

УДК 634.22:581.162

*М. Н. ВАСИЛЬЕВА, В. А. МАТВЕЕВ*

## ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРИЗНАКОВ МУЖСКОЙ СТЕРИЛЬНОСТИ ГИБРИДНЫХ СОРТОВ АЛЫЧИ КУЛЬТУРНОЙ

*Институт плодородства, аг. Самохваловичи, Беларусь, e-mail: belhort@it.org.by*

В данной статье изучены особенности микроспорогенеза двух сортов алычи культурной: Асалода и Комета кубанская, обладающих разной оплодотворяющей способностью.

*Ключевые слова:* алыча культурная, стадии мейоза, фертильность, жизнеспособность, пыльник, тапетум, Беларусь.

*M. N. VASILYEVA, V. A. MATVEEV*

## CYTOLOGIC FEATURES OF SIGNS OF MALE STERILITY OF HYBRID GRADES OF A CHERRY PLUM CULTURAL

*Institute for fruit growing, Samokhvalovichy, Belarus, e-mail: belhort@it.org.by*

This article studied features microsporogenesis 2 varieties of plum a cultural: Asaloda and Cometa Kubanskaya possessing varying fertilizing capacity.

*Keywords:* Cherry plum cultural, stage of meiosis, fertility, vitality, anther, tapetum, Republic of Belarus.

**Введение.** Среди видового разнообразия сливы большую популярность в последнее время завоевала алыча культурная (слива диплоидная). Этот синтетический вид менее прихотлив к условиям выращивания, меньше подвержен болезням и повреждению вредителями, а его плоды по десертным и технологическим качествам не уступают сливе домашней.

Благодаря успешной интродукции и собственной селекции к настоящему времени в районированный сортимент алычи культурной в Беларуси включено 12 сортов, в том числе белорусской (Асалода, Ветразь, Витьба, Лама, Лодва, Мара, Прамень, Сонейка) российской (Золушка, Комета, Скороплодная) и российско-белорусской (Найдёна) селекции.

Существующие сорта и гибриды культурной алычи являются сложными межвидовыми гибридами. Произошли они от таких диплоидных видов сливы, как *Prunus. salicina*, *P. cerasifera*, *P. ussuriensis*, *P. americana* и др. Межвидовое происхождение вызвало определенные отклонения в развитии мужского и женского гаметофитов [1], что отразилось также на низкой оплодотворяющей способности районированных сортов Комета, Найдёна, Ветразь, Лама и др. [2].

Цель работы – изучение микроспорогенеза сортов культурной алычи на всех этапах развития мужского гаметофита.

**Материалы и методы исследования.** Исследования проводили в отделе селекции плодовых культур РУП «Институт плодородства». Изучены цитологические особенности микроспорогенеза сорта алычи культурной Асалода (Путешественница×78-3/107), обладающего высокой оплодотворяющей способностью в полевых условиях (48 % полезной завязи), а также сорта Комета кубанская (Скороплодная×Пионерка) с низкой оплодотворяющей способностью (4,0 % полезной завязи).

Цитологические исследования проводили на временных препаратах в фиксаторе Карнуа (3 части спирта и 1 часть ледяной уксусной кислоты), окрашивание – в ацетогематоксилине

по методике Л. А. Топильской, С. В. Лучниковой, Н. П. Чувашиной (1975). Для определения начала мейоза в саду собирали цветковые почки (примерно в 10–12 ч) в первой-второй декаде апреля, из которых вычленили пыльники и просматривали. При обнаружении профазы в материнских клетках микроспор (МКМ) начинали фиксацию. С целью обнаружения всех фаз мейоза цветковые почки фиксировали по мере их развития каждые 24 ч в течение 5–6 дней [3].

Фертильность пыльцы проверяли ацетокарминовым методом. Пыльники со зрелой пыльцой фиксировали в фиксаторе Карнуа (продолжительность от 30 мин до нескольких часов). Материал промывали и хранили в 80 %-ном спирте. Из спирта пыльник переносили на предметное стекло и раздавливали в капле ацетокармина. Убрав лишние ткани, препарат накрывали покровным стеклом и осторожно подогревали на спиртовке [4].

