Зависимость ЖСП пыльцы семенных растений инбредных потомств свеклы столовой от температуры проращивания *in vitro*

Рис. 2. Зависимость средней скорости роста пыльцевых трубок (V_{pt}) от температуры проращивания пыльцы инбредных растений свеклы столовой в условиях *in vitro*

Скорость роста пыльцевых трубок имеет более тесную сопряженность с температурой среды ($r_{V_{pt}/T^{\circ}C} = +0,68...+0,95$), и у большинства инбредных растений свеклы столовой имеет пик в диапазоне 25-30°C. Дальнейшее ее повышение приводит к замедлению скорости роста пыльцевых трубок. Характер взаимосвязи $V_{pt}/T^{\circ}C$ у разных инбредных потомств имеет схожие тенденции и описывается полиномиальными кривыми второго порядка. Общий ход этой зависимости представлен на рисунке 2 в виде кривой, построенной на основе усредненных значений V_{pt} по всей совокупности изученных инбредных растений.

Анализ полученных данных показал, что в оптимальном диапазоне температур 25-30°C для сравнительной оценки функциональных параметров микрогаметофита инбредных растений свеклы столовой анализирующим фоном является $25 \pm 2^{\circ}C$. При данной температуре отмечается наибольший размах варьирования изучаемых признаков и повышается достоверность различий между инбредными потомствами (рис.1,2). Коэффициенты генетической изменчивости при температурах проращивания 25°C и 30°C составили: по ЖСП – $C_{vg} = 69\%$ и 36% ; по V_{pt} – $C_{vg} = 37\%$ и 12% соответственно.

Сужение диапазона варьирования признаков при 30°C, по-видимому, обусловлено особенностями реакции пыльцы растений разных инбредных потомств свеклы столовой к тепловому воздействию. В одних из них при данной температуре продолжалась стимуляция процессов прорастания, в других уже начиналось их ингибирование. В результате в потомствах с более высокой ЖСП (№№ 523,526) происходило снижение на 5-7%, в остальных – повышение ЖСП на 4-9% по сравнению с вариантом проращивания при 25°C (рис.1). По длине пыльцевых трубок отмечался общий сдвиг кривых распределения соответственно в сторону меньших или больших значений (рис.3). Но важно отметить, что характер распределения микрогаметофитных популяций растений различных инбредных потомств по данному параметру при обеих температурах был схожим, что свидетельствует о достоверности проведения оценки степени их полиморфизма по L_{pt} при 25°C.

Рис. 3. Распределение проросших пыльцевых зерен микрогаметофитных популяций растений разных инбредных потомств по длине пыльцевых трубок в зависимости от температуры проращивания (стрелками указано направление сдвига кривых при 30°C относительно варианта 25°C)

Рис. 4. Процент лопнувших пыльцевых зерен в вариантах с проращиванием пыльцы инбредных растений свеклы столовой при 25°C и 30°C в условиях *in vitro*

Немаловажным показателем оптимизации методики проращивания *in vitro* гетерогенной по своему составу пыльцы инбредных растений свеклы столовой является число лопнувших пыльцевых зерен в анализируемой пробе, процент которых в менее благоприятных условиях возрастает [3]. Как показали наши исследования, повышение температуры проращивания с 25°C до 30°C у большинства инбредных растений приводило к увеличению числа лопнувшей пыльцы, процент которой у отдельных генотипов возрастал в 4-6 раз (рис.4).

Таким образом, для проведения сравнительного анализа функциональных параметров микрогаметофита *in vitro* растений свеклы столовой с целью выделения ценных генотипов наиболее оптимальной температурой проращивания следует считать 25±2°C. Изучение реакции пыльцы на воздействие температурных стрессов относительно этого контрольного варианта позволяет также оценить выделенные генотипы по степени жаро- и холодоустойчивости.

Список используемых источников:

1. Ошевнев В.П. Научные основы интенсификации селекционного процесса раздельноплодной сахарной свеклы с использованием признака генной и цитоплазматической мужской стерильности. Автореферат диссертации. 1999. 40 с.
2. Подвигина О.А., Жужжалова Т.П. Особенности микроспорогенеза и фертильность пыльцы инбредных линий сахарной свеклы // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. Л.: ВИР, 1989. Т. 124. С. 83-85.
3. Ветрова С.А. Оценка и отбор исходного материала для селекции на гетерозис свеклы столовой (*Beta vulgaris* L.). Автореферат диссертации. 2011. 25 с.

© 2015, Козарь Е.Г., Федорова М.И., Балашова И.Т., Заячковский В.А.

Влияние температуры на прорастание пыльцы свеклы столовой в условиях *in vitro*

© 2015, Kozar E.G., Fedorova M.I., Balashova I.T., Zaiachkovskii V.A.

Effect of temperature on pollen germination of red beet *in vitro*