

УДК 633.413:631.527.7

## ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ВЫРАЩИВАНИЯ НА СПЕЦИФИКУ УСТЬИЧНОГО АППАРАТА У ДИ-, ТРИ- И ТЕТРАПЛОИДОВ СВЕКЛЫ

ВАВИЛОВ П. П., ФИРСОВ И. П., СОЛОВЬЕВ А. М.  
(Кафедра растениеводства)

Для предварительного определения ploидности применяется ряд косвенных методов, среди которых особое место занимает измерение замыкающих клеток устьиц и подсчет числа хлоропластов в них [1—4]. Этот способ стал популярным после опубликования тщательно выполненной работы японских исследователей Мочизуки и Свеока, отметивших четкие различия между диплоидными и полиплоидными растениями свеклы по числу хлоропластов [9].

В дальнейшем в связи с уточнением методик использования специфики устьичного аппарата у свеклы возможность практического применения этого метода резко расширилась. Исследователи предлагают принять число хлоропластов в замыкающих клетках устьиц в качестве критерия для выделения тетраплоидов и считают его приемлемым показателем ploидности у сахарной свеклы [5, 6, 7, 8]. Однако некоторые авторы указывают на недостаточную надежность этого метода для отбора тетраплоидных форм свеклы [10].

Целью наших исследований явилось изучение влияния условий выращивания на специфику устьичного аппарата у растений свеклы первого года жизни различных групп ploидности.

### Место, материал и методика опытов

Исследования проводились в 1971—1972 гг. на экспериментальной базе учхоза имени М. И. Калинина Тимирязевской академии в Мичуринском районе Тамбовской области. Использовались ди-, три- и тетраплоидные формы сахарной свеклы Верхнячская 038 (ВО38 2п, ВО38 4п × ВО38 2п, ВО38 4п).

Поскольку в оба года были получены очень сходные результаты, то мы сочли возможным привести в таблицах средние данные.

При изучении устьичного аппарата у семядольных и настоящих листьев свеклы высечки площадью 0,5 м<sup>2</sup> фиксировали в 96% этиловом спирте до полного обесцвечивания тканей. Затем пробы красили 5% водным раствором I в KI в течение 3—5 мин и просматривали их под микроскопом при рабочем увеличении ×600. При этом хлоропласты окрашивались в черный цвет, полностью сохранялись и были хорошо видны на оранжевом фоне. Размеры устьиц измеряли с помощью окулярмикронметра АМ-9-2. Число хлоропластов и величину устьичных клеток при различных условиях выращивания определяли в трех полях зрения микроскопа в 10-кратной повторности; полученные данные обрабатывали дисперсионным методом.

### Результаты исследований и их обсуждение

Для изучения влияния различных режимов влагообеспеченности на размеры устьиц и количество хлоропластов семена высевали в деревянные ящики без дна размером 180×120×70 см<sup>3</sup>, врытые в землю. Во избежание попадания атмосферных осадков над ними укрепляли каркас

из полиэтиленовой пленки. В одном ящике влажность почвы поддерживали на уровне 65—70% от полной полевой влагоемкости (условно — полив), в другом она равнялась 35—40% (засуха).

В условиях недостаточного и обильного водоснабжения размеры замыкающих клеток устьиц семядольных листочков свеклы по мере роста и развития растений (от стадии вилочки до 3-й пары настоящих листьев) увеличивались одинаково (табл. 1).

У тетраплоидных форм за один и тот же промежуток времени длина устьиц увеличивалась больше, чем у диплоидов и триплоидов. Наиболее постоянным показателем была ширина устьичного аппарата; практиче-

Т а б л и ц а 1

Характеристика устьичного аппарата семядольных листочков при различной влагообеспеченности

Фаза развития растений в момент взятия проб	Полив			Засуха		
	размеры устьичных клеток, мкм		количество хлоропластов, шт.	размеры устьичных клеток, мкм		количество хлоропластов, шт.
	длина	ширина		длина	ширина	
ВО38 2п						
Вилочка	29,4	24,3	13,6	29,1	24,0	12,7
Настоящие листья:						
1-я пара	31,8	25,1	13,4	31,2	23,9	12,9
2-я »	33,2	24,5	13,1	33,7	24,6	13,1
3-я »	34,1	24,8	13,3	34,2	24,9	12,3
ВО38 4п × ВО38 2п						
Вилочка	34,0	24,9	17,2	34,2	26,4	17,2
Настоящие листья:						
1-я пара	43,8	27,1	16,5	44,0	24,7	17,2
2-я »	48,7	28,1	17,1	50,5	28,3	17,1
3-я »	50,1	28,0	17,0	50,2	29,4	17,1
ВО38 4п						
Вилочка	37,8	25,6	23,0	37,5	24,8	22,8
Настоящие листья:						
1-я пара	48,7	30,6	22,5	47,7	30,9	22,3
2-я »	55,0	30,8	23,1	53,6	30,0	23,2
3-я »	54,0	30,1	23,2	53,3	30,0	22,9
НСР <sub>05</sub>	1,21	1,15	0,73	1,42	1,26	0,88

