III. Wpływ różnych dawek promieni gamma ^{60}Co na żywotność pyłku astra chińskiego (*Callistephus chinensis* Nees) w pokoleniu M_1 i M_2

ALICJA WOSIŃSKA

Instytut Produkcji Ogrodniczej, SGGW — Akademia Rolnicza w Warszawie*

(Otrzymano dn. 14.07.1977)

Abstract

A. Wosińska (Institute of Horticulture Production, Warsaw Agriculture University, Nowoursynowska 166, 02-975 Warszawa, Poland) Acta Agrobotanica 33 (1): 31-39, 1980.

III. The effect of various doses of gamma ^{60}Co radiation upon pollen vitality of China aster (*Callistephus chinensis* Nees) in M_1 and M_2 generation

The effect of gamma radiation upon pollen was studied in populations of 4 China aster varieties in M_1 (plants from irradiated seeds) and M_2 generation. Effect of radiation was assessed in particular years. Comparison was made between pollen vitality in irradiated plants and in the control. Effect of radiation was visibly harmful only in case of plants from M_1 generation. The effects of radiation were different for particular varieties.

WSTĘP

Praca niniejsza stanowi kontynuację badań nad reakcją biologiczną astra chińskiego na promieniowanie gamma (Wosińska, 1979).

Powszechnie obserwowanym efektem napromienienia nasion jest niepłodność kwiatów w pokoleniu M_1 (Ibragimow, 1963; Muszyński, 1967; Seregina, 1973). Promieniowanie może również wywołać efekt odwrotny, tj. przywracać płodność roślinom męsko-sterylnym, o czym donoszą Sagawa i Mehlquist (1959), oraz Rana (1965).

Zwykle w pokoleniu M_1 , a znacznie rzadziej w pokoleniach dalszych

* Obecny adres: Stacja Hodowli Roślin Ogrodniczych Zielonki-Ulrichów, Warszawa, ul. Górczewska 124.

obserwuje się obniżoną żywotność pyłku, słabsze zawiązywanie nasion i niższą zdolność kiełkowania tych nasion (Beard i wsp., 1958; Iizuka i Ikeda, 1963; Muszyński, 1967; Monti, 1967). Według Walewej (1967) zaindukowane promieniowaniem mutacje (genowe lub chromosomowe) mogą powodować naruszenie przebiegu mejozy i w następstwie niepłodność pyłku. Obniżona płodność pyłku bywa czasem efektem popromiennych zaburzeń w warstwie wyścielającej komory pyłkowe (zaburzenia te mogą utrudniać dopływ substancji pokarmowych do rozwijających się ziaren pyłku). Według Gaula (1970) popromienna sterylność może być spowodowana przez różnego rodzaju mutacje (genowe, chromosomowe, lub cytoplazmatyczne) albo pojawia się jako następstwo uszkodzeń fizjologicznych.

Celem doświadczenia było zbadanie wpływu promieni gamma na żywotność pyłku populacji 4 odmian astra chińskiego w pokoleniu M_1 i M_2 .

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie przeprowadzono w latach 1973-1974. Przedstawione w niniejszej pracy wyniki dotyczą badań nad wpływem promieni gamma na żywotność pyłku u roślin wyrosłych z nasion napromienionych (M_1) i u potomstwa tych roślin (M_2). Obiektem badań były 4 odmiany: 'Agnieszka', 'Goplana', 'Madonna' i 'Płomień'. Efekt popromienny w poszczególnych latach oceniono przez porównanie średniej żywotności pyłku w populacjach napromienionych z żywotnością pyłku roślin kontrolnych. Żywotność pyłku określono na preparatach barwionych acetokarminem, rozcieńczonym glicerolem w stosunku 1:1. Wyniki badań wyrażono w procentach.

Metodykę pracy oparto na zaleceniach Kuźdowicza (1965), metodyce zastosowanej w pracy Montiego (1967); Ślusarczyk (1968), Gerlacha (1972).

Doświadczenie prowadzono według następującego schematu:

z każdej rośliny, wybranej losowo, z rozgałęźni I-go rzędu pobierano jeden kwiatostan (koszyczek),

z każdego kwiatostanu badano (przeważnie) 10 kwiatków,

z każdego kwiatka, z najbardziej dojrzałych pylników wykonano jeden preparat (barwiony acetokarminem).

