

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕРТИЛЬНОСТИ ПЫЛЬЦЕВЫХ ЗЕРЕН

Пыльца, цветень – скопление пыльцевых зерен семенных растений. Пыльцевое зерно представляет собой мужской гаметофит, развивающийся в микроспорангии из микроспоры и выполняющий функцию опыления, т. е. оплодотворения женского гаметофита, находящегося в семязачатке. Пыльца развивается в пыльниках тычинок и может иметь различную форму (рис. 1).

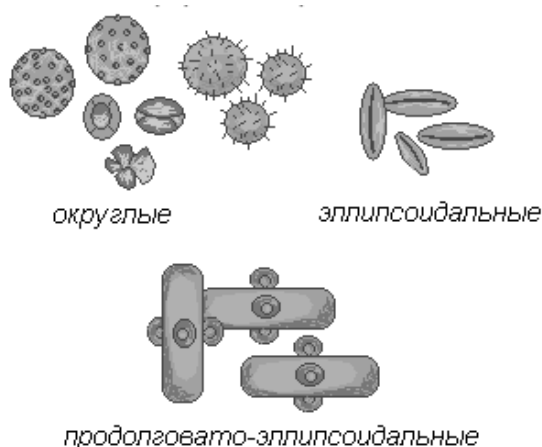


Рис. 1. Форма пыльцевых зерен

Нормально развитая пыльца имеет все необходимые компоненты (рис. 2).

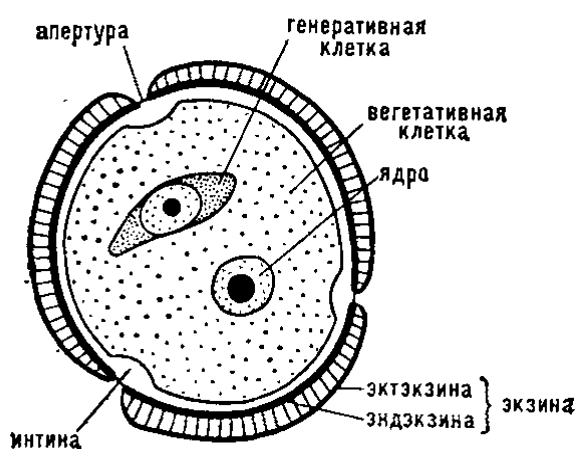


Рис. 2. Строение пыльцы

Фертильной пыльцой считается такая пыльца, которая способна к оплодотворению, т. е. имеет мужские гаметы (спермии). Стерильная пыльца не имеет спермиев и не способна оплодотворить семязпочку.

Поэтому фертильность – это оплодотворяющая способность пыльцы или зиготический потенциал пыльцевого зерна, способного вызвать полное оплодотворение. Для определения фертильности пыльцы используют два метода: ацетокарминовый и йодный.

Материалы и оборудование: зрелые пыльники различных культур, фиксированные соцветия со зрелой пыльцой; ацетокармин, йодный раствор, 45 % уксусная кислота; микроскоп, предметные и покровные стекла, препаровальная игла, фильтровальная бумага.

Задание 1. Определить фертильность пыльцы различных культур ацетокарминовым методом.

1. Пыльники со зрелой пылью фиксировать от 30 минут до нескольких часов в упрощенном фиксаторе Карнуа (3:1), промыть и хранить в 80 % спирте.

2. Из спирта пыльник перенести на предметное стекло и раздавить в капле ацетокармина. Убрав лишние ткани, препарат накрыть покровным стеклом и осторожно подогреть на спиртовке.

3. Рассмотреть под микроскопом и подсчитать количество фертильных и стерильных пыльцевых зерен. У фертильных пыльцевых зерен зернистая цитопlasма и спермии окрашены в густой карминово-красный цвет. Стерильные пыльцевые зерна почти не окрашиваются кармином или окрашиваются неравномерно. Их содержимое часто отходит от оболочки и находится на разных этапах гибели. Спермиев в таких пыльцевых зернах нет (рис. 3).

