

Киселева Н.С.**ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ПЫЛЬЦЫ ГЕНОТИПОВ ГРУШИ
ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СЕЛЕКЦИИ**

Киселева Наталья Станиславовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт цветоводства и субтропических культур», Россия

E-mail: nskiselyeva_05@mail.ru

Тел.: 8 (8622) 96 40 21

Изучены показатели морфологического качества пыльцы 14 генотипов груши в условиях влажных субтропиков юга России. Определены жизнеспособность и фертильность, проведен анализ вариационных кривых размеров пыльцевых зерен для косвенного выявления тенденции нарушения микроспорогенеза. Отмечено варьирование процента прорастания в диапазоне от 55% до 83%, фертильности – в диапазоне 77-97 %. Выявлены закономерности размерной дифференциации пыльцевых зерен и других параметров качества пыльцы, оценен закон их распределения.

В результате статистического анализа установлено, что увеличение диаметра пыльцевых зерен отображается большей выравненностью графической кривой с отклонением распределения в сторону уменьшения значений. Морфологически гомогенная пыльца с приближенными к нулевым значениям эксцесса и асимметрии объемами размеров ее выборки, считается следствием отсутствия нарушений образования гамет в результате мейотического деления и формирования пыльцы в пыльниках. При незначительных нарушениях мейоза количество пыльцы разного размера минимально, при этом происходит увеличение дисперсии признака и расширение интервала крайних значений. Значительное отклонение вариационной кривой размеров пыльцы указывает на изменения в процессе микроспорогенеза, вызвавшие морфологическую разнокачественность пыльцевых зерен.

Ключевые слова: груша, селекция, пыльцевое зерно, жизнеспособность и фертильность пыльцы, морфологическая выполненность, вариабельность, микроспорогенез.



Для цитирования: Киселева Н.С. / Оценка качества пыльцы генотипов груши для использования в селекции // Новые технологии. 2019. Вып. 4(50). С. 153-165. DOI: 10.24411/2072-0920-2019-10415.

Kiseleva N.S.

QUALITY ASSESSMENT OF POLLEN OF PEAR GENOTYPES FOR THEIR USE IN BREEDING

Kiseleva Natalya Stanislavovna, Candidate of Biology, a senior researcher
FSBSI «All-Russian Scientific Research Institute of Floriculture and Subtropical
Crops», Russia

E-mail: nskiselyeva_05@mail.ru

Tel.: 8 (8622) 96 40 21

The morphological quality indices of pollen of 14 pear genotypes have been studied in the conditions of the humid subtropics of the south of Russia. Viability and fertility have been determined, and variational curves of pollen grain sizes have been analyzed to identify indirectly trends in microsporogenesis disturbance. A variation in the percentage of germination has been noted in the range from 55% to 83%, and fertility in the range of 77-97 %. The regularities of dimensional differentiation of pollen grains and other pollen quality parameters have been revealed, and the law of their distribution has been evaluated.

As a result of statistical analysis, it has been found that an increase in the diameter of pollen grains is displayed by a greater uniformity of the graphic curve with a deviation of the distribution in the direction of decreasing values. Morphologically homogeneous pollen with volumes of sample sizes close to zero kurtosis and asymmetry are considered to be the result of the absence of disturbances in gamete formation as a result of meiotic fission and pollen formation in anthers.

With minor violations of meiosis, the amount of pollen of different sizes is minimal, while there is an increase in the dispersion of the trait and an extension of the range of extreme values. A significant deviation of the variational curve of pollen sizes indicates changes in the process of microsporogenesis that caused morphological heterogeneity of pollen grains.

Key words: pear, selection, pollen grain, pollen viability and fertility, morphological fulfillment, variability, microsporogenesis.

For citation: Kiseleva N.S. / Quality assessment of pollen of pear genotypes for their use in breeding // *Novye Tehnologii*. 2019. Issue. 4(50). P. 153-165. DOI: 10.24411/2072-0920-2019-10415.

Груша – вторая после яблони по широте распространения плодовая культура, не подверженная резкой периодичности плодоношения, нуждающаяся в детальных исследованиях для отбора сортов, наиболее пригодных для имеющихся климатических и почвенных ресурсов влажных субтропиков Краснодарского края.

Для изучения этапов формирования продукционного потенциала любой плодовой культуры, необходимо проведение анализа ее биологической (возможной) продуктивности и цитологической оценки формирования генеративной об-

ласти. Процесс оплодотворения, а также последующего формирования плодов, находится в зависимости от качества пыльцы.

Цель наших исследований заключалась в оценке морфологического качества пыльцы изучаемых генотипов груши для сравнительной характеристики их биологического потенциала по продуктивности и дальнейшего использования в селекционном процессе.

Объекты и методы исследований

Объектами исследования служили 14 генотипов груши разного срока созревания, произрастающие на коллекционном участке ФГБНУ ВНИИ цветоводства и субтропических культур (г. Сочи). Исследования проводились в 2008-2018 гг. в соответствии с методическими рекомендациями по селекции и сортоизучению плодовых, ягодных и орехоплодных культур [1, 2, 3]. Определение жизнеспособности и фертильности пыльцы проведено согласно методическим рекомендациям [4, С. 208-215]. Достоверность генотипических различий определена дисперсионным и регрессионным анализом [5]. Изучение размерной и качественной вариабельности пыльцевых зерен проведено методами описательной статистики [5, 6].

Результаты исследований

В условиях рыночной экономики перед селекционерами стоит задача создания новых сортов на основании имеющихся геноресурсов, отвечающих требованиям современного садоводства с использованием классических и современных методов селекции [1, 3, 7, 8]. Необходимость совершенствования сортимента вызвана, в том числе, изменением климата и ухудшением экологической обстановки. Для повышения урожайности и экономической эффективности имеющихся плодовых насаждений изучение биологического потенциала продуктивности любой плодовой культуры с цитологической оценкой ее генеративного развития весьма актуально в рамках задач селекционного улучшения сортов. Анализ морфофизиологического качества гамет необходим для оценки прохождения процесса оплодотворения и развития плодов груши [8, 9, 10].

