

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ПЫЛЬЦЫ

Жизнеспособность пыльцы – это свойство пыльцевых зерен сохранять способность к прорастанию.

Известно несколько методов определения жизнеспособности пыльцы в лабораторных условиях. Пыльцу либо проращивают на искусственной среде во влажной камере, либо определяют наличие в ней ферментов, связанных с жизненными процессами. Рассмотрим некоторые из них.

Определение жизнеспособности пыльцы методом П. И. Дякону.

О жизнеспособности пыльцы судят по наличию активных дыхательных ферментов дегидрогеназ, в присутствии которых бесцветный раствор 2,3,5-трифенилтетразола хлористого восстанавливается в фор-мазан ярко-красного цвета. Погибшие пыльцевые зерна остаются бесцветными. Необходимы следующие препараты:

- 1) $1/15$ М раствор $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$;
- 2) $1/15$ М раствор KH_2PO_4 ;
- 3) фосфатный буфер Сёренсена (рН 7,17); для его получения соединяют 70 мл $1/15$ М раствора $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и 30 мл $1/15$ М раствора KH_2PO_4 ;
- 4) 0,5–0,1 % раствор 2,3,5-трифенилтетразола хлористого в $1/15$ М фосфатном буфере Сёренсена с рН 7,17 (в качестве буфера используют раствор 3).

Пыльцу поместить в 1–2 капли 0,5–0,1 % раствора 2,3,5-три-фенилтетразола хлористого в $1/15$ М фосфатного буфера Сёренсена с рН 7,17, накрыть покровным стеклом и поставить в термостат при температуре 37 °С на 20–30 мин. Под микроскопом просмотереть пять полей зрения в каждом из 3–5 препаратов. Окрашенные в красный цвет пыльцевые зерна отнести к жизнеспособным.

Метод дает четкие результаты при работе с многими сельскохозяйственными культурами.

Определение жизнеспособности пыльцы методом В. С. Шардакова основано на выявлении фермента пероксидазы в жизнеспособных пыльцевых зернах. В данном случае в присутствии бензидина живая пыльца (содержащая пероксидазу) окрашивается в ярко-розовый или темно-красный цвет. Погибшая пыльца не окрашивается. Недостаток данного метода заключается в том, что он дает завышенные результаты при исследовании хранившейся пыльцы.

Проращивание пыльцы в камере Ван-Тигема основано на прорастании жизнеспособной пыльцы на питательной среде во влажной камере. Камера Ван-Тигема состоит из кольца длиной 5–7 мм, диаметром 10–12 мм. Кольцо с отшлифованными краями приклеивают парафином в центр предметного стекла. Верхний край смазывают вазелином, а внутрь него на дно наносят каплю воды. Сверху кольцо закрывают покровным стеклом, в центре которого помещена капля питательной среды с пыльцой (рис. 1).

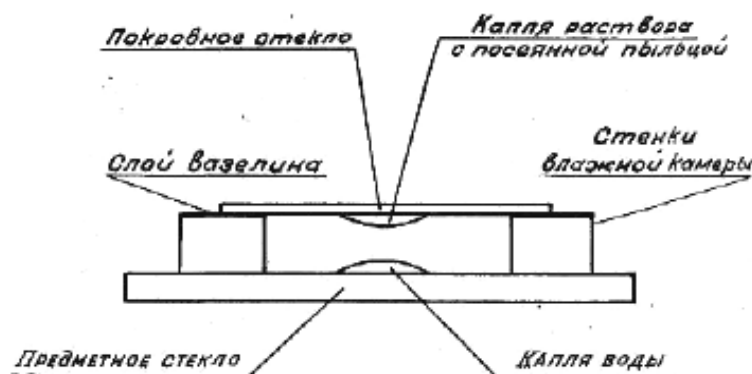


Рис. 1. Камера Ван-Тигема для проращивания пыльцы

Определение жизнеспособности пыльцы методом Д. А. Транковского. Для определения жизнеспособности пыльцы широко применяют метод проращивания ее в искусственной среде, разработанный в 1929 г. профессором С. А. Транковским.

Пыльцу проращивают в 1% растворе агар-агара с добавлением 10–15% раствора сахарозы при комнатной температуре (20–25 °С). В этой среде хорошо прорастает пыльца гороха, вики, бобов, картофеля, томатов, лука, конопли, яблони и других культур (рис. 2).

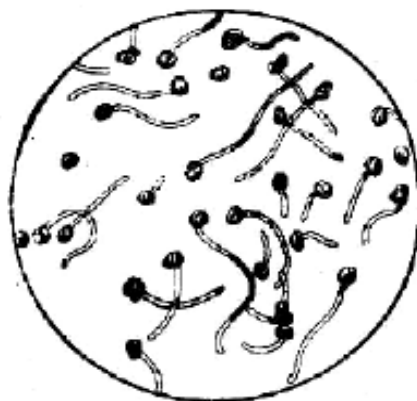


Рис. 2. Проросшая пыльца яблони

Материалы и оборудование: цветущие растения; сахароагаровый раствор, дистиллированная вода; микроскоп, предметные и покровные стекла, чашки Петри, фильтровальная бумага, препаровальная игла.

Задание 1. Познакомиться с методикой приготовления раствора агар-агара с сахарозой.

Для приготовления 1% агар-агара с сахарозой мелко нарезают сухой агар-агар, отвешивают 1 г, высыпают в колбу с 50 мл дистиллированной воды и ставят в термостат при температуре 40–60 °С на несколько часов для набухания. Затем готовят раствор сахарозы, для чего растворяют в 50 мл дистиллированной воды 10–15 г сахара. Растворы объединяют, ставят на водяную баню и доводят до кипения. Иногда добавляют раствор марганцовокислого калия или бромистого калия. В этом случае у некоторых культур (горох, кормовые бобы и др.) повышается процент проросшей пыльцы.

Готовый раствор наливают в чистую стерильную пробирку, закрытую пробкой, через которую пропущена стеклянная палочка. Пробирку помещают в сосуд с горячей водой.

Задание 2. Произвести посев и прорастить пыльцу на искусственной среде.

На чистое обезжиренное предметное стекло наносят каплю агар-агара с сахарозой. На эту каплю высевают пыльцу из зрелых пыльников изучаемого растения. Предметное стекло помещают во влажную камеру (чашку Петри, дно и крышка которой выложены смоченной фильтровальной бумагой). Чашку Петри для быстрого прораствания пыльцы помещают в термостат с температурой 20–25 °С на 30–60 мин.

Задание 3. Рассмотреть под микроскопом и сосчитать пыльцевые зерна проросшие, не проросшие и лопнувшие.

Чашку Петри по истечении указанного времени вынимают из термостата, достают покровное стекло, просматривают проросшую пыльцу под микроскопом и зарисовывают. В 3–5 полях зрения подсчитывают пыльцевые зерна, образовавшие пыльцевые трубки, а также непроросшие и лопнувшие зерна. Данные, полученные при подсчете, заносят в табл. 1.

Таблица 1. Определение жизнеспособности пыльцы методом Д. А. Транковского

| Культура, сорт | Число пыльцевых зерен | | |
|----------------|-----------------------|-----------|-------------|
| | всего | проросших | непроросших |
| | | | |
| | | | |

Вычислить процент жизнеспособной пыльцы по исследуемым культурам.