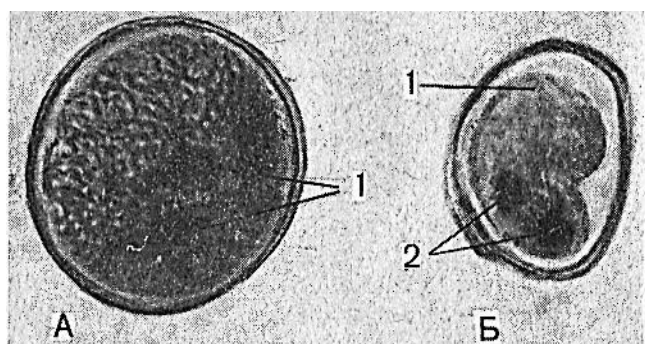


Рис. 3. Пыльцевые зерна пшеницы после окраски ацетокармином:

А – фертильная пыльца (*1* – спермии); *Б* – стерильная пыльца (*1* – содержимое отошло от оболочки, *2* – погибшие вегетативное и генеративное ядра)

Указанные различия между фертильными и стерильными пыльцевыми зернами легко установить, если пыльца имеет тонкую экзину. Толстая экзина маскирует содержимое пыльцы. У многих видов растений спермии образуются не в пыльце, а в пыльцевых трубках во время их прорастания в столбике, и судить о фертильности приходится по относительному окрашиванию их содержимого. Кроме того, необходимо учитывать степень развития пыльцы. Так, например, в колосе пшеницы в одних цветках пыльцевые зерна несут спермии, а в других – незрелые пыльцевые зерна с одним-двумя ядрами. У отдаленных гибридов выделяют пять типов пыльцевых зерен: 1 – нормальные с одним ядром и двумя эллиптическими ядрами спермиев; 2 – почти нормальные с одним ядром и двумя эллиптическими ядрами спермиев; 3 – двухъядерные; 4 – одноядерные; 5 – abortивные или стерильные. Это еще больше усложняет анализ на определение фертильности, так как только первый тип обладает способностью к функционированию.

4. Результаты исследования пыльцевых зерен занести в табл. 1.

Таблица 1. Определение фертильности и стерильности пыльцы различными методами

Объект исследования	Номер поля зрения	Число пыльцевых зерен	
		фертильных	стерильных
Ацетокарминовый метод			
Йодный метод			

Задание 2. Определить фертильность пыльцы различных культур йодным методом.

В основе йодного метода лежит определение крахмала с помощью йодной реакции. Фертильные и стерильные пыльцевые зерна отличаются по содержанию крахмала: обычно фертильное пыльцевое зерно полностью заполнено крахмалом, а стерильное не имеет его совсем или содержит следы (рис. 4).

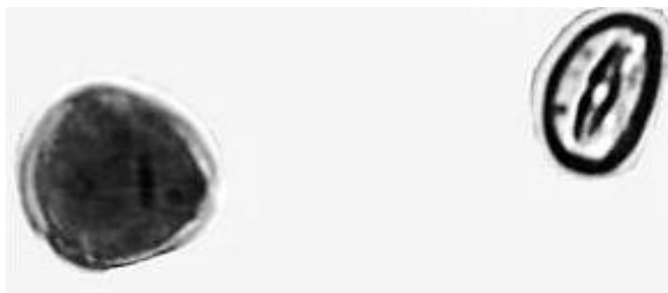


Рис. 22. Фертильные и стерильные пыльцевые зерна после окраски йодным методом (люцерна посевная)

1. Реактив приготовить следующим образом: в 5 мл дистиллированной воды растворить 2 г йодистого калия при нагревании, а затем добавить 1 г чистого йода и долить дистиллированной водой до 300 мл.

2. Зрелые пыльники вскрыть двумя иглами на предметном стекле, смочить йодным раствором и, удалив лишние ткани, накрыть покровным стеклом.

3. Под микроскопом рассмотреть их и определить фертильные пыльцевые зерна по темно-фиолетовому (почти черному) цвету, а стерильные – по отсутствию окраски (нет реакции с йодом, так как эти зерна не содержат крахмала или имеют следы его). Неокрашенными оказываются и оболочки пыльцевых зерен.

4. Подсчитать количество фертильных и стерильных пыльцевых зерен.