Жизнеспособность пыльцы проверяли путем посева в каплю 15 %-ного раствора сахарозы прямо на внутреннюю сторону крышки чашки Петри. Для увлажнения на дно чашки Петри укладывали смоченную водой фильтровальную бумагу и закрывали крышкой. Влажные камеры с посеянной пыльцой держали в затемненном месте при температуре 15–20 °С. Через сутки после посева препараты изучали на микроскопе Olympus CX41 при 200-кратном увеличении [4].

**Результаты и их обсуждение.** В ходе данной работы нами проанализированы стадии мейоза: профазы I, метафазы I, анафазы I, телофазы I, метафазы II, анафазы II, телофазы II и тетрадогенез.

Установлено, что у всех исследуемых образцов на самом раннем этапе микроспорогенеза профазы I хроматиновые нити гомологичных хромосом соединяются попарно. На этапе диакинеза все хромосомы конъюгируют друг с другом, в результате чего образуются униваленты. На данной стадии нарушений не выявлено.

У сорта Асалода **метафаза I** (M I) мейоза в норме характеризуется строгой ориентацией центральных районов, объединенных в биваленты. Строго ориентированные и расположенные в экваториальной области микроспороцита биваленты составляют метафазную пластинку. Основные нарушения на этой стадии мейоза проявлялись в следующем: выброс синапсов (конъюгация гомологичных хромосом) составил 3,8 %, выброс унивалентов (единичные, неконъюгировавшие хромосомы) – 3,1, забегание унивалентов – 6,2 %. Нарушения мейоза в **анафазе I** (A I) проявлялись в отставании одной или нескольких хромосом, преимущественно тех, которые в метафазе I находились в унивалентном состоянии (6,5 %), выбросе, забегании и неравномерном расхождении хромосом (6,5; 6,5 и 8,6 % соответственно), а также в образовании хромосомных мостов (4,3 %). В **телофазе I** (T I) выявлено такое нарушение, как образование микроядер (7,1 %).

Если сравнивать количество нарушений на стадии анафазы I с их количеством на стадии **метафазы II** (M II), то, как правило, наблюдается тенденция к увеличению этого показателя. Основным нарушением на этой стадии мейоза, как и в метафазе I, является наличие хромосом, не включенных в метафазные пластинки, выброс (9,5 %) и забегание (9,5 %) хромосом. Расхождение хромосом к полюсам во втором делении мейоза **анафазе II** (A II) сопровождается выбросом, отставанием и забеганием хромосом (15,3; 2,5 и 2,5 % соответственно). На стадии **телофазы II** (T II) кроме нормального формирования четырех групп хромосом в цитоплазме отмечалось образование микроядер (3,6 %), а также большего (0,6 %) и меньшего (4,2 %) количества ядер, неравномерное расхождение ядер (1,8 %). Наблюдались также асинхронность деления, в одном поле зрения – профазы I и телофазы II (рис. 1).

У сорта Комета в **метафазе I** обнаружено такое нарушение, как выброс синапсов (13,4 %). Нарушения мейоза в **анафазе I** проявлялись в отставании одной или нескольких хромосом, преимущественно тех, которые в метафазе I находились в унивалентном состоянии (16,6 %), выбросе (8,3 %) и неравномерном расхождении (8,3 %) хромосом. В **телофазе I** выявлено такое нарушение, как образование микроядер (3,1 %).

