

УДК 635.64:631.527

СКРИНИНГ КУЛЬТУРНОГО ГЕНОФОНДА ТОМАТОВ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ВЫСОКОТЕМПЕРАТУРНОМУ СТРЕССУ ПО ПРИЗНАКАМ ПЫЛЬЦЫ

М. МАКОВЕЙ, М. ГРАТИ, Н. МИХНЯ, В. ГРАТИ
Институт генетики и физиологии растений АНМ

Abstract. The results of tomatoes resistance to high temperatures on the basis of mature pollen are presented in this paper. The pollen viability and pollen tube length analysis under the optimal (25°C) and stress (45°C) temperatures conditions for each genotype has been performed. A contrasting material with a different level of pollen resistance has been obtained. The possibility to implement this method in practice has been demonstrated.

Kew words: Genotype, Pollen, Resistance, Temperature stress factor.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы каждый второй-третий год в Молдове является засушливым. Высокие температуры негативно влияют на развитие генеративных органов томатов, что впоследствии отрицательно сказывается на оплодотворении, а, следовательно, на урожай.

Устойчивость томатов к неблагоприятным условиям среды может быть повышена в результате селекции. Решающее значение при этом имеет обнаружение источников высокой устойчивости. Однако, оценка уровня устойчивости к стрессовым факторам среды трудная задача. Необходимо, чтобы неблагоприятный фактор действовал в тот период развития растений, когда они к нему наиболее чувствительны. Наряду с действием естественных факторов необходимо их моделировать в лабораторных условиях, что позволяет интенсифицировать оценку исходного материала и ускорить процесс селекции. В этой связи особый интерес представляет метод гаметофитного отбора. Многими исследователями (P. Pfahler, 1982; А. Кравченко и др., 1988; А. Сорока, 1992; М. Бунин и др., 1997; И. Заячковский и др., 1997; И. Сенин, 1997; В. Лях и др., 2000) на различных культурах показана эффективность использования данного подхода для оценки и отбора устойчивых генотипов. Доступность пыльцы

для визуальной оценки её реакции на воздействие стрессовых факторов и возможность проработать выборки из множества гамет, позволяют провести раннюю оценку селекционных образцов и значительно сокращать время оценки большого числа генотипов, выделять редкие и устойчивые формы.

Цель данного исследования – провести оценку коллекционного и селекционного материала томатов на устойчивость к высокой температуре с использованием метода пыльцевой оценки.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для проведения исследований использовали 85 коллекционных и селекционных образцов томатов Института генетики и физиологии растений, АНМ. Растения выращивали в полевых условиях по общепринятой методике (Б. Доспехов, 1979). Оценка материала на устойчивость к повышенной температуре проводили на стадии зрелого пыльцевого зерна индивидуально по каждому генотипу. Пыльцу собирали с 10-15 растений каждого изучаемого образца. Её проращивали на искусственной питательной среде состоящей из; сахарозы (15%) и борной кислоты (0,006%) на предметном стекле. Стекла с пыльцой для проращивания помещали в чашки Петри на фильтровальной бумаге. Инкубацию пыльцы проводили в термостате при температуре 25°C (контроль) в течение 3-х часов. Для определения жаростойкости предварительно пыльцу прогревали при повышенной температуре (45°C) в течение 8 часов (опыт), а затем проращивали при оптимальной температуре (25°C) на протяжении 3-х часов. Подсчет проросших пыльцевых зерен проводили под микроскопом не менее, чем в 10 полях зрения. Об устойчивости пыльцы судили по уменьшению жизнеспособности в опытном варианте по сравнению с контролем. Длину пыльцевых трубок в контрольном и опытном вариантах измеряли в делениях окуляр-микрометра. Затем определяли коэффициент устойчивости каждого из изученных образцов с учетом комплекса изученных признаков пыльцы (жизнеспособность, жаростойкость, длина пыльцевых трубок и устойчивость по длине пыльцевых трубок). Весь экспериментальный материал был разбит на группы по степени устойчивости изученных образцов. Величину интервала групп определяли по Б. Доспехову (1979).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка коллекционного и селекционного материала (всего 85) на предприятий устойчивости к повышенной температуре в условиях *in vitro* показала, что жизнеспособность пыльцы в контрольном варианте у изученных образцов была различной и варьировала от 4,8% до 68,6%. По способности пыльцы формировать длинные пыльцевые трубки у разных генотипов эти различия также достаточно существенны и составляют 20-132 деления окуляр-микрометра. После воздействия температурой 45°C на пыльцу исследуемых генотипов выделены образцы с неоднозначной реакцией на действие стрессового температурного фактора. Значения признаков пыльцы – жизнеспособность и длина пыльцевых трубок до и после действия стрессовой температурой в значительной степени зависят от генетических особенностей изучаемого образца. Удалось выделить генотипы с различным уровнем устойчивости пыльцы к высоко-температурному стрессу. Весь экспериментальный материал систематизирован и представлен 5 группами устойчивости. Каждая группа включает генотипы с определенной реакцией их пыльцы на воздействие температурного стресса. Коэффициент устойчивости реально отображает уровень устойчивости того или иного генотипа по комплексу признаков пыльцы и дает возможность выразить существенные особенности изучаемых генотипов (табл. 1).

