

ЭМБРИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ**ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ПЫЛЬЦЫ *CANNA INDICA* L.
И НЕКОТОРЫХ СОРТОВ *CANNA* x *GENERALIS* BAILEY**

Т.Н. КУЗЬМИНА, кандидат биологической наук
Никитский ботанический сад – Национальный научный центр

В настоящее время существует более 1000 сортов канны садовой как отечественной, так и зарубежной селекции, при этом селекционная работа, направленная на создание новых культиваров, наиболее адаптированных к почвенно-климатическим условиям юга Украины, остается актуальной. Известно, что возможность использования видового и сортового материала в генетико-селекционной работе определяется с учетом качества его гаметофитов и их жизнеспособностью [2]. В работах Р.К. Nair [7] и Г.Ф. Феофиловой с соавторами [1, 3, 5] приводятся отдельные данные, касающиеся сравнительного анализа пыльцы некоторых видов и сортов рода *Canna* L. на основании морфологических признаков. Однако не менее важно определение жизнеспособности пыльцевых зерен, т.е. способности вегетативной клетки прорасти с образованием пыльцевой трубки. Целью данного исследования стала комплексная оценка качества пыльцы *Canna indica* и некоторых сортов *Canna* x *generalis* Bailey, включающая как цитоморфологический ее анализ, так и определение жизнеспособности.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования служили пыльцевые зерна *Canna indica* L. и сортов *Canna* x *generalis* Bailey (*Canna hybrida* hort.) зарубежной и отечественной селекции групп Крози (The President, Ливадия) и орхидеевидных канн (Suevia, Престиж) из коллекции Никитского ботанического сада.

Для проведения цитоморфометрического анализа пыльцевые зерна брали из пыльников 10 бутонов каждого сорта. Для каждого сорта было приготовлено и проанализировано по 10 препаратов средних образцов пыльцы, окрашенных метилгрюнпиронином, согласно методике, предложенной С.В. Шевченко с соавторами [4]. Определение жизнеспособности пыльцы осуществляли проращиванием ее на искусственной питательной среде, содержащей 1% раствор агар-агара и сахарозу в различных концентрациях (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35%), в трехкратной повторности. Предметные стекла, на которые наносили питательную среду и высевали пыльцевые зерна, помещали в чашки Петри на увлажненную фильтровальную бумагу. Проращивание проводили в термостате при температуре +30°C. Подсчет количества пыльцевых зерен, образовавших пыльцевые трубки, проводили в десяти полях зрения для каждого мазка через сутки после посева. Жизнеспособность определяли как отношение числа пыльцевых зерен, образовавших пыльцевые трубки, длина которых превышала диаметр пыльцевого зерна, к общему количеству пыльцевых зерен в поле зрения. Анализ препаратов проводили на микроскопах Jenaval и AxioScope A.1 (Zeiss). Микрофотографии получены с помощью системы анализа изображения AxioCam ERc5s. Морфометрические измерения проводили в 100 полях зрения, используя программное приложение AxioVision Rel. 4.8.2. Для статистической обработки данных использовали модуль «Основные статистики и таблицы» пакета прикладных программ Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

Пыльцевые зерна представителей рода *Canna* без апертур с шиповатой поверхностью спородермы имеют сферическую форму. Средние размеры пыльцевых зерен варьируют от 50 до 65 μm . Зрелые пыльцевые зерна двуклеточные. Генеративная клетка имеет веретенообразную форму. Ядро вегетативной клетки воспринимается как оптически пустая область. Цитоморфологический анализ пыльцевых зерен позволил дифференцировать пыльцевые зерна на морфологически нормальные, anomальные и стерильные. Морфологически нормальные пыльцевые зерна при окраске метилгрюнпиронином обладают цитоплазмой, имеющей однородную окраску розового цвета, с четко выраженными вегетативной и генеративной клетками. Цитоплазма anomальных пыльцевых зерен приобретает фиолетовый оттенок, имеет грубозернистую структуру или насыщена пиронинофильными гранулами. В случае дегенерации содержимого пыльцевого зерна оно оценивалось как стерильное (рис.1).