Основное нарушение на стадии мейоза **метафазы II** проявилось в образовании хромосомных мостов (4,0 %). Расхождение хромосом к полюсам во втором делении мейоза (**анафазе II**) сопровождалось выбросом, отставанием и забеганием хромосом (5,8; 5,8 и 11,7 % соответственно), неравномерным расхождением ядер в цитоплазме (5,8 %). На стадии **телофазы II** кроме нормального формирования четырех групп хромосом в цитоплазме отмечались такие нарушения, как образование микроядер (3,3 %), а также большего (14,6 %) и меньшего (1,1 %) количества ядер, неравномерная



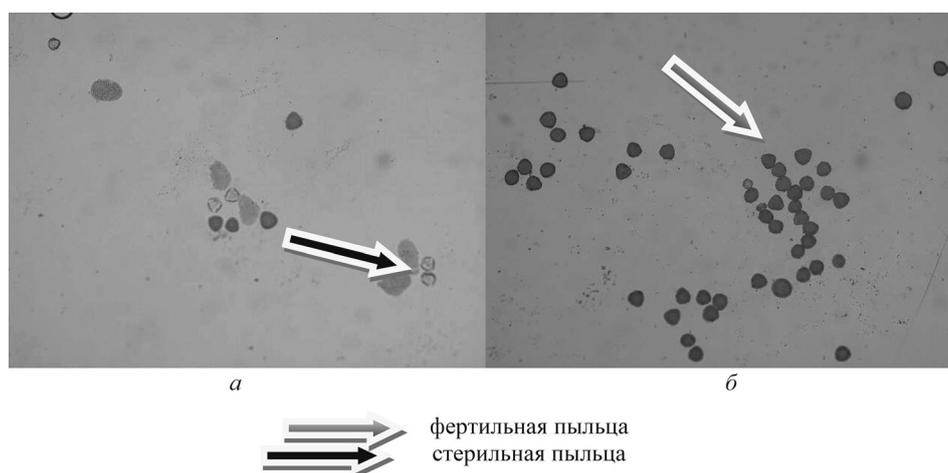


Рис. 4. Фертильность пыльцы сортов Комета (а) и Асалода (б)

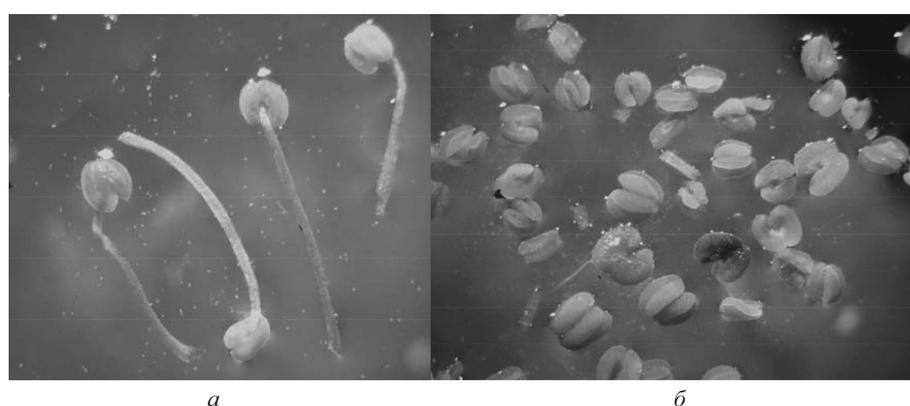


Рис. 5. Прорастаемость пыльцы сортов Асалода (а) и Комета (б) в 15 %-ном сахарном растворе

пыльцевых зерен. Так, у сорта Асалода проросло 41,8 % пыльцевых зерен, а у сорта Комета – 3,3 % (рис. 5).

Как отмечалось выше, аномалии на различных стадиях мейоза не могут быть причиной низкой жизнеспособности пыльцы у сорта Комета кубанская. И, как следствие, их следует искать в процессах, происходящих на заключительных стадиях развития пыльников, когда одноядерные пыльцевые зерна, образовавшие в результате мейоза, проходят дальнейший путь развития.

Известно, что стенка сформированного пыльника состоит из экзотеция (эпидерма), эндотеция (фиброзный слой), одного среднего слоя и тапетума (1–2-ядерного). В процессе развития все слои стенки пыльника претерпевают значительные изменения.