ски не отмечено возрастание ее у диплоидных форм. У тетраплоидов устьичные клетки семядольных листочков в фазу 3-й пары настоящих листьев при поливе были на 19,9 мкм длиннее, чем у диплоидов, на 3,9 мкм длиннее, чем у триплоидов, и соответственно на 5,3 и 2,1 мкм шире. Аналогичные результаты получены в условиях засухи.

Таким образом, тетраплоидные формы значительно превосходят триплоидные по длине устьиц, чем по ширине. При этом необходимо подчеркнуть, что наиболее интенсивно растут устьичные клетки семядольных листочков в период вилочка— 2-я пара настоящих листьев. В фазу 2—3-й пар размеры их практически уже не увеличиваются. Из табл. 1 видно, что размер устьичных клеток семядольных листочков у растений при поливе и в условиях засухи идентичны, поэтому данный показатель можно с успехом использовать при предварительном отборе растений на плоидность.

Коэффициент вариации длины и ширины устьиц находился в пределах 2,2—17,9%, однако для большинства устьиц он составил 5—8%, что свидетельствует о возможности отбора полиплоидных форм по данному признаку.

Мы не рассматриваем такой показатель, как количество устьиц в поле зрения микроскопа, хотя данные о нем нами получены при рабочем увеличении микроскопа  $\times 600$ . Объясняется это тем, что при статистической обработке результатов вследствие малого количества устьиц в поле зрения микроскопа получена значительная величина коэффициента вариации (до 60%), что явно не соответствует действительной. В опытах такого плана рабочим увеличением микроскопа должно быть  $\times 120$ .

Число хлоропластов при выращивании растений в условиях разной влагообеспеченности мало изменялось по фазам развития и составило у диплоидов 12,3—13,6, у тетраплоидов— 22,3—23,2 и у триплоидов — 16,5—17,2 шт.

Из приведенных выше данных видно, что небольшие различия в динамике нарастания длины и ширины устьичного аппарата семядольных листочков между ди-, три- и тетраплоидными формами в первый период

Т а б л и ц а 2

Характеристика устьичного аппарата семядольных листочков  
в зависимости от величины соплодий

Фаза развития растений в момент взятия проб	Фракция 3 мм			Фракция 7 мм		
	размеры устьичных клеток, мкм		количество хлоропластов, шт.	размеры устьичных клеток, мкм		количество хлоропластов, шт.
	длина	ширина		длина	ширина	
ВО38 2п						
Вилочка	28,9	23,2	13,0	29,4	22,9	13,1
Настоящие листья:						
1-я пара	33,3	24,9	13,3	33,1	26,3	13,0
2-я »	33,6	24,9	13,5	33,6	25,5	13,8
3-я »	35,9	27,2	13,3	37,2	26,7	13,1
ВО38 4п $\times$ ВО38 2п						
Вилочка	32,3	24,6	17,3	32,7	24,8	17,3
Настоящие листья:						
1-я пара	44,6	25,7	17,3	45,2	26,1	17,0
2-я »	51,4	31,6	17,5	50,2	30,6	17,2
3-я »	51,0	27,3	17,3	50,3	29,5	17,2
ВО38 4п						
Вилочка	38,9	25,4	22,5	38,1	26,1	22,8
Настоящие листья:						
1-я пара	48,9	30,9	22,9	48,5	30,6	23,2
2-я »	53,4	29,2	23,2	54,9	29,5	23,2
3-я »	52,6	30,1	23,1	54,0	30,3	23,3
НСР <sub>0,5</sub>	1,33	1,48	0,64	1,28	1,32	0,60

роста в дальнейшем усиливались и становились более четкими. В нашем опыте засуха не оказывала существенного влияния на формирование устьичного аппарата семядольных листочков свеклы на протяжении всей вегетации (вплоть до их полного отмирания).