Из 85 образцов культурного генофонда томатов 24 имели средний коэффициент устойчивости по изученным признакам пыльцы – 12,7. Данные генотипы (Л311; Л321; Л322; Л327; сорта: Лида, Фригушор, Санта-Мария, Успех, Поток, Загадка, Оникс, № 442; Л15; Л 6; Л304; Л312; Л313; Л323; № 418; сорт Нота; сорт Барнаульский консервный; Л 440; Л 442; Л111; № 425 и № 426) характеризовались средней и высокой исходной жизнеспособностью пыльцы. В контрольном варианте у разных генотипов она варьировала от 9,7% до 50,8%. Пыльца генотипов этой группы формировала очень длинные пыльцевые трубки на искусственной питательной среде *in vitro* – 26-130 делений окуляр-микрометра. После воздействия на пыльцу вышеприведенных

Таблица 1

Лимиты значений признаков пыльцы при распределении генотипов томатов по группам устойчивости

| Группы устойчивости генотипов | Количество генотипов в группе | Лимиты значений коэффициентов устойчивости по группам |
|-------------------------------|-------------------------------|---|
| 1. Неустойчивые | 24 | 0 - 26 |
| 2. Среднеустойчивые | 26 | 27 - 53 |
| 3. Устойчивые | 25 | 54 - 80 |
| 4. Высокоустойчивые | 4 | 81 - 107 |
| 5. Сверхустойчивые | 6 | 108 - 134 |

генотипов температурой 45°C в течение 8 часов жизнеспособность пыльцы их значительно снижалась (4,0%-14,3%). По сравнению с контролем длина пыльцевых трубок уменьшалась в 2,5 раза и у разных генотипов составляла 13-52 дел. ок-мкр. Как видим, это генотипы с высокой чувствительностью пыльцы к действию температурного фактора, так как значения показателей признаков пыльцы сильно снижаются в опытном варианте. Следовательно, они относятся к группе неустойчивых (1).

Из второй группы изученных образцов (Л301; Л306; Л307; Л310; Л314; Л330; №404; №405; №409; №410; №416; №419; №420; №421; сорта: Земляк, Баллада, Нистру, Никола, Еланский, Москвич, Виза, Л9750, Л5 и № 424) только три имеют высокие показатели исходной жизнеспособности пыльцы Л301-68,6% и Л307-46,3%, Л404 -43,1%. Остальные характеризуются одинаково средними значениями. Варьирование этого признака в пределах данной группы генотипов составляет 17,1%-36,2%. Показатели по длине пыльцевых трубок были достаточно разными и варьировали от 23 до 95 делений ок-мкр. Обработка пыльцы генотипов температурой 45°C в течение 8 часов значительно снижает показатели анализируемых признаков. Жизнеспособность пыльцы генотипов в пределах этой группы составляют 6,2%-38,1%. Уменьшение длины пыльцевых трубок относительно контроля было незначительным и варьировало от 20 до 80 делений ок-мкр. В данной группе большая часть образцов отличаются меньшей ответной реакцией на действие высокой температурой. Уменьшение параметров изучаемых признаков пыльцы в опытном варианте по сравнению с контролем было дифференциальным и зависело от особенностей генотипа, как и в предыдущей группе. Средний коэффициент устойчивости, характеризующий данную группу генотипов, составляет 44,7 (табл. 2). Это указывает на меньшую степень снижения показателей анализируемых признаков, чем в первой группе.

