

АНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЛИСТЬЕВ ПЕРСИКА В РЕЗУЛЬТАТЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИМИ МУТАГЕНАМИ

Е.Г. ШОФЕРИСТОВА, кандидат биологических наук

А.В. СМЫКОВ, кандидат сельскохозяйственных наук

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр

Основным методом выведения новых сортов персика обыкновенного (*Persica vulgaris* Mill.) служит гибридизация с использованием специально подобранных родительских форм. В то же время для увеличения генетического разнообразия и появления новых признаков у растений перспективным методом является искусственный мутагенез с применением радиации или химических мутагенов, который заключается в индуцировании и закреплении почковых мутаций [3,4]. Вопросы использования γ -радиации в клоновой селекции персика в значительной степени изучены [5]. В последние годы проводятся исследования по влиянию доз и сроков обработки вегетативных почек персика химическими мутагенами на выживаемость и морфобиологическую изменчивость растений в питомнике. При этом важное значение отводится изучению анатомо-морфологического строения листа, как наиболее пластичного органа, в структуре которого отражена эволюция вида, слагающаяся под влиянием среды в настоящем и прошлом [6,7, 8,12].

Цель исследований

Целью исследований являлось изучение анатомических особенностей листьев у растений персика, выращенных из вегетативных почек после обработки химическими мутагенами, в сравнении с контролем – без обработки мутагенами.

Объекты и методика исследований

В проведенных исследованиях изучали анатомические особенности листьев у растений персика, полученных в результате обработки вегетативных почек в фазе второго этапа органогенеза у сортов Фаворита Мореттини, интродуцированного из Италии, Чемпиона Раннего и Франта – селекции НБС-ННЦ. В качестве химических мутагенов использовали водные растворы: этиленimina (ЭИ) в концентрации 0,043%, нитрозозэтилмочевины (НЭМ) – 0,037% и нитрозометилмочевины (НММ) – 0,01%, с экспозицией 12 часов для каждого из вариантов опыта, когда в почке сформировалось 4-6 зачаточных листочков, вторичных бугорков и начался второй период дифференциации новых зачатков, что соответствовало по времени третьей декаде июля-первой декаде августа. Обработанные химмутагенами почки, одновременно с необработанными – контрольными, окулировали на подвой – миндаль обыкновенный. Материал для анатомических исследований (по 25 листьев из 6-8 междоузлий в каждом варианте опыта) фиксировали в 70%-ном спирте. Препараты готовили по общепринятой методике [2,7,9] с нашей модификацией [10,11] и применением принципа топографии – взятия для анализа ткани из средней части листовой пластинки и черешка. Поперечные срезы этих частей листа, при толщине 35 мкм, готовили на замораживающем микротоме. Срезы эпидермы делали “от руки” – лезвием безопасной бритвы. Препараты окрашивали 4%-ным раствором гематоксилина или без окраски заключали в смесь Гойера. Сравнительные параметры (длина и ширина, мкм) клеток, тканей и общую толщину листа измеряли окуляр-микрометром с помощью микроскопа “Биолар”-Б при увеличении 7x20 и 7x40. Фотографирование осуществляли с фотонасадкой “МНФ-У” и фотоаппаратом “Зенит - II”. Статистическую обработку данных по анатомии листьев проводили на основании измерений при 10-25 единичной величине выборки с применением метода дисперсионного анализа по Б.А. Доспехову [1].

Результаты исследований и их обсуждение

Установлено, что изучаемые нами сорта персика имеют комплекс общих анатомо-морфологических признаков. Лист – амфистоматического типа, с дорсивентральным расположением тканей на поперечном срезе листовой пластинки. Пластинка листа средней

толщины и слойности (рис. 1). Проекция клеток эпидермы многоугольная, с 5-7 сторонами (рис. 2-а, 3-а). Контуры ее клеточных стенок прямолинейные. Клетки эпидермы мелкие (средний размер не превышает 9,6 мкм). Высота клеток верхней эпидермы большая, чем клеток нижней эпидермы (табл.). Мезофилл листа изопалисадный. Он трехслойный в палисадной и 3-5-слойный в губчатой паренхиме. Устьица анамоцитного типа расположены на абаксиальной (нижней) стороне эпидермы. Замыкающие клетки устьиц содержат хлоропласты. Палисадная ассимиляционная паренхима более богата хлоропластами. Ее стенки плотно сомкнуты, сами клетки тангентально вытянуты по отношению к поверхности листа. Губчатая паренхима состоит из более округлых, рыхло расположенных и некоторых вытянутых радиально клеток, что способствует газообмену и транспирации в тканях листа растворимых в воде веществ.