Количество высеваемых семян свеклы на 1 га обычно значительно выше количества растений, остающихся после прорывки и проверки. Вследствие этого в течение короткого промежутка времени густота насаждения резко изменяется. В связи с этим представляет интерес изучение влияния густоты насаждения на развитие устьичного аппарата. Для изучения данного вопроса соплодия свеклы высевали с расстояниями между ними в рядке 2—3 см (загущенно) и сравнивали параметры устьичного аппарата при такой посадке и при размещении растений в рядке на расстоянии 18—20 см (разреженно).

Густота стояния растений в первый период развития свеклы не оказывала существенного влияния на величину устьичных клеток, и следовательно, отбор тетраплоидов можно проводить при любой плотности посевов.

Клубочки свеклы значительно различаются по величине, а поэтому необходимо знать, какова взаимосвязь фракционного состава соплодий с величиной устьичного аппарата и количеством хлоропластов в замыкающих клетках устьиц. При анализе данных табл. 2 можно видеть, что

Т а б л и ц а 3

Характеристика устьичного аппарата семядольных листочков свеклы на разных агрофонах

Фаза развития растений в момент взятия проб	Низкий агрофон			Высокий агрофон		
	размеры устьичных клеток, мкм		количество хлоропластов, шт.	размеры устьичных клеток, мкм		количество хлоропластов, шт.
	длина	ширина		длина	ширина	
ВО38 2п						
Вилочка	29,7	22,1	13,5	29,3	21,9	13,1
Настоящие листья:						
1-я пара	33,0	26,0	13,1	33,0	26,9	13,1
2-я »	33,7	24,8	13,2	34,6	26,0	13,4
3-я »	34,5	26,8	12,8	34,6	25,8	13,5
ВО38 4п × ВО38 2п						
Вилочка	32,3	24,8	16,9	32,3	24,7	16,7
Настоящие листья:						
1-я пара	44,8	26,6	17,3	44,1	26,5	17,1
2-я »	49,5	30,9	17,2	49,5	30,2	17,4
3-я »	49,1	29,1	16,2	49,5	29,5	16,9
ВО38 4п						
Вилочка	38,8	26,5	22,7	39,0	27,8	22,4
Настоящие листья:						
1-я пара	50,3	30,4	23,2	48,6	30,9	22,7
2-я »	53,4	29,8	23,4	54,6	30,1	23,4
3-я »	54,2	29,3	22,8	53,9	30,7	22,8
НСР <sub>05</sub>	1,68	1,33	0,63	1,44	1,16	0,65

размеры устьичного аппарата у семядольных листочков не зависели от величины клубочков, что дает возможность при отборе тетраплоидов использовать соплодия различных диаметров.

Свекла возделывается на почвах самых разнообразных как по механическому составу, так и по запасу питательных элементов. В связи с этим мы изучали устьичный аппарат у ди-, три- и тетраплоидов свеклы, выращенных на различных по плодородию почвах. Опыт закладывали на двух отдельных площадках: с хорошо удобренной почвой и с почвой, отличающейся низким уровнем плодородия, вследствие того, что в пахотный слой был внесен речной песок (соотношение почвы и песка 1:1). В последнем случае, естественно, влага испарялась быстрее, поэтому здесь проводили, по мере необходимости, обильный полив, чтобы исключить влияние засухи на устьичный аппарат свеклы.

Исследования показали, что у семядольных листочков растений всех групп плоидности с фазы вилочки до 3-й пары настоящих листьев длина, ширина и количество хлоропластов в замыкающих клетках устьиц оставались неизменными как на низком, так и на высоком агрофоне (табл. 3). Это позволяет заключить, что запас пищи в почве не влияет на устьичные клетки семядольных листочков свеклы одинакового возраста.

Таким образом у семядольных листочков ди-, три- и тетраплоидов свеклы размеры устьиц и количество хлоропластов в них являются величиной постоянной и не зависят от условий выращивания растений. Это дает основание использовать специфику устьичного аппарата однолетних семядольных листочков как вполне приемлемый косвенный признак для предварительного прогнозирования плоидности растений.

Необходимо, однако, отметить, что даже при благоприятных условиях семядольные листочки у свеклы функционируют только до появления 8-го листа, поэтому при определении плоидности экспериментатору довольно часто приходится прибегать к анализу настоящих листьев.