Одним из косвенных показателей, определяющих урожайность груши, является жизнеспособность пыльцы, которая варьирует в зависимости от генотипа или разнообразия условий среды, что также существенно для изучения самофертильности – плохое качество пыльцевых зерен может повлиять на результат самооплодотворения [11, 12, 13]. Фертильность оценивает морфофизиологическое качество гамет, определяющее развитие процесса оплодотворения. Известно, что для хорошего опыления и получения высоких, эффективных урожаев плодов, достаточно фертильности на уровне 35% [14, С. 21-30]. Поэтому, помимо жизнеспособности, проведено определение фертильности.

У всех изученных генотипов груши пыльца равнополярная, трехбороздого типа, сплюснута-сфероидальной формы, крупного размера. Диаметр пыльцевого зерна составляет $64,3 \pm 6,7$ мкм с границами интервалов от 58,5 до 69,7 мкм и

диапазоном дисперсии от 2 до 22 мкм. Нижний предел измерений по размерам (54,5-57,8 мкм) отмечен у сортов Бере Жиффара, Вербена и Вильямс (табл. 1).

Таблица 1 - Показатели морфологического качества пыльцы и биометрические параметры диаметра пыльцевого зерна генотипов груши

№ п/п	Сорт/гибрид	Жизнеспособность пыльцы, %		Фертильность пыльцы, %		Диаметр пыльцевого зерна, мкм			
		M±m,%	σ	M±m,%	σ	M±m,	Min÷ma	R,	σ
						мкм	х, мкм	мкм	
Ранне-летние									
1	Бере Жиффар (К)	70,57±3,52	6,12	87,57±0,23	0,40	54,48±3,13	49,0-59,9	10,8	5,42
2	Сочинская крупноплодная	57,13±12,0	20,79	80,77±0,77	1,34	73,87±0,63	72,6-74,5	1,9	1,1
3	Вега	66,27±2,3	3,98	97,2±0,81	1,4	58,73±3,37	54,5-65,4	10,9	5,84
	НСР ₀₅	0,37	0,12	0,30	0,03	0,13	-	0,05	0,07
Летние									
4	Вильямс (К)	70,56±1,04	1,81	77,6±1,3	2,25	57,83±3,33	54,5-64,5	5,10	5,78
5	Красный Вильямс	63,03±7,62	13,2	80,23±0,9	1,66	59,27±3,22	54,5-65,4	10,9	5,58
6	Южанка	66,9±6,88	11,92	77,0±0,7	1,21	67,8±5,8	56,3-74,5	18,2	10,0
7	Черноморская Янтарная	83,53±4,92	8,53	89,2±0,30	0,53	58,93±4,43	54,5-67,8	13,3	7,68
8	Гибрид №2248	62,35±7,33	12,7	81,9±0,35	0,61	64,03±0,95	62,2-65,4	5,2	1,65
	НСР ₀₅	0,04	0,11	0,58	0,01	0,03	-	0,05	0,06
Осенне-зимние									
9.	Бере Боск (К)	65,9±3,05	5,29	87,57±1,33	2,30	65,4±1,04	54,5-65,4	10,9	7,7
10.	Вербена	65,87±1,23	2,13	79,27±0,42	0,74	57,82±2,47	54,5-62,6	8,15	4,28
11.	Хостинская	71,27±5,29	9,17	79,8±0,47	0,81	65,4±6,29	54,5-76,3	21,8	10,9
12.	Рассвет	56,47±7,6	13,15	77,7±0,35	0,61	69,63±6,67	56,3-76,3	20,0	11,5
13.	Гибрид №8520	54,8±10,34	18,26	83,53±0,86	1,50	69,83±3,31	65,4-76,3	10,9	5,73
14.	Кильчу	59,57±3,13	5,43	97,17±0,84	1,46	78,1±1,8	76,3-81,7	5,4	3,12
	НСР ₀₅	0,03	0,01	0,05	0,01	0,03	-	0,07	0,03
Среднее по генотипам		65,09±11,6	9,46	84,03±6,7	1,20	64,3±6,7	58,5-69,7	11,2	6,16

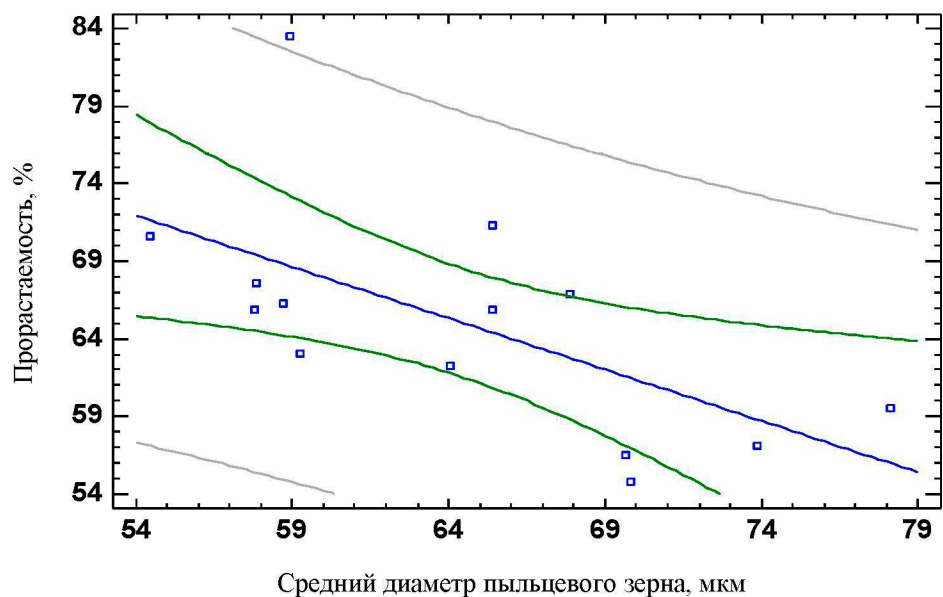
Примечание: M±m-среднее арифметическое ± стандартная ошибка; σ – стандартное отклонение; Min÷max – диапазон значений; R – размах варьирования. НСР₀₅ статистически достоверно на 95%-уровне, F_ф>F_{ст}.