Достаточно интересными представляются данные, полученные по третьей группе генотипов – Л302; Л 303; Л 305; Л 308; Л324; № 404; № 405; № 407; № 408; № 409; № 410; № 411; № 412; № 413; № 414; сорта: Церос, Лебяжинский, Ailon, Солярис, Катерина, Лидер, Демидов, Л 706, Л 7 и № 422. Анализ жизнеспособности пыльцы у 25 генотипов этой группы в контрольном варианте, выявил, что этот показатель сугубо сортоспецифичен, и варьирует в пределах данной группы от 9,3% до 52,7%. При воздействии температурой жизнеспособность снижается незначительно и составляет 8,8% - 46,0%. Показатели по признаку «длина пыльцевых трубок» в контрольном и опытном вариантах значительно не отличаются 26-78 и 25-68 делений ок-мкр. соответственно. Коэффициент устойчивости по группе генотипов - 72,0 (табл. 2). Такая реакция на воздействие высокой температурой свидетельствует о том, что у этих образцов в естественных условиях формируется более жароустойчивая пыльца, которая мало реагирует на последующее её прогревание. Следовательно, эти генотипы характеризуются как жаростойкие. Наиболее высокий коэффициент устойчивости по комплексу анализируемых признаков имеют – Л303 – 72,0; Л 324–75,3; № 411–72,3; сорт Катерина–73,4; сорт Демидов–70,1; Л 7–79,3 и № 422 – 80,2.

К четвертой группе относятся с высокоустойчивой по признакам пыльцы генотипы – Л309; сорт Portugues; сорт Ovale de torelame и сорт Амулет. Параметры признаков «жизнеспособность пыльцы и длина пыльцевых трубок» в контрольном варианте и варианте опытном практически

одинаковые. Данные генотипы в естественных условиях формируют пыльцу с низкой и средней жизнеспособностью (16,2% - 38,5%). После высокотемпературной обработки эти показатели практически не снижаются (14,8%-34,6). Аналогичные результаты получены по длине пыльцевых трубок 30-35 делений окуляр-микрометра (контроль) и 28-35 делений ок-микро. (опыт). Коэффициент устойчивости по комплексу изученных признаков пыльцы у этих генотипов очень высокий и составляет у Л 309-96,3; сорт Амулет-86,4; сорт *Ovale de torelame*-82,4 и сорт *Portugues*-82,0.

Таблица 2

Характеристика генотипов томата по степени их устойчивости к температурному стрессу

| Группа устойчивости | Вариант опыта | Жизнеспособность пыльцы, % | Жаростойкость пыльцы, % | Длина пыльцевых трубок, (деления окуляр-микрометра) | Устойчивость по длине пыльцевых трубок, % | Коэффициент устойчивости к температурному стрессу |
|---------------------|---------------|----------------------------|-------------------------|---|---|---|
| 1 | Контроль | 30,2 ± 2,4 | 30,8 | 79 | 40,5 | 12,7 |
| | Опыт | 9,3 ± 0,70 | | 32,5 | | |
| 2 | Контроль | 37,8 ± 1,4 | 53,3 | 59 | 83,9 | 44,7 |
| | Опыт | 22,5 ± 1,2 | | 50 | | |
| 3 | Контроль | 31,0 ± 2,0 | 81,9 | 52 | 84,6 | 72,0 |
| | Опыт | 25,4 ± 2,2 | | 47 | | |
| 4 | Контроль | 27,3 ± 1,7 | 87,6 | 32,5 | 97,0 | 84,9 |
| | Опыт | 25,3 ± 2,0 | | 31,5 | | |
| 5 | Контроль | 25,2 ± 1,4 | 100,0 | 30 | 108,3 | 116,6 |
| | Опыт | 25,3 ± 1,7 | | 32,5 | | |