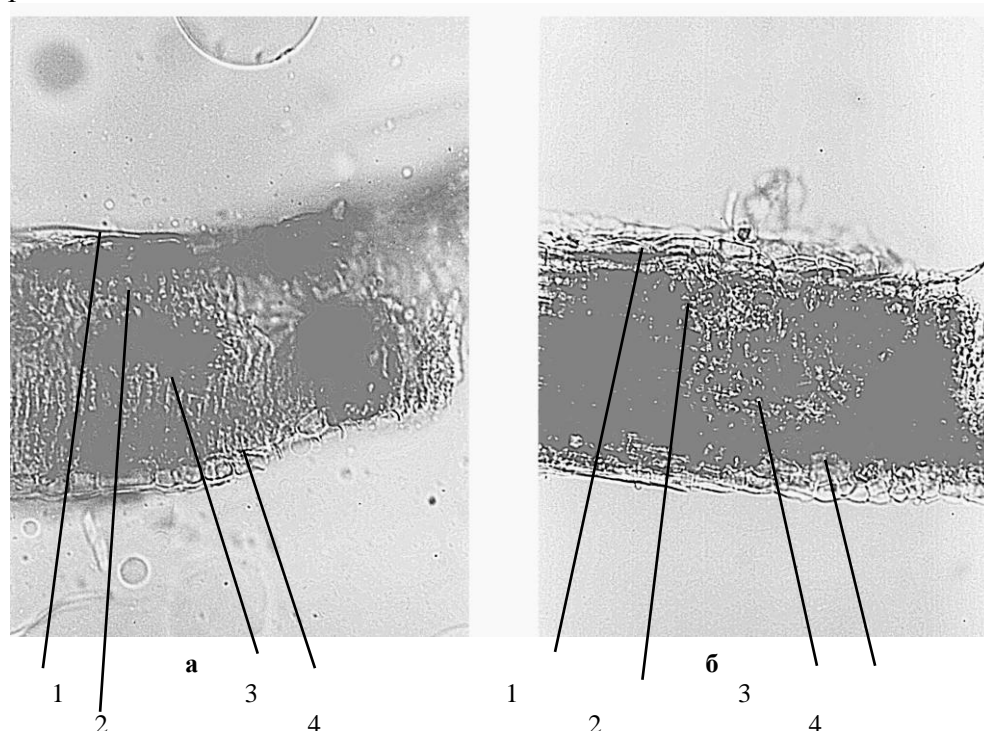


Рис. 1. Поперечный срез листа персика сорта Чемпион Ранний: а – контроль, б – НЭМ в концентрации 0.037 %; 1 – верхняя эпидерма, 2 – палисадная паренхима, 3 – губчатая паренхима, 4 – нижняя эпидерма.

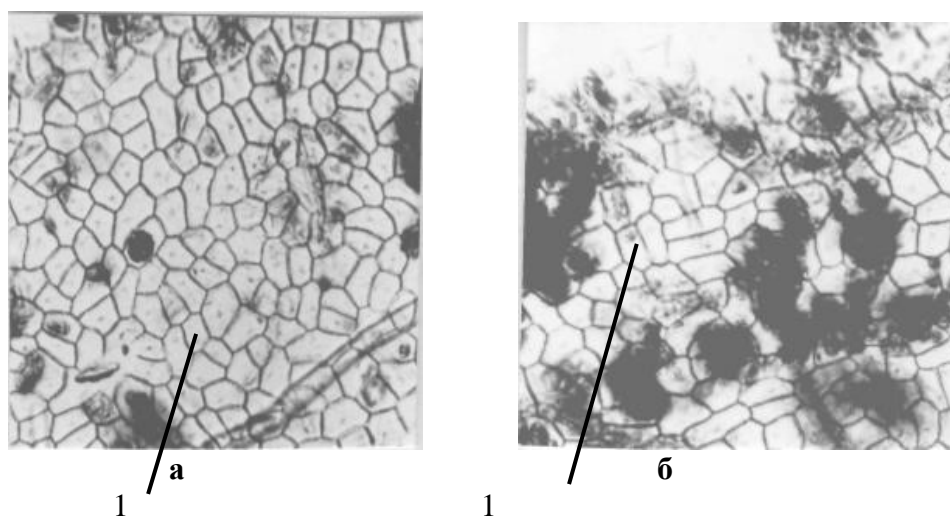


Рис. 2. Верхняя эпидерма листа персика сорта Чемпион Ранний: а – контроль, б – НЭМ в концентрации 0,037 %; 1 – клетки эпидермы.