Preparaty oglądano pod mikroskopem PZO w powiększeniu $12,5 \times 10 = 125 \times$. Z każdego preparatu (z 3 do 5 pól widzenia) liczono 200 ziaren pyłku: ziarna wybarwione — żywotne i puste — nieżywotne.

W pokoleniu M_1 liczba zbadanych roślin z jednej kombinacji (dawki) wynosiła od 6 do 36 (przeważnie z 3 powtórzeń). Ogółem w pokoleniu M_1 zbadano 3867 kwiatków z 394 roślin.

W pokoleniu M_2 badania wykonano dla mniejszej liczby powtórzeń, ale większej liczby roślin z jednego powtórzenia. Ogółem w pokoleniu M_2 zbadano 2545 kwiatków z 258 roślin.

Wyniki uzyskane z pokolenia M_1 i M_2 opracowano statystycznie, stosując metodę klasycznej regresji krzywoliniowej (Elandt, 1964, Oktaba, 1974). Dla każdej odmiany badano matematyczny model zależności żywotności pyłku od dawki promieniowania (model liniowy, paraboliczny i 3-go stopnia). Przed wykonaniem analiz wariancji dokonano transformacji według funkcji Blissa. Wnioskowanie statystyczne przeprowadzono przy poziomie istotności $p=0,05$.

Wyniki uzyskane w doświadczeniu z pokolenia M_1 opracowano statystycznie wykonując dwukierunkową analizę wariancji (odmiany $\times$ dawki) z wyodrębnieniem efektów krzywoliniowych. Wartości zmiennej losowej u poszczególnych odmian stanowiły średnie ze 10 obserwacji na poletku (10 roślin $\times$ 10 kwiatków). W nielicznych przypadkach brakujących poletków uzupełniano je według kryterium minimalnej sumy kwadratów dla błędu losowego (wzory Yetsa). W przypadku stwierdzenia istotności jednego z 3 badanych efektów, wyznaczono odpowiednie równanie regresji. W analizie wyników nie uwzględniono dawki 12 kR u odmiany 'Płomień'.

Dla wyników pokolenia M_2 wykonano analizy wariancji dla każdej odmiany oddzielnie. Obliczenia wykonano na średnich z 10 obserwacji dla poszczególnych roślin, bez względu na poletko (z powodu atakowania roślin przez choroby, niektóre poletka zostały zlikwidowane).

WYNIKI

U astrów jak i u całej rodziny *Asteraceae* (dawniej *Compositae*), pyłek powstaje w pylnikach kwiatków rurkowych — obupłciowych, wypełniających środek tarczy kwiatostanu. U wszystkich badanych odmian wielkość i kształt ziaren pyłku były zbliżone, a ilość wytwarzanego pyłku była bardzo duża. W typowych, dobrze wybarwionych ziarnach pyłku widoczna jest gruba błona, pokryta równodługimi kolcami. Ponadto na ziarnie pyłku są wyraźnie widoczne 3 brodkowate wypustki, barwiące się acetokarminem, które nie są pokryte kolcami — są to prawdopodobnie miejsca przez które łagiewka pyłkowa w czasie kiełkowania wydostaje się na zewnątrz.

W pracy oddzielnie będą omawiane wyniki pokolenia M_1 i oddzielnie wyniki badań uzyskane dla pokolenia M_2 .

POKOLENIE M_1

W tabeli 1 przedstawiono wyniki żywotności pyłku roślin w pokoleniu M_1 . Badane odmiany (rośliny kontrolne) wykazywały pewne różni-

Tabela 1—Table 1

Wpływ promieni gamma na żywotność pyłku astra chińskiego w pokoleniu M_1
 The effect of gamma radiation on pollen vitality of China aster in M_1 generation