Проращивание пыльцы на агаризованной питательной среде показало варьирование процента прорастания в диапазоне от 55% до 83%, самые высокие показатели у летнего сорта Черноморская Янтарная (83,5 %) селекции ФГБНУ ВНИИЦСК, у гибрида №8520 и сортов Рассвет, Сочинская Крупноплодная и Кильчу (до 60%). Также отмечена фертильности пыльцевых зерен в диапазоне 77-97 %, более морфологически качественная пыльца у сортов Вега, Кильчу, Черноморская Янтарная, Бере Жиффар, Бере Боск и гибрида №8520.

В пределах каждого генотипа между прорастаемостью и диаметром пыльцевого зерна установлена обратная ($r = -0,62$) корреляционная связь, средняя и достоверная ($p > 95\%$) (рис. 1).

$$Y = 107,673 - 0,661705 \cdot x$$

$$R^2 = 38,4919$$



$$Y = 74,9794 + 0,134043 \cdot x$$

$$R^2 = 1,61927$$

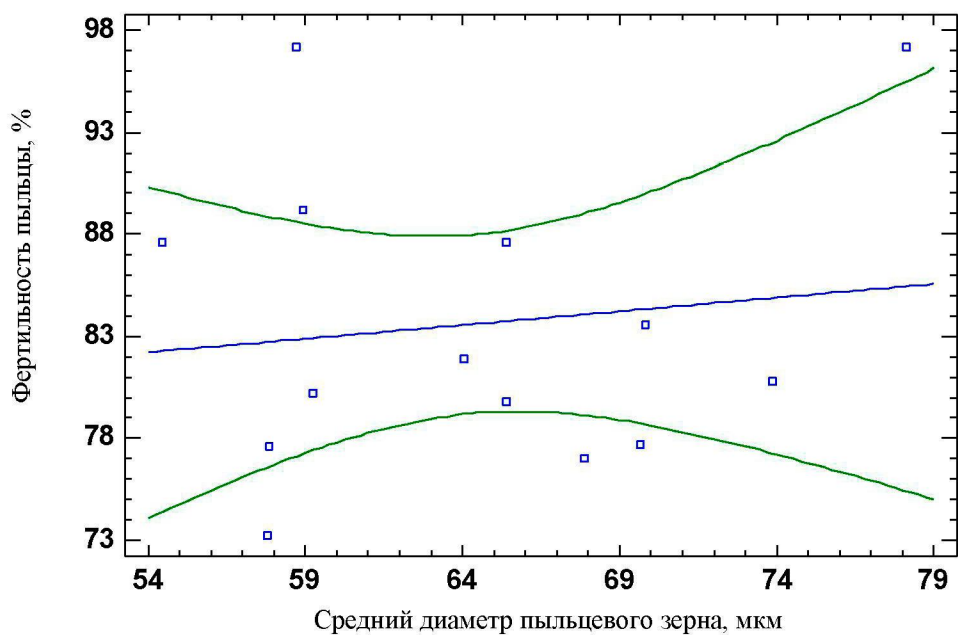


Рис. 1. Взаимосвязь жизнеспособности, морфологической выполненности и диаметра пыльцевых зерен

Для более детального подхода к оценке морфологической выполненности пыльцы сортов и гибридов груши изучены особенности степени изменчивости размерных признаков диаметра пыльцевых зерен. Так, чем сильнее изменяется признак, тем больше размах вариации (R) и, наоборот – чем слабее вариация признака, тем изменчивость меньше.

Стандартное отклонение (σ) измеряет диапазон распределения относительно его среднего. Чем меньше показатель σ , тем однороднее совокупность данных и на практике позволяет оценить, насколько значения из множества могут отличаться от среднего.

Диапазон размерной вариабельности пыльцы и ее стандартного отклонения значителен у генотипов Хостинская, Рассвет, Южанка в области 65-69 мкм по всей изучаемой группе (рис. 2).

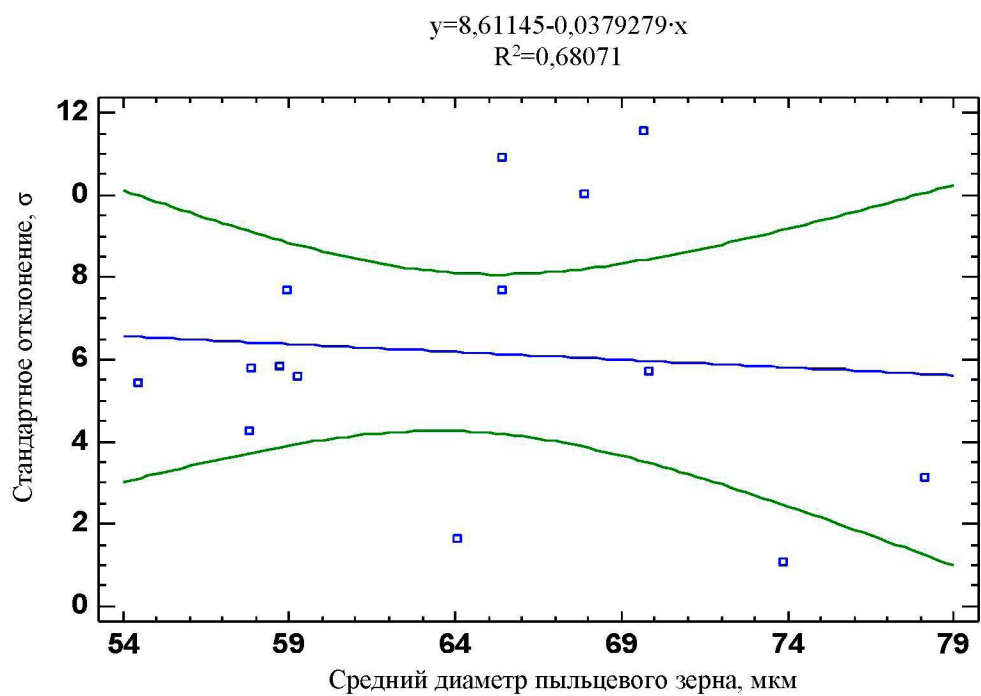
Однако, данные показатели не позволяют однозначно оценить морфологическую выполненность. Увеличение предельных отклонений размеров пыльцы у определенного генотипа свидетельствует о нарушениях мейотического деления клеток и формирования качественной пыльцы в пыльниках. Неравномерное распределение ядерного материала и образование ядер разного размера является следствием подобных нарушений. Тем не менее, если патология в процессе мейоза незначительна, то число мелкой и крупной анеуплоидной пыльцы будет минимальным и фактически никак не отразится на ее обычном размере, при этом возрастет дисперсия показателя, а также расширится интервал предельных значений.