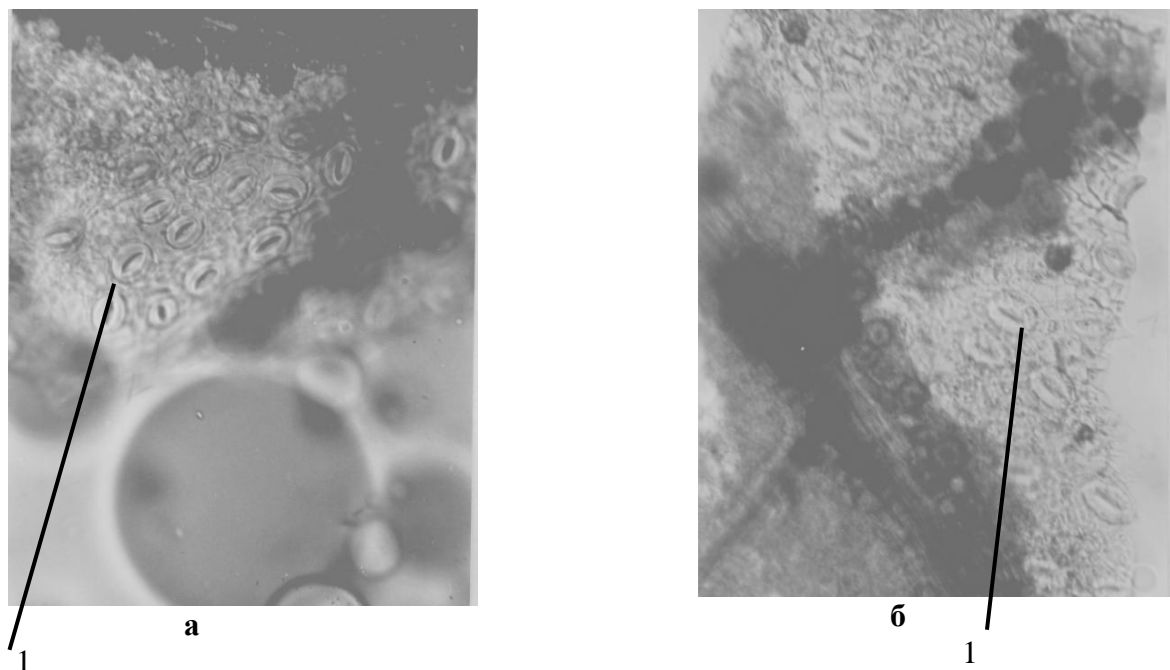


Рис. 3. Нижняя эпидерма листа персика сорта Чемпион Ранний: а – контроль, б – НММ в концентрации 0,01 %; 1 – устьице.

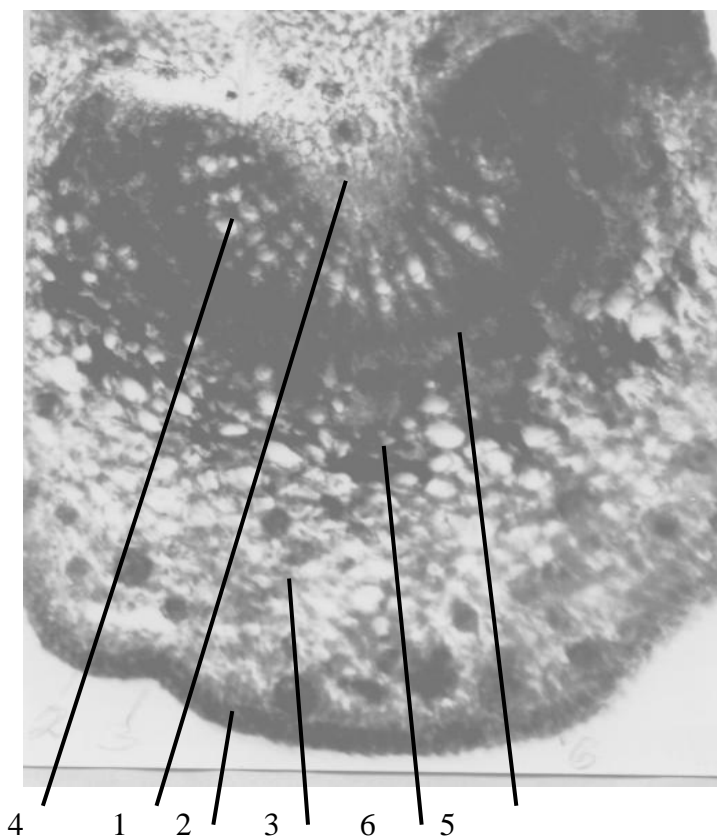


Рис. 4. Поперечный срез черешка листа персика сорта Чемпион Ранний: 1 – адаксиальная поверхность черешка; 2 – колленхима, 3 – хлоренхима, 4 – ксилема, 5 – флоэма, 6 – клетки, содержащие дубильные вещества.

