

Биолог. журн. Армении, 3-4 (56), 2004

УДК 581.162.41:582.951.4

РОСТ ПЫЛЬЦЕВЫХ ТРУБОК РЯДА ВИДОВ ТОМАТА *IN VITRO*

Е.М. НАВАСАРДЯН, А.А. ЭЛБАКЯН

Институт ботаники НАН Армении, 375063, Ереван

У ряда дикорастущих и культурных видов томата (*Lycopersicon*) изучена прорастаемость пыльцы и скорость роста пыльцевых трубок через 1, 3, 6 и 24 ч после проращивания на искусственной питательной среде. Показано, что у самонесовместимого вида *L.hirsutum* и его самофертильной разновидности *L.hirsutum var.glabratum* прорастаемость пыльцы выше, а скорость роста пыльцевых трубок ниже, чем у самосовместимых видов *L.cheesmanii*, *L.pimpinellifolium*, *L.esculentum*. Отмечено, что скорость роста пыльцевых трубок находится в прямой зависимости от размера пыльцевых зерен и в обратной – от длины столбика.

Տոմատների (*Lycopersicon*) մի շարք վայրի և մշակովի տեսակների մոտ ուսումնասիրված է փոշու ծլունակությունը և փոշեհատիկների աճման արագությունը արհեստական սննդարար միջավայրում 1, 3, 6 և 24 ժամ ծլացնելուց հետո: Ցույց է տրված, որ ինքնանահամատեղելի *L.hirsutum* տեսակի և նրա ինքնաֆերտիլ տարատեսակ *L.hirsutum var.glabratum*-ի փոշու ծլունակությունը ավելի բարձր է, իսկ փոշեհատիկների աճման արագությունը ավելի ցածր, քան ինքնահամատեղելի *L.cheesmanii*, *L.pimpinellifolium*, *L.esculentum* տեսակների մոտ: Նշված է, որ փոշեխողովակների աճման արագությունը ուղիղ կապի մեջ է գտնվում փոշեհատիկների չափսերի և հետադարձ տնակի երկարության հետ:

The pollen germinating capacity and growth speed of the pollen tubes in number of wild and cultural tomato (*Lycopersicon*) species after 1, 3, 6 and 24 hours of germination on artificial nourishing substance is studied. It is shown, that pollen germinating capacity of self-incompatible species *L.hirsutum* and its self-fertile variety *L.hirsutum var.glabratum* is more, but of pollen tubes' lower, than of self-compatible *L.cheesmanii*, *L.pimpinellifolium*, *L.esculentum* species. It should be noted that the growth speed of the pollen tubes is in direct dependence to pollen grains size and in opposite – to style length.

Томат - пыльца - пыльцевые трубки - система размножения

Известно, что период от попадания пыльцы на рыльце до оплодотворения, при некоторой подверженности влиянию многочисленных факторов окружающей среды, является достаточно определенным для каждого вида и колеблется от 15 мин до года [5, 6, 11, 13]. У представителей более продвинутых классов покрытосеменных по сравнению с менее продвинутыми происходит сокращение этого периода. Предполагается, что скорость роста пыльцевых трубок тем выше, чем короче расстояние, которое они должны пройти [3], и чем короче период цветения растений [9]. Хорошая прорастаемость пыльцы на питательных средах дает возможность проводить сравнительные исследования ее жизнеспособности и роста пыльцевых трубок между разными видами. Литературные данные указывают на различия между

видами томата по скорости роста пыльцевых трубок, причем, как правило, у диких видов она значительно ниже, чем у культурных [3, 4].

Нами проведена сравнительная оценка ряда видов томата по прорастаемости пыльцы и скорости роста пыльцевых трубок (п.т.) *in vitro*, а также по размеру пыльцевых зерен (п.з.) и длине столбиков.

Материал и методика. Пыльцу для исследований собирали с растений, выращенных на опытном участке Института ботаники НАН РА. Использованы виды и разновидности томата *Lycopersicon Mill.*, характеризующиеся существенными различиями по уровню самосовместимости-самонесовместимости. Из подродовой категории *Eriopersicon Mull.* в опыты включены представители комплекса *L.hirsutum*. Типичный представитель вида – *L.hirsutum Humb.et Bonpl.* (образец 2021 по каталогу ВИР) является строго самонесовместимым, а его разновидность *L.hirsutum var.glabratum C.H.Mull.* (к-вр.7924 и к-5043) отличается слабым уровнем самофертильности и высокой степенью перекрестноопыляемости. Остальные виды относятся к подроду *Eulycopersicon Mull.* Это дикорастущие перекрестноопыляющиеся самосовместимые виды *L.cheesmanii Riley* (к-3969), *L.pimpinellifolium (Just.) Mill.* (к-3989) и культурный томат с высокой степенью автогамии *L.esculentum Mill.* (использованы сорта Краснодарец 87/23-9 и *Midseason 427*).