Эксцесс и асимметрия представляют наиболее информативные статистические показатели анализа изменчивости размерных признаков. Эксцесс показывает, в какой мере плотность распределения сравнительно остроконечна либо выравнена по сравнению с нормальным распределением. Так, положительный эксцесс указывает на остроконечное распределение, отрицательный – на сглаженное. Асимметрия определяет степень диспропорции распределения относительно его среднего: положительная – в сторону максимальных значений; отрицательная – минимальных.

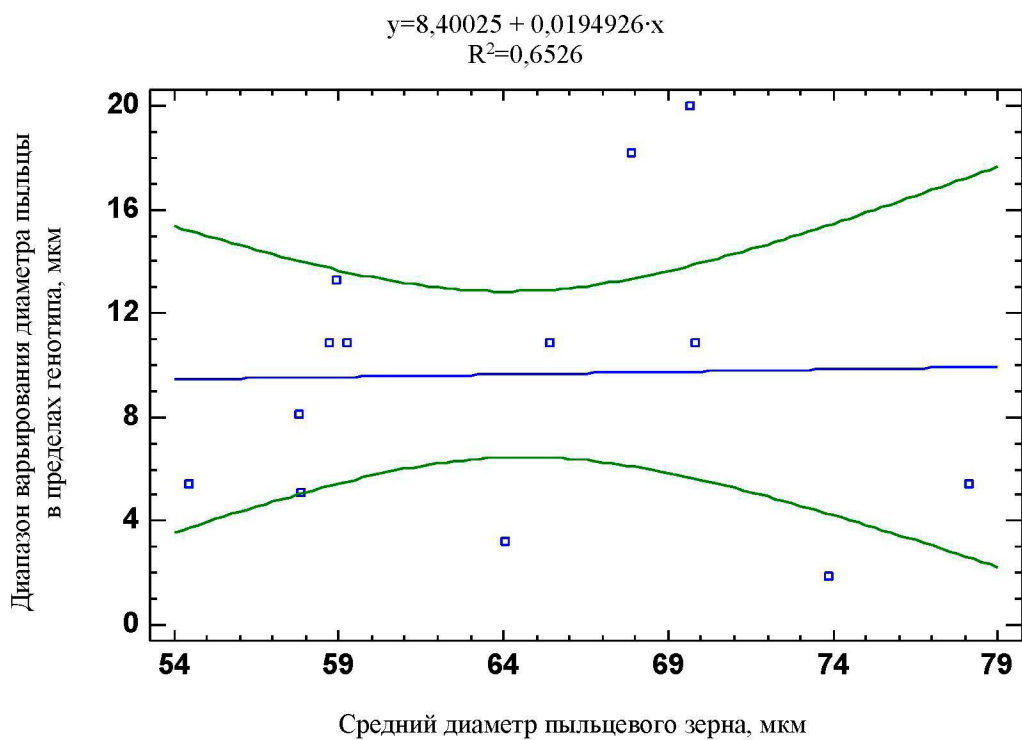
Вследствие статистического анализа морфологии пыльцы исследуемых сортов и гибридов груши определено, что с увеличением диаметра графическое отображение степени изменчивости размерных особенностей наиболее выравнено с отклонением распределения в сторону значений, меньше среднего (рис. 3).

Данные показатели характеризуются слабой по силе взаимосвязи отрицательной корреляцией ($r = -0,25$) с эксцессом и умеренно средней положительной с асимметрией ($r = 0,37$).

Сорта груши Вильямс, Красный Вильямс, Кильчу выражены относительно остроконечными вариационными кривыми с высоким значением менее крупной пыльцы, что косвенно подтверждает нарушения процесса образования пыльцы в пыльниках – более существенные, чем у других сортов.