Черешок листа на поперечном срезе имеет округло-треугольную форму, с небольшими выступами по краям адаксиальной поверхности и со срединным желобковидным углублением (рис. 4). Абаксиальная поверхность черешка округлая.

Проводящий пучок листа персика замкнутый, коллатерального типа, расположен в центре черешка и имеет форму правильной дуги. Кора пучка широкая. Ее наружные 3-5 слоев представлены колленхимой, в цитоплазме которой содержатся кристаллы оксалата кальция. Ксилема проводящего пучка обращена к верхней стороне черешка, а флоэма – к нижней.

Главные ответвления проводящих пучков соединены с листовыми следами, которые находят продолжение в более мелких сосудах листа. Главные пучки листа окружены механической тканью – склеренхимными волокнами. От этих пучков отходят ответвления более мелких сосудов-трахей и трахеидов. Как главные, так и боковые ответвления проводящих пучков, окружены одним рядом паренхимных клеток, составляющих обкладку пучка.

Наши исследования анатомо-морфологии листа трех сортов персика обыкновенного показали, что различия между ними носят количественный характер и согласуются с данными изучения тканей листа у других его сортов [7,8,12].

Сравнение анатомии листьев облученных и необлученных растений показало, что листья контрольных растений персика Франт состояли из 8-9 слоев, а мезофилл – из 6-ти слоев клеток (табл.). Палисадная паренхима имела два слоя клеток удлиненной формы, губчатая паренхима – 4-5 слоев клеток с менее удлиненной или почти округлой формой. При этом клетки обоих верхних слоев ткани были более крупными (9,5 x 6,3 мкм), чем нижних (6,3 x 5,3 мкм). В палисадной паренхиме число хлоропластов было большим (7-12 шт.), чем в губчатой паренхиме (2-8 шт.). Клетки верхнего и нижнего эпидермиса имели слегка удлиненную или округлую форму.

Форма межклетников, устьиц и друз была округлой и составляла 5,5 x 5,5 мкм, 10,7 x 9,7 мкм и 8,6 x 8,9 мкм соответственно. Проводящий пучок имел средний размер 68 x 90 мкм.

У сорта Франт в варианте с обработкой ЭИ наблюдали уменьшение ширины устьиц (7,9 мкм, в контроле 9,7 мкм) (табл.) и уменьшение величины проводящего пучка (5,7 x 5,7 мкм). При воздействии НЭМ произошло уменьшение длины клеток верхнего эпидермиса (6,7 мкм, контроль 9,6 мкм), а в варианте а НММ – увеличение толщины клеток губчатой паренхимы (19,3 мкм, контроль 16,7 мкм). По остальным показателям существенных различий с контролем не наблюдали.

В контрольном варианте у сорта Фаворита Мореттини листья состояли из 6-ти слоев клеток (табл.). Палисадная паренхима имела 2 слоя клеток удлиненной формы, губчатая паренхима – 4 слоя клеток более округлой формы. Число хлоропластов в клетках палисадной ткани составляло 9-17, в губчатой – 4-8 шт. Толщина клеток палисадной и губчатой паренхимы соответствовала 20,2 и 17,6 мкм. Форма клеток верхнего эпидермиса была удлиненная (8,2 x 5,5 мкм), а нижнего – округлая (5,7 x 5,2 мкм). Форма межклетников, устьиц и друз была округлой - 7,5 x 7,5, 9,3 x 9,6, 9,8 x 9,8 мкм. Проводящий пучок имел сходное с сортом Франт анатомическое строение и средние размеры – 67 x 85 мкм.

В варианте с обработкой ЭИ наблюдали существенное увеличение толщины поперечного среза листа (64,7 мкм, контроль 57,6 мкм), клеток палисадной (26,7 мкм, контроль 20,2 мкм) и губчатой паренхимы (20,2 мкм, контроль 17,6 мкм) (табл.). Аналогичные изменения отмечены и после обработки НЭМ по возрастанию толщины листа (60,3 мкм, контроль 50,6 мкм), клеток палисадной (26,6 мкм, контроль 20,2 мкм) и губчатой ткани (20,9 мкм, контроль 17,6 мкм).

Обработка ЭИ вызвала уменьшение ширины клеток губчатой паренхимы (3,5 мкм, контроль 4,6 мкм) и увеличение размера проводящего пучка (105 x 75 мкм). В варианте с обработкой НММ наблюдали уменьшение ширины клеток-друз (7,6 мкм, контроль 9,8 мкм).