*Экзотеций* – наружный слой пыльника, выполняет в основном защитную функцию. *Эндотеций* (фиброзный слой) прилегает непосредственно к экзотецию и выполняет главным образом функцию вскрывания пыльника. Клетки фиброзного слоя отличаются от эпидермы наличием хлоропластов. Клетки *среднего слоя* связаны плазмодесмами друг с другом и с клетками тапетума.

Выстилающий слой клеток, или *тапетум*, непосредственно граничит со спорогенными клетками. Он является самым внутренним слоем стенки пыльника. Физиологическая значимость тапетальных клеток заключается в том, что все питательные вещества, поступающие в спорогенную ткань, проникают в нее через тапетум. В период образования тетрад тапетальные клетки увеличиваются в размере. По мере формирования пыльцевых зерен тапетальные клетки постепенно уменьшаются и почти полностью исчезают, что хорошо видно на примере фертильного сорта Асалода (рис. 6).

Иначе проходит развитие стенки пыльника у сорта Комета кубанская. Тапетум вместо постепенного распада и полного затухания его функционирования ко времени оформления пыльце-

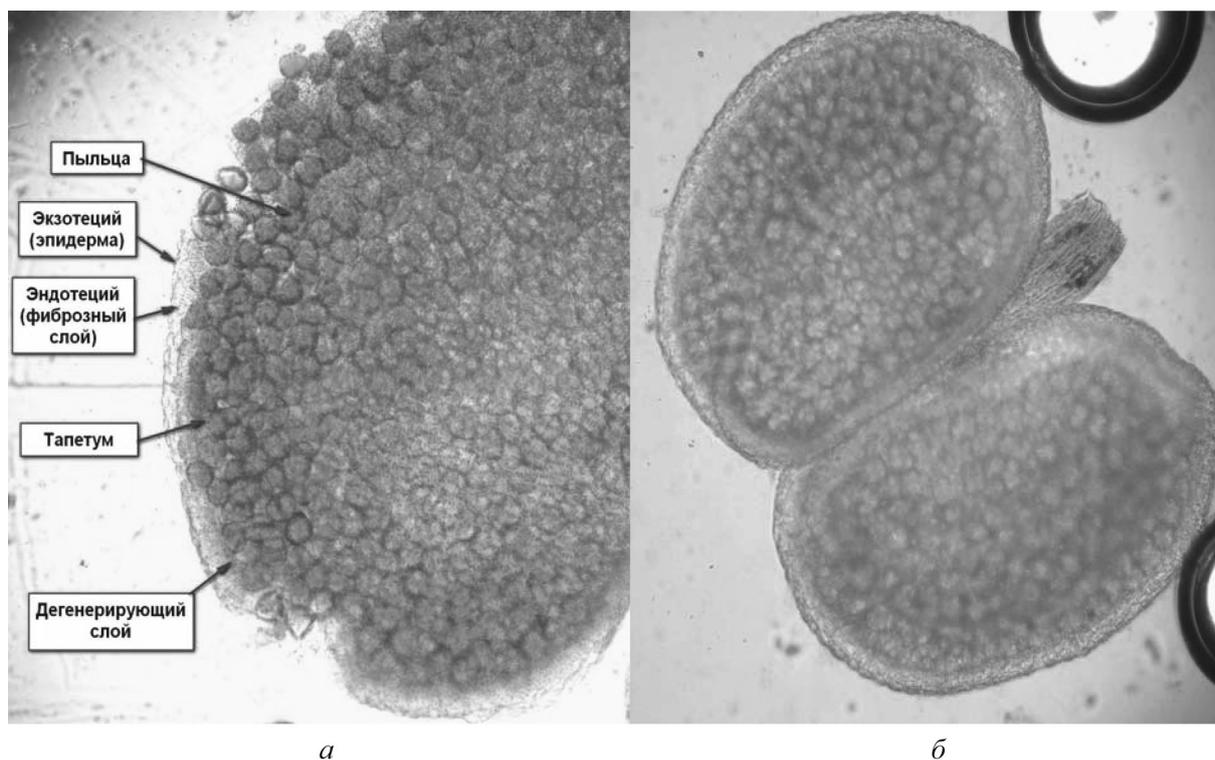


Рис. 6. Пыльцевой мешок сортов Асалода (а) и Комета (б)