а



б

Рис. 2. Графический анализ морфологической выполненности пыльцы по параметрам:
а – среднее квадратичное, б – отклонение диапазон изменчивости

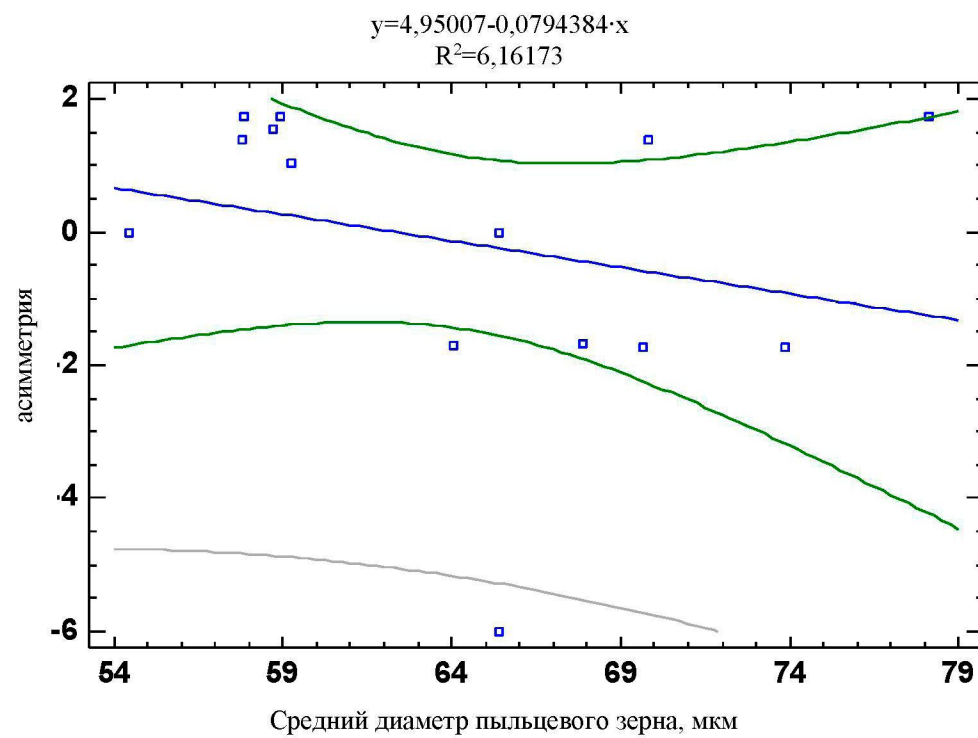
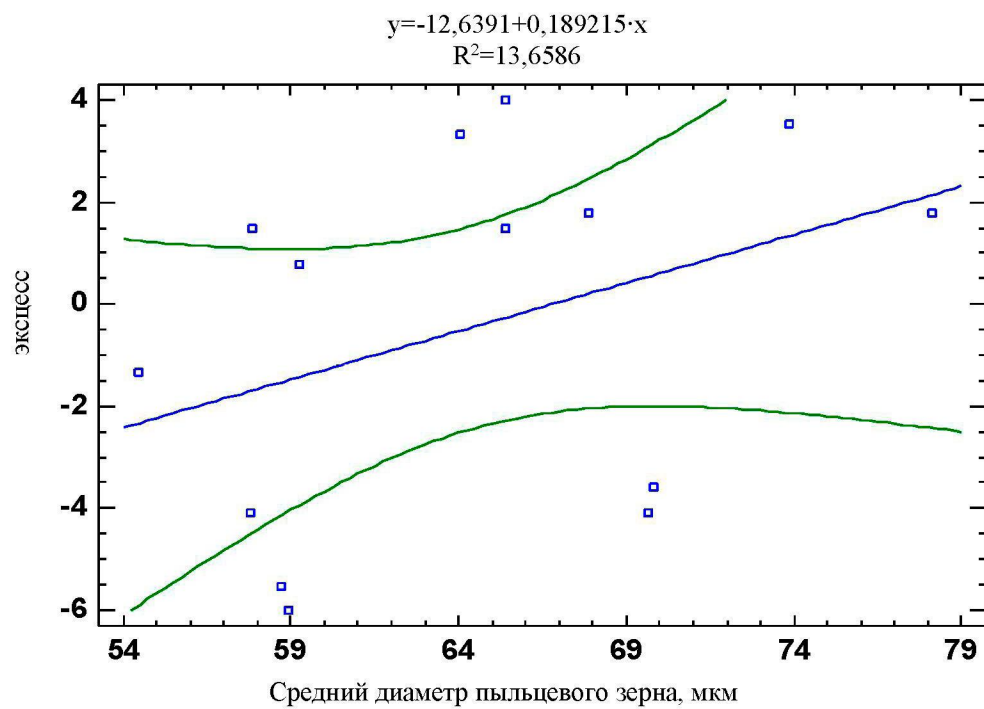
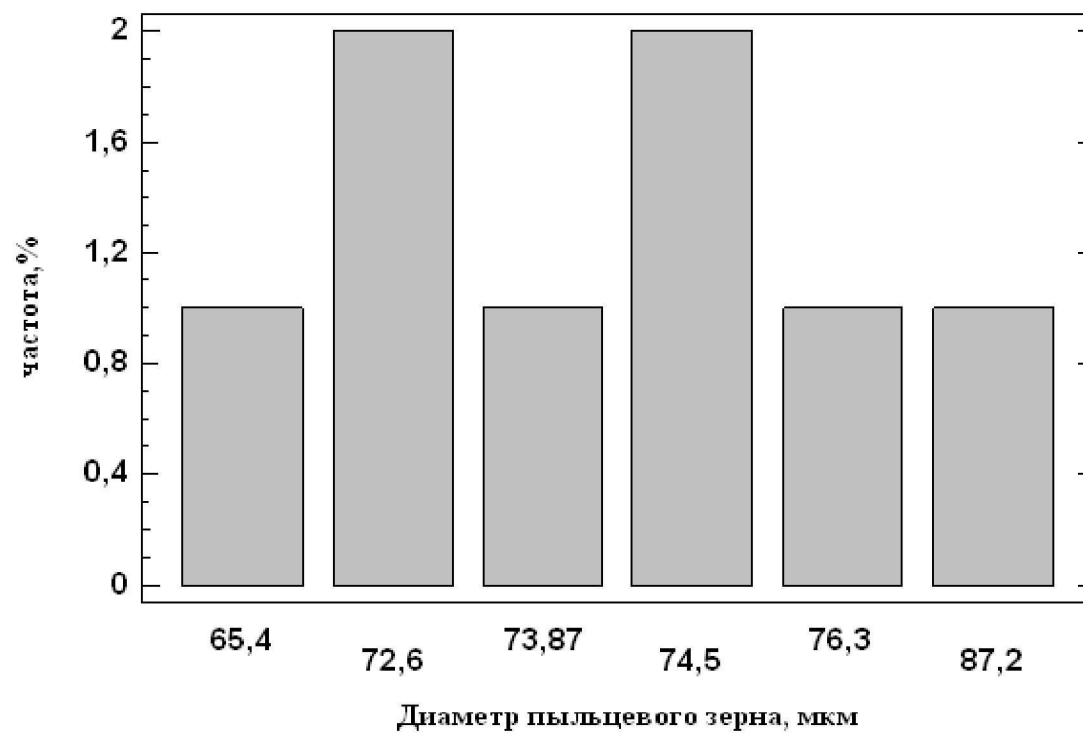
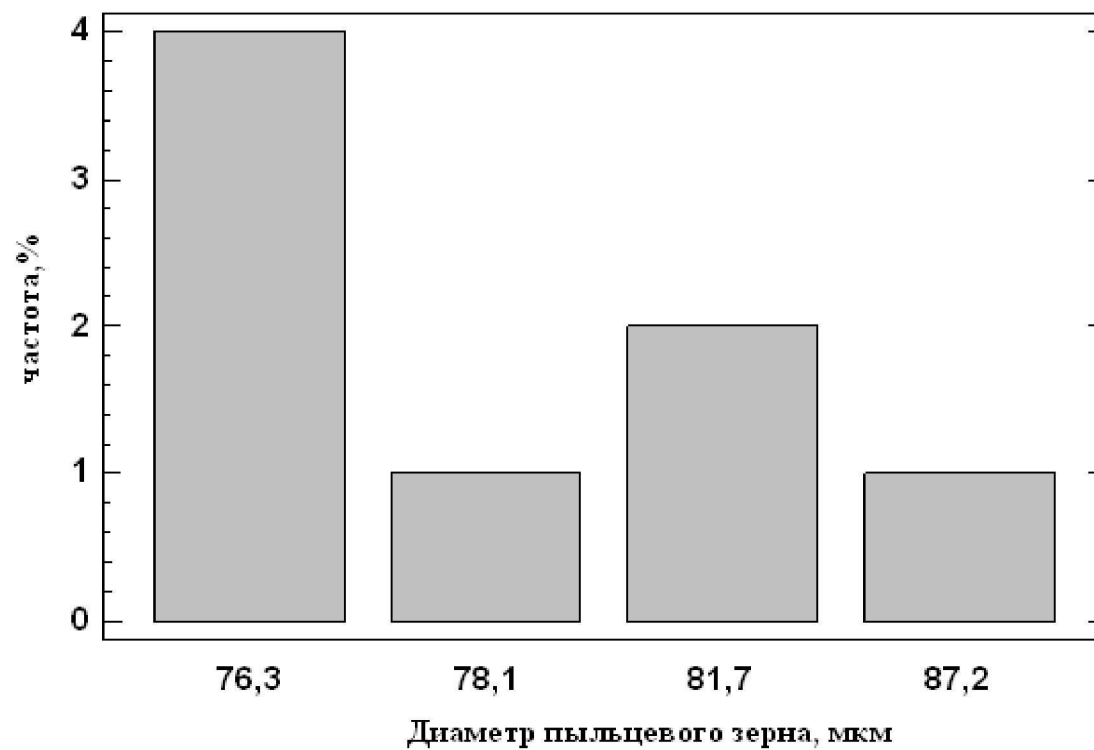