Т а б л и ц а 4

Характеристика устьичных клеток первой пары настоящих листьев в зависимости от условий выращивания

Факторы влияния	В038 2п			В038 4п×В038 2п			В038 4п		
	размеры устьичных клеток, мкм		количество хлоропластов, шт.	размеры устьичных клеток, мкм		количество хлоропластов, шт.	размеры устьичных клеток, мкм		количество хлоропластов, шт.
	длина	ширина		длина	ширина		длина	ширина	
Режим влагообеспеченности:									
засуха	29,3	21,2	13,3	31,6	21,7	17,2	35,3	23,9	22,2
полив	34,3	23,1	13,2	37,9	22,6	17,2	43,8	24,3	23,2
Густота стояния:									
загущенная	30,7	23,5	13,5	39,0	24,1	16,9	48,8	26,6	22,9
разреженная	30,9	24,3	13,4	40,2	24,0	17,4	49,4	26,1	23,3
Фракция высеянных со- плодий, мм:									
3	34,9	22,5	13,3	39,4	22,4	17,3	48,5	25,2	23,4
7	34,6	22,2	13,2	39,1	22,5	17,1	47,3	27,0	22,9
Агрофон:									
низкий	26,9	23,3	13,2	36,4	23,9	17,0	45,0	26,6	22,6
высокий	31,0	24,4	13,1	38,6	25,8	16,9	48,4	27,5	22,5
Срок посева:									
весенний	30,5	22,4	13,5	37,8	22,5	17,3	44,3	24,4	23,2
летний	30,0	22,3	13,5	38,0	22,9	17,4	44,6	24,8	23,3

В наших исследованиях предпринята попытка проследить, как влияют условия выращивания на устьичный аппарат 1-й пары настоящих листьев (табл. 4).

При недостаточном увлажнении значительно уменьшается величина устьичных клеток 1-й пары настоящих листьев: у диплоидных форм длина — на 5,0 мкм, у тетраплоидных — на 8,5, у триплоидных — на 6,3 мкм; ширина устьиц — соответственно на 1,9; 0,4 и 0,9 мкм. Тетраплоидные растения превосходили диплоиды по длине устьиц при поливе на 9,5 мкм, при засухе — на 6,0 мкм; различия между ними по ширине были еще меньше — соответственно 1,2 и 2,7 мкм. Следовательно, использовать параметры устьиц для выделения даже диплоидов, особенно при выращивании растений в условиях недостаточной влагообеспеченности, довольно трудно.

В нашем опыте недостаток воды в почве оказывал наибольшее отрицательное влияние на тетраплоидный организм. При дефиците влаги у растений создавались мелкоклеточные структуры, что, безусловно, свидетельствует о необходимости крайне осторожно использовать размеры устьичного аппарата при оценке плоидности взрослых растений. Наиболее постоянной величиной у устьиц 1-й пары настоящих листьев было количество хлоропластов в замыкающих клетках, оно не зависело от ре-

жимов влагообеспеченности и составляло у диплоидов 13,2—13,3, у триплоидов — 17,2 и у тетраплоидов — 22,2—23,2 шт.

При различных режимах влагообеспеченности изучались и устьичные клетки 2-й пары настоящих листьев. Одновременно в этих вариантах устанавливалась точность определения плоидности растений по специфике устьичного аппарата в зависимости от места взятия пробы (край и середина листа). Длина и ширина устьиц, а также количество хлоро-

Т а б л и ц а 5

Характеристика устьичного аппарата молодых и развитых настоящих листьев (фаза 8 — 10 листьев)

Возраст листьев	Полив			Засуха		
	размеры устьичных клеток, мкм		количество хлоропластов, шт.	размеры устьичных клеток, мкм		количество хлоропластов, шт.
	длина	ширина		длина	ширина	
	ВО38 2п					
Молодые	19,8	18,3	13,4	17,2	16,9	13,4
Развитые	32,1	20,7	13,4	27,5	20,1	13,7
	ВО38 4п × ВО38 2п					
Молодые	28,3	21,0	17,2	24,8	20,4	17,4
Развитые	36,8	21,8	17,2	32,6	20,8	17,3
	ВО38 4п					
Молодые	33,7	21,5	23,1	27,2	20,4	23,0
Развитые	40,5	22,8	23,0	32,2	21,3	23,2
НСП <sub>05</sub>	1,29	1,17	0,50	1,28	1,08	0,40

пластов в разных частях листа оказались равными, что свидетельствует о возможности взятия пробы для анализа из любого участка листа. Размеры устьичных клеток 1-й и 2-й пар настоящих листьев в идентичных условиях были одинаковыми.