У сорта Чемпион Ранний листья состояли из 7-9 слоев клеток (табл.). Палисадная паренхима имела 2 слоя клеток удлиненной формы, а губчатая – 3-5 слоев округлых клеток. Толщина клеток палисадной паренхимы была заметно больше, чем губчатой ткани (27,7 и

13,5 мкм). Форма клеток верхнего эпидермиса была округлая или немного сплюснутая (6,2 x 6,7 мкм). Форма межклетников также была округло-сплюснутая (2,9 x 4,0 мкм), а форма устьиц и друз – округлая (9,0 x 8,4; 8,2 x 8,2 мкм).

При обработке НЭМ клетки верхней эпидермы были более вытянутыми и узкими, чем в контроле (рис. 2). В вариантах с воздействием ЭИ и НММ наблюдали уменьшение толщины клеток палисадной паренхимы (18,3 мкм, 20,3 мкм, контроль 27,7 мкм); при обработке НЭМ – уменьшение длины клеток палисадной паренхимы (7,8 мкм, контроль 10,3 мкм) (рис.1); в варианте с НММ отмечали увеличение длины межклетников (4,1 мкм, контроль 2,0 мкм) и длины устьиц (10,4 мкм, контроль 9,0 мкм) (рис. 3). Под воздействием ЭИ и НММ межклетники столбчатой паренхимы были плотно сомкнутыми, а в нижнем слое – частично разомкнутые.

Выводы

Химические мутагены в отдельных вариантах опыта оказали существенное влияние на изменение анатомических особенностей листьев: толщину листа, клеток палисадной и губчатой паренхимы; форму и размер клеток палисадной и губчатой паренхимы, верхнего и нижнего эпидермиса, устьиц и друз; на величину проводящего пучка; форму и плотность межклетников. Наибольшие изменения наблюдали у сорта Фаворита Мореттини в вариантах с обработкой ЭИ и НЭМ по толщине листьев, клеток палисадной и губчатой паренхимы.

Список литературы

1. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М., 1979. – 416 с.
2. Медведева В.К. Ботаника. – М.: Медицина, 1980. – 96 с.
3. Равкин А.С. Действие ионизирующих излучений и химических мутагенов на вегетативно размножаемые растения. – М.: Наука, 1992. – 192 с.
4. Семакин В.П. Помологический сорт, его репродукция и улучшение. – Орел, 1992. – 142 с.
5. Смыков А.В. Методические рекомендации по использованию гамма-излучения в клоновой селекции персика. – М., 1991. – 26 с.
6. Скороходова О.О. Изучение эпидермы листа *Codideum variegatum* (L.) Blume // Теоретичні та прикладні аспекти інтродукції рослин і зеленого будівництва: Матеріали II Міжнародної наукової конференції молодих дослідників, 17-21 червня 2002 р, Національна Академія Наук України, Рада Ботанічних садів України, Дендрологічний парк “Софіївка”, Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка, Українське Ботанічне Товариство. – Умань, – 2002. – С. 265-267.
7. Соколова Е.А. Значение анатомических признаков для систематики представителей подсемейства *Prunoidea* (*Rosaceae*): Автореф. дисс... д-ра биол. наук: 03.00.05 / Всесоюзный НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова. – СПб., 2000. – 28 с.
8. Соколова Е.А., Шоферистов Е.П. Анатомическое строение видов и сортов персика и нектарина // Научно-технич. бюлл. Всесоюз. ордена Ленина и ордена Дружбы Народов НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова. – Л., 1991. – Вып. 212. – С. 33-37.
9. Хржановский В.Г., Пономоренко С.Р. Практикум по курсу общей ботаники. – М.: Высшая школа, 1979. – 423 с.
10. Шоферистова Е.Г. К методике окраски хромосом и пыльцы // Бот. журн. – Л.: Наука, 1973. – Т. 58. – № 7. – С. 1011-1012.
11. Шоферистова Е.Г. Ацетожелезогоматоксилиновый метод окраски препаратов. Программа и методика селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур / Под ред. Г.А. Лобанова. – Мичуринск: ВНИИС, 1980. – С. 421-422.
12. Шоферистов Е.П., Соколова Е.А. Происхождение и первичный генцентр нектарина (*Rosaceae*) // Проблемы интродукции и систематики культурных растений и их дикорастущих сородичей: Труды по прикл. бот. ген. и сел. – СПб.: ВИР, 2001. – Т.154. – С. 60-68.

Рекомендовано к печати д.б.н. Шоферистовым Е.П.