вых зерен, наоборот, начинает значительно разрастаться и увеличиваться в размерах. Такое гипертрофированное развитие клеток тапетума приводит, в конечном счете, к тому, что на более поздних стадиях развития у сорта Комета кубанская образуется очень плотная стенка пыльника, которая угнетает развитие пыльцевых зерен (рис. 6). Освободить их можно лишь механическим воздействием в лабораторных условиях, в то время как в естественных условиях выход пыльцевых зерен из пыльцевого мешка невозможен.

Непосредственное выявление механизма образования твердой стенки пыльника требует дальнейших цитологических исследований.

### Выводы

1. При изучении особенностей микроспорогенеза у сортов алычи культурной Асалода и Комета кубанская, обладающих разной оплодотворяющей способностью, выявлены следующие нарушения:

у сорта Асалода они проявляются в выбросе (М I, А I), забегании (М I, А I, М II, А II) и отставании (А I, А II) хромосом, неравномерном расхождении ядер (А I, Т II); в образовании микроядер (Т I, Т II), большего и меньшего количества ядер (Т II), хромосомных мостов (А I). Несмотря на выявленные аномалии, на различных стадиях деления формируются правильные тетрады (91,9 %);

у сорта Комета кубанская нарушения проявляются в выбросе (М I, А I), забегании (А II) и отставании (А I, А II) хромосом, неравномерном расхождении ядер (А I, А II), неравной величине ядер (Т II); в образовании микроядер (Т I, Т II), большего и меньшего количества ядер (Т II), хромосомных мостов (М II). Формирование правильных тетрад составило 73,5 %.

Все вышеперечисленные нарушения не могут быть основной причиной низкой оплодотворяющей способности. Фертильность пыльцевых зерен путем окрашивания ацетокарминовым методом у сорта Асалода составила 94,2 %, у сорта Комета – 46,1 %.

2. При проращивании в 15 %-ном водном растворе сахарозы была установлена жизнеспособность пыльцевых зерен: у сорта Асалода – 41,8 %, у сорта Комета – 3,3 %. Причиной низкой жизнеспособности пыльцы сорта Комета кубанская являются нарушения в строении слоев стенки

пыльника. Тапетум пыльника сорта Комета вместо постепенного распада ко времени полного созревания пыльцевых зерен значительно увеличивался в размерах, что в конечном счете приводило к образованию твердой оболочки и к угнетению пыльцевых зерен. Механизм образования твердой стенки пыльника требует дальнейших цитологических исследований.

### Список использованной литературы

1. *Матвеев, В. А.* Исходный материал и особенности селекции диплоидных видов сливы / В. А. Матвеев // Плодоводство на рубеже XXI века: материалы междунар. науч. конф., посвящ. 75-летию со дня образования Белорус. НИИ плодоводства. – Минск, 2000. – С. 56–58.
2. *Матвеев, В. А.* Перекрестная фертильность и стерильность новых сортов и гибридов сливы диплоидной / В. А. Матвеев, М. Н. Васильева // Современные технологии сельскохозяйственного производства: материалы XIII междунар. науч.-практ. конф., Гродно, 14–16 апреля 2010 г.: в 2 ч. / ГГАУ; редкол.: В. К. Пестис [и др.]. – Гродно, 2010. – Ч. 1. – С. 142–144.
3. *Топильская, Л. А.* Изучение соматических и мейотических хромосом смородины / Л. А. Топильская, С. В. Лучникова, Н. П. Чувашина // Бюл. ЦГЛ. – Мичуринск, 1975. – Вып. 22. – С. 58–61.
4. *Паушева, З. П.* Практикум по цитологии растений / З. П. Паушева. – М.: Колос, 1980. – 270 с.

*Поступила в редакцию 03.11.2015*