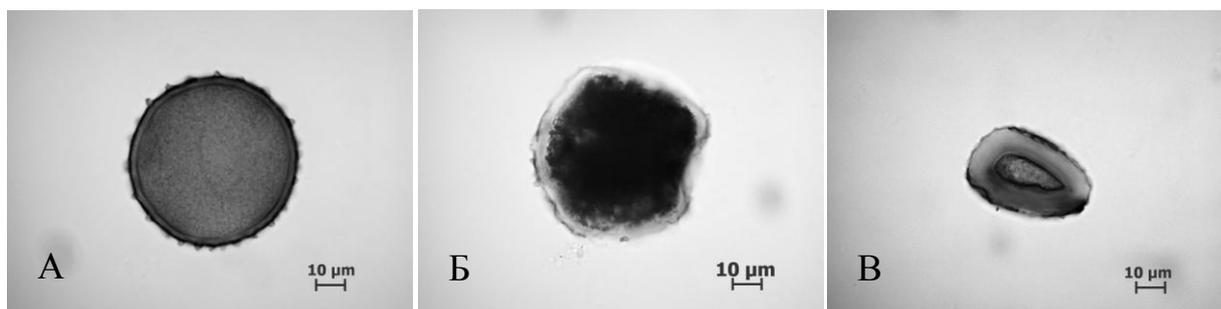


Рис. 1. Морфологически нормальное (А), anomальное (Б) и стерильное (В) пыльцевые зерна *Canna* L.:

A – *Canna indica*; Б – *Canna* x *generalis* ‘The President’; В – *Canna* x *generalis* ‘Suevia’

Установлено, что морфологически нормальные пыльцевые зерна у *Canna indica* составляют 85,42%, а стерильные – 9,55%. Сорт Ливадия, относящийся к группе Крози, имеет наиболее высокое среди изученных сортов количество морфологически нормальных (40,17%) пыльцевых зерен. Доля морфологически нормальных пыльцевых зерен у сортов The President и Престиж не достигает 30%, что позволяет характеризовать их как низко фертильные. У орхидеевидных канн отмечено наиболее высокое количество стерильных пыльцевых зерен. Так, у ‘Suevia’ доля морфологически нормальных пыльцевых зерен не достигает 1%, в то время как anomальная пыльца составляет 44,06%, а стерильная – более 55% (табл. 1). Стерильность пыльцевых зерен ‘Suevia’ ранее была отмечена также Ю.Л. Никифоровым и Г.Ф. Феофиловой [1]. Данный факт позволил нам не включать этот сорт в анализ жизнеспособности мужского гаметофита.

Таблица 1

Цитоморфологическая характеристика пыльцевых зерен *Canna indica* и некоторых сортов *Canna* x *generalis*

Вид, сорт	Пыльцевые зерна, %		
	Морфологически нормальные	Anomальные	Стерильные
<i>Canna indica</i>	85,42	5,03	9,55
Канны Крози			
The President	14,76	48,10	37,14
Ливадия	40,17	26,64	33,19
Орхидеевидные канны			
Suevia	0,65	44,06	55,29
Престиж	22,47	35,21	42,32

Отсутствие в доступных нам литературных источниках данных о составе искусственной питательной среды, необходимой для проращивания пыльцевых зерен *C. indica* и сортов *C. x generalis*, потребовало определения оптимальной концентрации сахарозы. Для этого использовали агаризованную питательную среду с добавлением раствора сахарозы различной концентрации – от 5 до 35%.

Начало роста пыльцевой трубки наблюдается через час после посева пыльцы (рис. 2). Отсутствие апертур компенсируется особенностями организации экзины, которая у *C. x generalis*, согласно данным J.J. Skvarla, J.R. Rowerley [8, 9], утоньшается в областях между шипами, поэтому для прорастания пыльцевой трубки не требуется четко пространственной ориентации пыльцевого зерна по отношению к рыльцу или питательному субстрату.