Рис. 3. Связь частоты встречаемости признака со степенью его проявления:
а – острота пика распределения; б – отклонения распределения

'СОЧИНСКАЯ КРУТНОПЛОДНАЯ'



'КИЛЬЧУ'



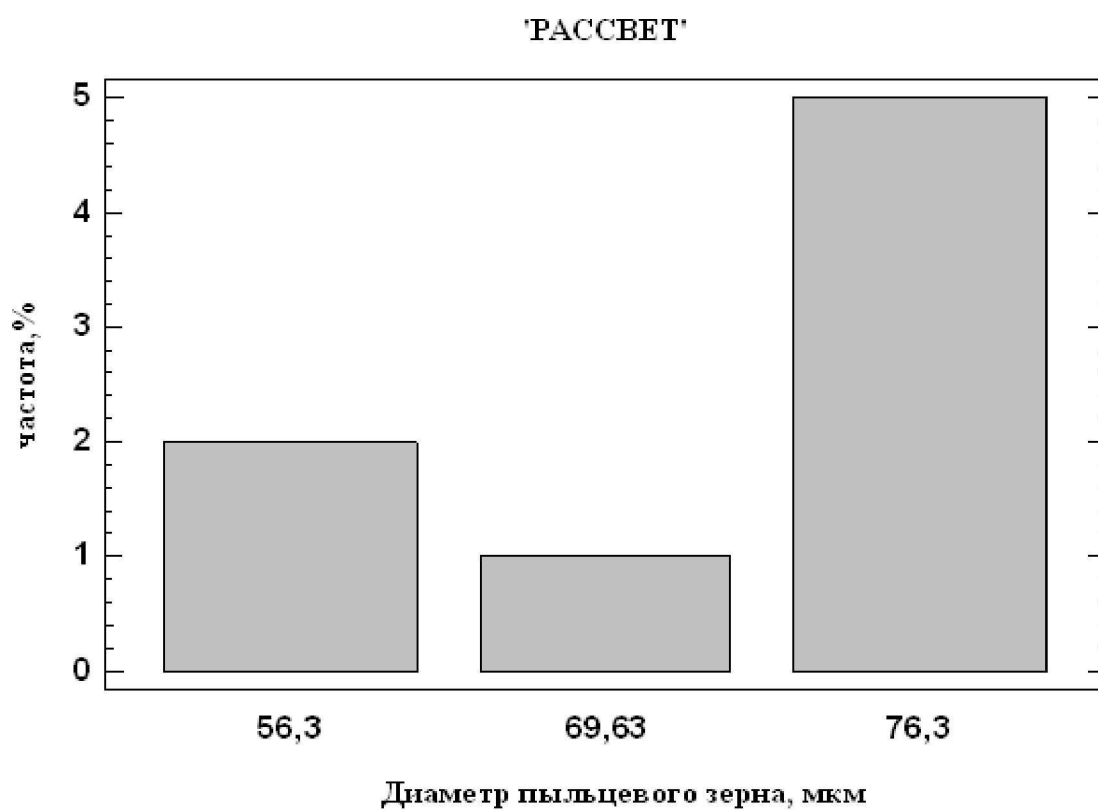
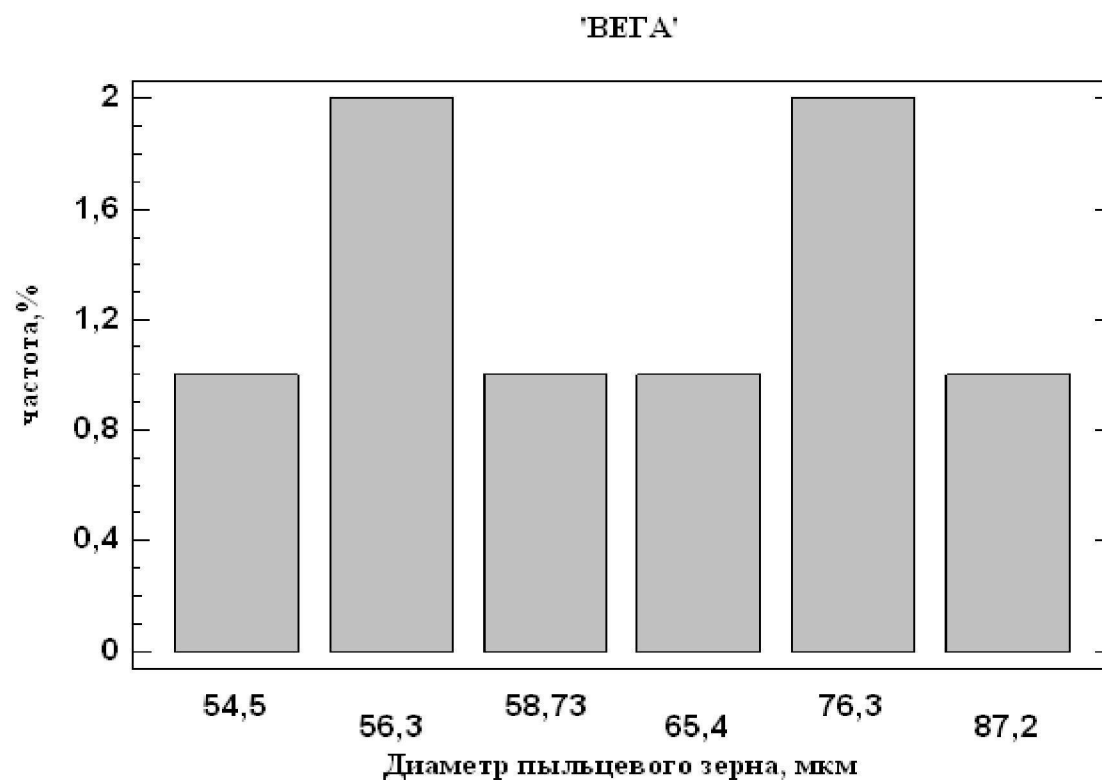


Рис. 4. Частота интервального распределения вариальности размеров пыльцы

Для генотипа результатом отсутствия нарушения мейоза при образовании пыльцы является морфологически гомогенная пыльца, отличающаяся околонулевыми значениями эксцесса и асимметрии размеров ее выборки.

Так, у сорта Бере Боск величина показателей эксцесса и асимметрии положительна и характеризуется околонулевым значением, следовательно, полученный результат свидетельствует о морфологической однородности пыльцы.

На гистограмме частоты признака выборки (рис. 4) по сортам распределение варибельности размеров пыльцы позволяет представить вероятность изменения параметров качества и визуально оценить закон их распределения. Кроме того, данная гистограмма, построенная для наглядного интервального изменения значений измеряемого параметра, дает возможность быстро определить центр, разброс и форму распределения случайной величины.

Так, у сорта Сочинская Крупноплодная ($R = 1,9$; $\sigma = 1,1$) распределение отличается от нормального, асимметрия смещена вправо.

Интервалы с границами 72,6-74,5 мкм составляют по 25,0 %. Сорт Рассвет ($R = 20,0$; $\sigma = 11,5$) характеризуется сильно варьирующим признаком и большим размахом вариации. Форма распределения отличается от нормального, асимметрия смещена влево, что свидетельствует о выпадении вариаций признака за пределы границы допуска. Максимальное значение допуска 76,3 мкм составило 62,50 %.

Результат анализа гистограммы частот подтверждается невысоким урожаем этих сортов (*Pyrus communis* L.), представляющими интерес для селекции в качестве источников крупных плодов с высокими вкусовыми качествами. Сорт Кильчу относится к восточно-азиатской группе (*Pyrus pyrifolia*) с незначительным варьированием признака ($R = 5,4$; $\sigma = 3,12$), распределение отличается от нормального, асимметрия правосторонняя, что может вызываться смещением вариации размерности к нижней границе допуска (81,7 мкм) – 25 %.

Гистограмма перспективного ранне-летнего сорта Вега ($R = 10,9$; $\sigma = 5,84$) отображает два совмещенных бимодальных процесса. При этом наблюдается смещение асимметрии вправо к нижней границы допуска. Нижняя интервальная граница (76,3 мкм) составила 50%, верхняя (81,7 мкм) – 25 %.