Кроме острого дефицита влаги, на устьичные клетки 1-й пары настоящих листьев существенно влияет плодородие почвы. При недостатке минерального питания растений уменьшаются размеры устьиц, причем длина в большей степени, чем ширина.

Другие факторы (нормы и сроки посева, а также фракционный состав соплодий) в нашем опыте не оказывали заметного действия на устьичный аппарат первой пары настоящих листьев.

Параметры молодых и развитых тканей мезофилла устьичных клеток при различных режимах влагообеспеченности (табл. 5) были почти одинаковыми. Например, длину замыкающих клеток устьиц в пределах 32,1 мкм имели развитые диплоидные листья при поливе, а также развитые триплоидные и тетраплоидные листья при засухе (32,2—32,6 мкм). Еще меньше были различия по ширине устьиц.

Достоверные различия между молодыми и развитыми листьями по параметрам устьичных клеток указывают, что сравнивать можно только одновозрастные листья и только тех растений, которые выращены в одинаковых условиях водного и пищевого режимов.

### Выводы

1. У семядольных листочков ди-, три- и тетраплоидной свеклы размеры устьиц и количество хлоропластов в них являются стабильными признаками и не зависят от условий выращивания растений, что дает основание использовать специфику устьичного аппарата одновозрастных

семядольных листочков для предварительного прогнозирования плоидности.

2. На размеры устьичного аппарата 1-й пары настоящих листьев существенное влияние оказывают водный и пищевой режимы почвы, поэтому при определении плоидности следует использовать растения, выращенные в одинаковых условиях.

3. В наших опытах количество хлоропластов в замыкающих клетках устьиц у семядольных и настоящих листьев было величиной постоянной и не зависело от внешних воздействий среды. Данный показатель является наиболее надежным критерием для предварительного определения плоидности растений у свеклы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Балышев Л. Н., Фирсов И. П. Использование некоторых косвенных признаков при отборе на полиплоидность у свеклы. «Докл. ТСХА», 1964, вып. 98, ч. II, с. 307—309. — 2. Бережко С. Т. Возможности отбора тетраплоидных растений в  $C_0$  по анатомо-морфологическим признакам у односемянной сахарной свеклы. Сб. научн. работ. Белоцерк. опытно-селекционная станция, 1962, вып. 2, с. 75—81. — 3. Климахин Г. И., Фирсов И. П. Характеристика устьичного аппарата, ди-, три-, тетраплоидных форм свеклы. «Докл. ТСХА», 1968, вып. 136, с. 55—59. — 4. Фирсов И. П. Использование поли-

плоидии и цитоплазматической мужской стерильности в селекции свеклы. Автореф. докт. дис. М., 1974. — 5. Butterfass Th. "Zuchter", 1958, Bd 28, N 7, S. 309—314. — 6. Butterfass Th. "Pflanzen Zuchter", 1961, Bd 31, N 2, S. 62—71. — 7. Duldey W. "Agron. J.", 1958, vol. 50, N 3, p. 169—170. — 8. Graf A. "Ein Diskussionsbeitrag. Zucker", 1955, Bd 12, N 15, S. 344—349. — 9. Mochizuki A., Sueoka N. "Cytologia" (Tokyo), 1955, N 20, p. 358—366. — 10. Rank G. H., Evans L. E. "J. Am. Soc. Sug. Beet. Technol", 1966, vol. 13, N 8, p. 687—697.

*Статья поступила 10 октября 1977 г.*

#### SUMMARY

The effect of moisture conditions, rates and time of sowing, soil fertility and the size of collective fruit on stoma apparatus in cotyledonous and true leaves of di-, tri- and tetraploids of Verkhnyachskaja 038 variety of sugar beet was studied.

In cotyledonous small leaves the size of stomata and the number of chloroplasts in them do not depend on the conditions of plant growing, which allows to use the specificity of stomatal apparatus of cotyledonous small leaves of the same age for forecasting the ploidy. The size of stomatal apparatus of the first pair of true leaves is significantly influenced by the moisture and nutritive regimes, that is why in determining the ploidy one should use only those plants which were grown under the same conditions. It has been shown that the number of chloroplasts in the guard cells of the stomata in cotyledonous and true leaves is a constant value and does not depend on the environmental conditions. This is the most reliable criterion for preliminary determining the plant ploidy in beets.