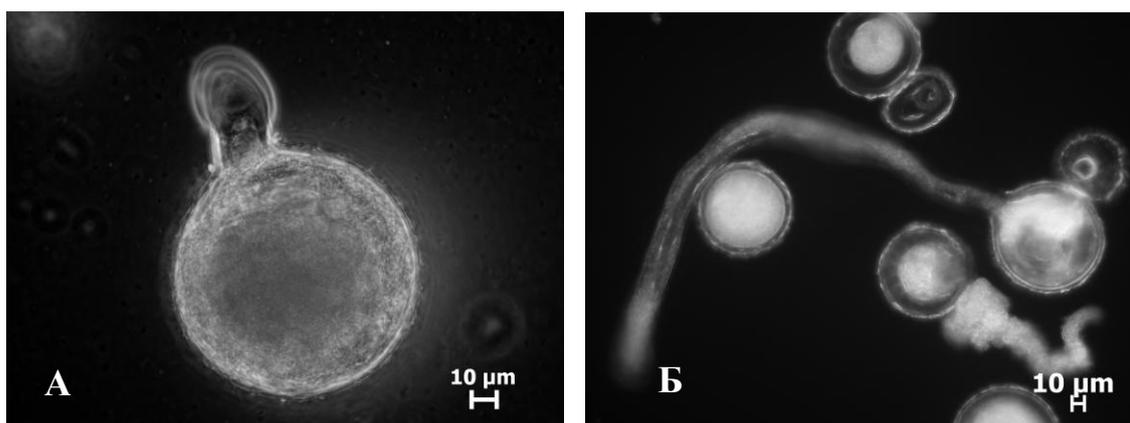


Рис. 2. Прорастание пыльцы *C. x generalis* ‘Ливадия’:

А – пыльцевое зерно на начальном этапе прорастания пыльцевой трубки; Б – общий вид пыльцевых зерен при прорастании пыльцевой трубки

Установлено, что наиболее высокой жизнеспособностью пыльца обладает при проращивании ее на искусственной питательной среде, содержащей 30% водный раствор сахарозы и 1% раствор агар-агара. В то же время дальнейшее повышение концентрации сахарозы приводит к ингибированию ее способности образовывать пыльцевые трубки.

В целом пыльца *C. indica* и исследованных сортов *C. x generalis* обладает слабой прорастаемостью. Однако у *C. indica* и ‘Ливадии’ прорастает около 20% пыльцевых зерен, в то же время у сортов The President и Престиж – не более 2% (табл. 2). В то же время следует учитывать, что результаты проращивания пыльцевых зерен на искусственной питательной среде лишь частично отражают возможность образования пыльцевых трубок, поскольку состав питательной среды, основным компонентом которой является сахароза, все же далек от состава секрета рыльца, и нельзя полностью интерполировать полученные значения жизнеспособности пыльцы на реальные процессы, проходящие при опылении. Кроме того, следует отметить, что пыльца *C. indica* и сортов *C. x generalis* способна прорасти на искусственной питательной среде с довольно широким диапазоном концентрации сахарозы (от 5 до 35%), что свидетельствует о широкой амплитуде потенциальной жизнеспособности пыльцы.

Таблица 2

Влияние концентрации сахарозы, содержащейся в искусственной питательной среде, на жизнеспособность (%) пыльцевых зерен *Canna indica* и некоторых сортов *Canna x generalis*

Вид, сорт	Концентрация сахарозы, %						
	5	10	15	20	25	30	35
<i>Canna indica</i>	3,81± 2,11	8,97± 5,02	10,79± 3,82	13,19± 3,70	13,84± 2,63	21,69± 3,87	12,09± 1,63
The President	0	0,26± 0,17	0,44± 0,25	0,57± 0,14	0,59± 0,03	0,68± 0,03	0,38± 0,32
Ливадия	0,81± 0,81	1,18± 1,76	3,00± 0,12	4,70± 2,00	8,19± 2,18	19,25± 1,40	7,44± 0,92
Престиж	0	0,41± 0,28	0,54± 0,27	1,23± 0,37	1,61± 0,80	1,76± 0,19	0,98± 0,92

Анализ цитоморфологической характеристики и жизнеспособности пыльцы сортов канны садовой показал, что у сорта Ливадия способно образовывать пыльцевые трубки не менее 47% морфологически нормальных пыльцевых зерен, что в полной мере может обеспечить успешное самоопыление. При этом учитывая, что в пыльнике канны образуется 20-25 тыс. пыльцевых зерен [1], даже в случае низкой жизнеспособности пыльцы, которая отмечена у ‘The President’ (0,68±0,03%), сохраняется вероятность успешного опыления.