Проращивание пыльцы проводили по общепринятой методике [4,10,11] на искусственной питательной среде, состоящей из 1% агар-агара, 20% сахарозы и 0,006% борной кислоты. Пыльцу для посева извлекали из высушенных за ночь пыльников свежесобранных накануне цветков. Предметные стекла с питательной средой и посеянной пыльцой помещали в чашки Петри с увлажненной фильтровальной бумагой. Проращивание проводили в комнатных условиях при температуре 27–28°. Проросшую пыльцу просматривали на временных препаратах, окрашенных ацетокармином через 1, 3, 6, и 24 ч после посева. Последний вариант оказался возможным только для образцов комплекса *L.hirsutum*. У автогамных видов пыльцевые трубки оказались настолько длинными и запутанными, что провести измерения было практически невозможно. Подсчитывали следующие группы пыльцевых зерен: 1) стерильные, сморщенные, пустые или со следами окрашенной цитоплазмы; 2) нормально окрашенные, непроросшие; 3) с начальной стадией прорастания (длина пыльцевых трубок меньше или равна диаметру пыльцевых зерен); 4) с пыльцевыми трубками, превышающими по длине диаметр пыльцевых зерен. Среднюю длину пыльцевых трубок определяли по показателям последней группы. Измерение диаметра пыльцевых зерен и длины пыльцевых трубок проводили с помощью окуляр-микрометра на бинокулярном микроскопе при увеличении $\times 350$. Средний диаметр отражает результаты измерений 50–70 пыльцевых зерен. Длину столбика (10–20 цветков) определяли по миллиметровой линейке. Полученные данные статистически обработаны [2].

Результаты и обсуждение. Известно, что на искусственной питательной среде пыльца томата начинает прорастать в течение часа, и наиболее интенсивный рост наблюдается в первые четыре часа [9]. Считается, что оплодотворение у томата происходит примерно через 24 ч после опыления, однако *in vitro* пыльцевые трубки растут в 5–6 раз медленнее и практически никогда не достигают длины, которую они имеют при прорастании на рыльце. Очевидно, это обусловлено несоответствием условий роста в столбике и на питательной среде [3, 5, 11].

Результаты проращивания пыльцы исследуемых видов представлены в табл.1. Как показывают полученные данные, после 1 ч проращивания наименьшее количество проросших пыльцевых зерен было у видов *L.hirsutum* и *L.pimpinellifolium* – всего 3,4 и 7,4% соответственно. Через 3 ч у представителей комплекса *L.hirsutum* прорастаемость пыльцы резко возросла, а через 6 ч их абсолютное превосходство стало очевидным.

Таблица 1. Прорастаемость пыльцы и рост пыльцевых трубок ряда видов томата *in vitro*

Виды	Стерильность п.з., %	Проросшие п.з., %		
		Длина п.т., мкм		
		через		
		1ч	3ч	6ч
<i>L.hirsutum</i> (к-2021)	9,6 ± 1,36	3,4 (0,0) 0,0	47,1 (0,6) 25,3±2,3	57,1 (1,0) 39,1±2,3
<i>L.hirsutum var.glabratum</i> (к-вр.7924)	18,6 ± 1,94	35,1 (2,3) 29,3±1,4	52,9 (13,1) 51,0±0,9	62,1 (9,6) 79,9±2,1
<i>L.hirsutum var.glabratum</i> (к-5043)	9,3 ± 0,40	18,6 (1,1) 33,0±2,5	58,2 (16,8) 67,9±0,5	74,3 (4,9) 81,6±1,4
<i>L.cheesmanii</i> (к-3969)	12,6 ± 1,25	16,2 (2,3) 40,0±3,1	23,7 (7,8) 201,5±8,9	32,8 (13,6) 219,8±7,3
<i>L.pimpinellifolium</i> (к-3981)	14,5 ± 1,95	7,1 (0,1) 3,3	9,3 (0,3) 169,8 ±3,3	22,2 (4,4) 274,1±26,7
<i>L.esculentum</i> (Краснодарец 87/23-9)	4,9 ± 0,32	40,5 (11,2) 47,0±1,9	31,0 (17,2) 273,7 ±2,2	36,5 (15,6) 397,6±3,3
<i>L.esculentum</i> (Midseason 427)	9,6 ± 0,73	25,0 (11,1) 44,3±2,8	33,9 (25,9) 169,2±1,0	72,1 (56,4) ≈ 333,0

* В скобках указан % пыльцевых зерен с длиной пыльцевой трубки > диаметра пыльцевых зерен.

Обратная картина наблюдается при сравнении средней длины проросших п.т. Если через час проращивания различия по длине их между разными образцами были незначительными (за исключением *L.hirsutum*, у которого 3,4 % п.з. находились на начальной стадии прорастания), то через 3 и 6 ч пыльцевые трубки образцов комплекса *L.hirsutum* были намного короче, чем у самосовместимых видов, причем самые длинные отмечены у сортов *L.esculentum*, самые короткие (почти в 10 раз) – у *L.hirsutum*. Через 24 ч после посева у *L.hirsutum* и двух образцов *var.glabratum* (7924 и 5943) процент проросших пыльцевых зерен практически не превысил показатели, отмеченные через 6 ч и составил 60,3, 58,4 и 74,1, а длина пыльцевых трубок – только 96,6, 117,9 и 103,2 мкм соответственно. Таким образом, даже через 24 ч пыльцевые трубки образцов *L.hirsutum* были короче пыльцевых трубок самосовместимых видов, зафиксированных через 6 ч после проращивания.