Таким образом, анализ зависимости частоты встречаемости размеров пыльцевых зерен от степени их проявления позволяет выявить определенные диагностические признаки в нарушении формирования пыльцы у генотипов груши и может быть рекомендован для предварительного ее исследования при значительном объеме селекционного материала с целью уменьшения затрат времени. При значительном отклонении вариационной кривой, отражающей степень изменчивости размерности, необходимо дальнейшее исследование про-

цессов образования микроспор для выявления причин морфологической разнородности пыльцевых зерен.

Литература:

1. Программа и методика селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур. Орел: ВНИИСПК, 1995. 502 с.
2. Программа и методика сортоизучение плодовых, ягодных и орехоплодных культур / под общ. ред. Е.Н. Седова, Т.П. Огольцовой. Орел: ВНИИСПК, 1999. 608 с.
3. Программа Северо-Кавказского центра по селекции плодовых, ягодных, цветочно-декоративных культур и винограда на период до 2030 года // под общ. ред. Е.А. Егорова. Краснодар, 2013. 202 с.
4. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. 4-е изд. М.: Агропромиздат, 1988. С. 208-215.
5. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М.: Агропромиздат, 1985. 351 с.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия. 4-изд. М.: Высшая школа, 1990. С. 28-30.
7. Киселева Н.С. Результаты селекции груши в зоне влажных субтропиков России // Пути повышения эффективности садоводства. 2017. №144-1. С. 123-127.
8. Киселева Н.С. Раскрытие биологического и адаптивного потенциала различных генотипов груши к внешним факторам среды // Актуальные вопросы плодородства и декоративного садоводства в начале XXI век: материалы международной научно-практической конференции, посвященная 120-летию основания института и 80-летию основания сада-музея «Дерево Дружбы» // Субтропическое и декоративное садоводство: сборник научных трудов. Сочи: ВНИИЦиСК, 2014. С. 102-108.
9. Киселёва Н.С., Кулян Р.В. Морфометрическая оценка пыльцы основных опылителей цитрусовых в селекции *Citrus reticulata* Blanco var. *unshiu* Tan. // Вестник РАСХН. 2016. №3. С. 43-46.
10. Омарова З.М., Киселева Н.С., Кулян Р.В. Морфология, жизнеспособность и фертильность пыльцевых зёрен фейхоа (*Feijoa sellowiana* Berg.) // Вестник Мичуринского государственного аграрного университета. 2017. №2. С. 20-25.11. Brewbaker J.L. Biology of the angiosperm pollen grain // Indian. J. Genet.and Plant Breed. 1959. Vol. 19. P. 121-133.
12. Jenkins P.T. A study on pollination of Packham's Triumph pears // Awstral. J. Exp. Agr. and Anim. Husb. 1972. Vol. 12. No. 56. P. 328-330.
13. Vasilakakis M. Porlings J.C Effect of temperature on pollen germination, pollen tube growth, effective polination period and fruit set of pear // Hort Science. 1985. Vol. 20. No. 4. P. 733-735.
14. Предварительная селекция плодовых культур: монография / Ерёмин Г.В.; под ред. Г.В. Ерёмина. Краснодар: КубГАУ, 2015. С. 21-30.

Literature:

1. The program and method of selection of fruit, berry and nut crops. Orel: VNIISPK, 1995. 502 p.
2. The program and methodology of varietal study of fruit, berry and nut-bearing crops / ed. by E.N. Sedov, T.P. Ogoltsova. Orel: VNIISPK, 1999. 608 p.
3. The program of the North Caucasus Center for the selection of fruit, berry, flower and decorative crops and grapes for the period until 2030 // under the general ed. of E.A. Egorov. Krasnodar, 2013. 202 p.
4. Pausheva Z.P. Workshop on plant cytology. 4th ed. M.: Agropromizdat, 1988. P. 208-215.
5. Dospekhov B.A. Methodology of field experience (with the basics of statistical processing of research results). M.: Agropromizdat, 1985. 351 p.
6. Lakin G.F. Biometrics. 4th ed. M.: Higher School, 1990. P. 28-30.
7. Kiseleva N.S. The results of pear breeding in the zone of wet subtropics of Russia // Ways to improve the efficiency of gardening. 2017. No. 144-1. P. 123-127.
8. Kiseleva N.S. Revealing the biological and adaptive potential of various pear genotypes to external environmental factors // Actual problems of horticulture and ornamental horticulture at the beginning of the XXI century: materials of the International scientific and practical conference dedicated to the 120th anniversary of the foundation of the institute and the 80th anniversary of the foundation of the «Tree of Friendship» garden-museum // Subtropical and ornamental horticulture: a collection of scientific papers. Sochi: VNIITsiSK, 2014. P. 102-108.
9. Kiseleva N.S., Kulyan R.V. Morphometric evaluation of pollen from major citrus pollinators in the selection of Citrus reticulata Blanco var. unshiu Tan. // Bulletin of the RAAS. 2016. No. 3. P. 43-46.
10. Omarova Z.M., Kiseleva N.S., Kulyan R.V. Morphology, viability and fertility of feijoa pollen grains (Feijoa sellowiana Berg.) // Bulletin of the Michurinsk State Agrarian University. 2017. No. 2. P. 20-25.
11. Brewbaker J.L. Biology of the angiosperm pollen grain // Indian. J. Genet. and Plant Breed. 1959. Vol. 19. P. 121-133.
12. Jenkins P.T. A study on pollination of Packham's Triumph pears // Austral. J. Exp. Agr. and Anim. Husb. 1972. Vol. 12. No 56. P. 328-330.
13. Vasilakakis M. Porlings J. C Effect of temperature on pollen germination, pollen tube growth, effective polination period and fruit set of pear // Hort Science. 1985. Vol. 20. No. 4. P. 733-735.
14. Preliminary selection of fruit crops: a monograph / Eremin G.V.; ed. by G.V. Eremin. Krasnodar: KubSAU, 2015. P. 21-30.