В целом градация исследованных сортов от фертильного к стерильному (Ливадия – Престиж – The President – Suevia) как по цитоморфологической характеристике, так и по жизнеспособности пыльцы совпадает. Поскольку наличие несбалансированного набора хромосом является предпосылкой аномального течения мейоза, а также отклонений в развитии микроспор в постмейотический период, то причина стерильности орхидеевидных канн, как и некоторых сортов канн группы Крози, вероятно, кроется в их сложном гибридном происхождении и триплоидности некоторых сортов [6]. Согласно С.В. Шевченко и Г.Ф. Феофиловой [5], для канн характерна зависимость наследования пыльцевых зерен от принадлежности гибридов к определенному морфологическому типу. Так, у гибридов с преобладанием признаков дикого родителя жизнеспособность пыльцевых зерен не ниже 76%, а пыльца гибридов культурного типа, как правило, имеет низкую жизнеспособность (0–10%). Однако следует отметить, что в данном случае речь все же идет не о жизнеспособности, а о доле морфологически нормальных пыльцевых зерен, которые определяли по окраске препарата метилгрюниронином. Высокую долю морфологически нормальных пыльцевых зерен у вида *C. indica* можно расценивать как признак стабильности хромосомного набора и отсутствие серьезных аномалий редукционного деления микроспороцитов у данного вида.

Выводы

Таким образом, учитывая цитоморфологическую оценку и жизнеспособность пыльцевых зерен *C. x generalis*, сорт Ливадия можно охарактеризовать как фертильный, сорта The President и Престиж оцениваются как низко фертильные, а Suevia – стерильный. Доля морфологически нормальных пыльцевых зерен (85,42%) и жизнеспособность пыльцы (21,69±3,87) у *C. indica* значительно превышают аналогичные показатели, полученные для отдельных сортов *C. x generalis*.

Оптимальное содержание сахарозы в искусственной питательной среде для определения жизнеспособности пыльцевых зерен *C. indica* и некоторых сортов

C. x generalis составляет 30%.

C. indica и сорт Ливадия целесообразно использовать в качестве отцовских форм при гибридизации.

Автор выражает благодарность куратору генофондовой коллекции канны садовой Н.В. Зубковой за помощь в подборе сортов и предоставленную возможность работы с коллекцией.

Список литературы

1. Никифоров Ю.Л., Феофилова Г.Ф. Анализ пыльцы видов и сортов рода *Canna* // Бот. журнал. – 1982. – Т. 67, № 2. – С. 166-176.
2. Поддубная-Арнольди В.А. Значение эмбриологии для генетики и селекции // Бюл. Гл. бот. сада. – 1961. – Вып. 4. – С.32-38.
3. Феофилова Г.Ф. Экспериментальная проверка некоторых результатов анализа пыльцы канны садовой // Бюл. Гос. Никит. бот. сада. – 1975. – Вып. 3 (28). – С. 21-23.
4. Шевченко С.В., Ругузов И.А., Ефремова Л.М. Методика окраски постоянных препаратов метиловым зеленым и пиронином // Бюл. Гос. Никит. бот. сада. – 1986. – Вып. 60. – С. 99-101.
5. Шевченко С.В., Феофилова Г.Ф. О жизнеспособности пыльцы отдаленных гибридов канны и их исходных форм // Бюл. Гос. Никит. бот. сада. – 1981. – Вып. 3 (46). – С. 94-98.
6. Khoshoo T. N., Mukherjee J. Genetic-evolutionary studies on cultivated cannas // Theoretical and Applied Genetics. – 1970. – Vol. 40, № 5. – P. 204-217.
7. Nair R. K. Pollen grains of cultivated plants. I. *Canna* L. // J. Ind. Bot. Soc. – 1960. – Vol. 39, N. 3. – P. 373-381.
8. Rowley J.R., Skvaria J.J. Development of the pollen grain wall in *Canna* // Nordic Journal of Botany. – 1986. – Vol. 6, № 1. – P. 39-65.
9. Skvarla, J.J., Rowley J.R. The pollen wall of *Canna* and its similarity to the germinal apertures of other pollen // Amer. J. Bot. – 1970. – Vol. 57. – P. 519-529.

Рекомендовано к печати д.б.н., проф. Шевченко С.В.