К следующей пятой группе относятся генотипы: № 403; № 415; сорт *Вершок*; № 423; сорт *Auroga* и № 402. Как показывают данные таблицы 2 жизнеспособность пыльцы в контрольном и опытном вариантах одинаковые, но длина пыльцевых трубок после воздействия температурой 45°C выше, чем в контроле. Здесь имеет место некая стимуляция, поскольку после термообработки пыльца этих генотипов на искусственной питательной среде формирует более длинные пыльцевые трубки относительно контроля. Коэффициент устойчивости у них очень высокий. Например, № 403-117,9; № 415-108,7; сорт *Вершок*-116,0 и № 423-134,5, что подтверждает высокий уровень их устойчивости к исследуемому температурному стрессу. Полученные результаты показывают, что температурный режим в случае повышенных значений в период формирования пыльцы влияет на её жаростойкость. После термообработки такой пыльцы, значения изучаемых признаков не меняются. Такая пыльца в естественных условиях при высоких температурных режимах способна прорасти и произвести оплодотворение. В литературе достаточно данных подтверждающих, что при высоких температурах (35-45°C) уменьшается жизнеспособность пыльцы, вследствие чего происходит плохое оплодотворение и как результат снижение урожая томатов. В связи с этим в селекции томатов, нужно учитывать жароустойчивость пыльцы и вести отбор сортов и гибридов на данный признак. Используемый подход показывает возможность оценки большого числа генотипов и отбора их на специально созданном и сравнительно легко регулируемом фоне.

ВЫВОДЫ

В результате проведенных исследований обширного коллекционного и селекционного материала выявлены генотипы с различным уровнем устойчивости пыльцы к высокотем-

пературному стрессу. Различия между ними оказались достаточно высокими. Двадцать четыре генотипа из 85 исследованных в оптимальных условиях формируют жизнеспособную пыльцу, но воздействие на неё высокой температурой уменьшает показатели изучаемых признаков в несколько раз. Эти генотипы в стрессовых ситуациях оказываются неустойчивыми.

Другая группа генотипов (26) с меньшей ответной реакцией на действие температурного стресса проявляет среднюю устойчивость. Высокоустойчивыми по признакам пыльцы можно считать генотипы, у которых различия между показателями изученных признаков контроль – опыт незначительны, такие как: ЛЗ09; № 402; № 403; № 415; № 423; сорта: Амулет; *Ovale de torelame*; *Portugues*; *Aurora* и *Вершок*.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Бунин, М. С., Степанов, В. А., Балашова, Н. Н. Разработка методики повышения холодостойкости репы японской с использованием мужского гаметофита // Гетерозис сельскохозяйственных растений: Мат. докл. сообщ. межд. симпоз. Москва, 1997. с. 96-97.
2. Доспехов, Б. А. Методика полевого опыта. Москва: Агропромиздат, 1979, 420 с.
3. Заячковский, И. А., Сенин, И. В., Старцев, В. И. Исследование мужского гаметофита столовой свеклы // Гетерозис сельскохозяйственных растений: Мат. докл. сообщ. Межд. симп. Москва, 1997, с. 110-111.
4. Кравченко, А. Н., Лях, Л. Г., Тодераш, Л. Г. и др. // Методы гаметной и зиготной селекции томатов. Кишинев, 1988, 152 с.
5. Лях, В. А., Сорока, А. И. и др. Методы отбора ценных генотипов на уровне пыльцы. Запорожье, 2000, 48 с.
6. Сенин, И. В. Использование показателей пыльцы для выделения из популяций моркови перспективных линий для гетерозисной селекции. // Гетерозис сельскохозяйственных растений: Мат. докл. сообщ. межд. симпоз. Москва, 1997, с. 142-144.
7. Сорока, А. И. Микрогаметофитный отбор на устойчивость к температурному фактору у кукурузы. // Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.15, Москва, 1992.
8. Pfahler, P. Comparative effectiveness of pollen genotype selection in Higher plants // *Pollen; Biology and Implications for Plant Breeding*. N.Y. 1982. P. 361-365.

Data prezentării articolului – 04.03.2009