Рассмотрим связь скорости роста пыльцевых трубок с размерами пыльцевых зерен и длиной столбика. Пыльцевые зерна томата очень мелкие, в сухом виде имеют эллипсоидную форму, а при окрашивании становятся шаровидными. У разных видов томата пыльца различается по размерам и, как правило, у диких самонесовместимых видов она мельче, чем у самосовместимых [3, 8]. Представленные в табл. 2 данные показывают, что мелкие пыльцевые зерна характерны для образцов комплекса *L.hirsutum*, а наиболее крупные – для вида *L.pimpinellifolium*.

Таблица 2. Длина столбика и размеры пыльцевых зерен ряда видов томата

Виды	Длина столбиков, мм	Диаметр окрашенных п.з., мкм
<i>L.hirsutum</i> (к-2021)	11,44±0,19	22,08±0,22
<i>L.hirsutum</i> var. <i>glabratum</i> (к.вр. 7924)	11,08±0,18	21,51±0,16
(к-5043)	10,31±0,13	20,68±0,24
<i>L.cheesmanii</i> (к-3969)	6,00±0,00	25,37±0,22
<i>L.pimpinellifolium</i> (к-3981)	6,36±0,17	26,07±0,20
<i>L.esculentum</i> Краснодарец 87/23-9	7,10±0,22	23,88±0,20
Midseason 427	6,67±0,33	24,18±0,29

Исследуемые виды различаются и по длине столбиков. Перекрестноопыляющиеся виды томата имеют длинные столбики с выступающими над тычиночной колонкой рыльцами. С увеличением уровня автогамии столбики укорачиваются, и у типичного самосовместимого *L.esculentum* рыльце, как правило, не выступает за пределы тычиночной колонки [1]. В представленном материале наиболее длинные столбики отмечены у вида *L.hirsutum* (11,44мм), самые короткие – у *L.cheesmanii* (6,0мм). Таким образом, виды с короткими столбиками имеют более крупные пыльцевые зерна, чем виды с относительно длинными столбиками. Сравнение, проведенное в пределах исследуемых образцов, показало высокую отрицательную корреляцию: $r = -0,906 \pm 0,078$. Скорость роста пыльцевых трубок находится в прямой связи с размерами пыльцевых зерен ($r = 0,705$) и в обратной – с длиной столбика ($r = -0,855$).

Скорость роста пыльцы в определенной степени связана со степенью развития генеративных органов цветка. Известно, что у перекрестноопыляющихся самонесовместимых видов ярко выражена мужская сексуализация – к моменту опыления у них развиты пыльники и недоразвит гинцей [7]. Созревание семязпочек стимулируется прорастанием пыльцы на рыльце пестика, т.е. высокий процент прорастаемости пыльцевых зерен для перекрестников биологически оправдан. В процессе эволюции от самонесовместимости к самосовместимости происходит постепенное выравнивание мужской и женской сексуализации и отпадает необходимость в стимулирующем действии проросшей пыльцы [7, 12].

Таким образом, различия между исследуемыми видами томата по прорастаемости пыльцевых зерен и скорости роста пыльцевых трубок являются отражением различий между видами по характерному для них соотношению самосовместимости-самонесовместимости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян А.М. Генетика, 24, 1, 126-135, 1988.
2. Вольф В.Г. Статистическая обработка опытных данных. М., "Колос", 1966.
3. Георгиева Р. Род *Lycopersicon* Mill. София, БАН, 1976.

4. Кравченко А.Н., Лях В.А., Тодераш Л.Г., Салтанович Т.И., Паскал М.К. Методы гаметной и зиготной селекции томатов. Кишинев, "Штиинца", 1988.
5. Линскенс Х. Пыльца. Сб. переводов. Физиологические и биохимические аспекты несовместимости у растений. М., 66-100, 1970.
6. Мегашвари П. Эмбриология покрытосеменных. М., ИЛ., 1954.
7. Молчан И.М. Половые типы растений и теория несовместимости. Известия ТСХА, вып.3, 67-80, 1974.
8. Москалева Г.И., Огородникова В.Ф. Тр. по прикл. бот., генет. и селекции, 606 вып. 2, 16-24, 1977.
9. Оганесян М.Г. Автореф. канд. дисс. Ереван, 24 с., 1975.
10. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М., "Колос", 1980.
11. Поддубная-Арнольди В.А. Цитозембриология покрытосеменных растений. М., "Наука", 1976.
12. Фегри К., Л. ван дер Пэйл. Основы экологии опыления. М., "Мир", 1982.
13. Френкель Р., Галун Э. Механизмы опыления, размножение и селекция растений. М., "Колос", 1982.

Поступила 06.IX.2004