Odmiana Variety	Dawka kR Dose kR	Ilość powtó- rzeń Number of repetitions	Liczba bada- nych roślin Number of plants studied	Liczba bada- nych kwiat- ków Number of flowers studied	Średnio ziaren pyłku w populacji Average pollen number in a population %		Zakres zmienności średniej żywotności pyłku pojedyn- czych roślin Range of variation of ave- rage pollen vitality in par- ticular plants %	
					żywych alive	nieżywych not alive	minimum	maksimum maximum
'Agnieszka'	0	3	29	287	94,4	5,6	89,9	98,2
	3	3	24	236	87,5	12,5	38,1	98,3
	6	3	29	290	82,2	16,8	22,8	98,7
	9	2	8	80	78,4	21,6	40,1	94,0
'Goplana'	0	3	27	269	97,5	2,5	92,4	99,9
	3	3	36	360	91,7	8,3	45,4	99,1
	6	3	21	206	89,2	10,8	35,5	99,3
	9	1	6	60	94,9	5,1	90,6	97,5
'Madonna'	0	3	26	255	92,1	7,9	58,9	98,5
	3	3	30	292	87,9	12,1	58,9	98,4
	6	3	27	258	85,1	14,9	14,9	98,8
	9	3	21	209	88,2	11,8	51,8	98,5
'Płomień'	0	4	36	354	87,1	12,9	65,8	97,8
	3	3	23	215	88,1	11,9	57,0	97,3
	6	3	24	230	76,6	23,4	15,5	93,8
	9	3	18	179	83,4	16,6	45,3	96,4
	12	1	9	87	87,5	12,5	28,8	91,7

ce. Największy procent pyłku nieżywotnego (wartości średnie) stwierdzono u odmiany 'Płomień', a największą żywotność u 'Goplany'. U pojedynczych roślin 'Goplany' obserwowano ponadto niewielką zmienność. Zakres zmienności u 'Madonny' był największy — u 26 zbadanych roślin żywotność pyłku wahała się od 58,9% do 98,5%.

Analiza statystyczna uzyskanych wyników wykazała, że efekt promienny u badanych odmian astra chińskiego w pokoleniu M_1 był zróżnicowany. Udowodniony statystycznie szkodliwy wpływ promieniowania na żywotność pyłku stwierdzono tylko u 'Agnieszki' i 'Goplany' (co pozwoliło na wyznaczenie równania regresji).

Rys. 1. Zależność żywotności pyłku od dawki promieniowania w pokoleniu M_1 astra chińskiego u odmiany 'Agnieszka' (A) i odmiany 'Goplana' (G)

Fig. 1. Dependence of pollen vitality upon radiation dose in M_1 generation of China aster 'Agnieszka' (A) and 'Goplana' (G) varieties

U 'Agnieszki' zależność żywotności pyłku od dawki promieniowania miała charakter liniowy — w miarę wzrostu dawki żywotność pyłku badanych populacji obniżała się (rys. 1). Efekt dawki 9 kR był największy — rośliny z tej kombinacji miały obniżoną żywotność pyłku w porównaniu do kontroli średnio o ok. 16%.

U odmiany 'Goplana' zależność żywotności pyłku od dawki promieniowania odpowiadała krzywej 2-go stopnia (rys. 1). Różnice między kombinacjami napromienionymi a kontrolnymi były niewielkie, ale istotne ($p=0,05$). W porównaniu do kontroli rośliny z kombinacji 3 i 6 kR miały obniżoną żywotność pyłku średnio o 5,8 i 8,3%. Efekt dawki 9 kR był najmniejszy, gdyż żywotność pyłku roślin tej kombinacji była tylko o 2,6% niższa od kontroli (tab. 1).

U odmian 'Madonna' i 'Płomień' żaden z badanych efektów nie został udowodniony statystycznie jako istotny.

Interesującym okazało się również porównanie wartości minimalnych i maksymalnych u pojedynczych roślin w populacjach kontrolnych i napromienionych (wartości procentowe żywotności pyłku pojedynczych roślin są średnimi z badanych kwiatków — przeważnie 10). Stwierdzono bowiem, że u wszystkich badanych odmian, we wszystkich kombinacjach napromienionych (z wyjątkiem dawki 3 kR u odmiany 'Madonna'), występowały rośliny o obniżonej żywotności pyłku (tab. 1). W żadnym przypadku nie obserwowano korzystnego wpływu promieniowania na żywotność pyłku. Należy podkreślić, że porównywane wyniki uzyskano z przebadania 394 roślin.

POKOLENIE M_2

W tabeli 2 przedstawiono wyniki żywotności pyłku u roślin astra chińskiego w pokoleniu M_2 . Średnie wartości żywotności pyłku u roślin kontrolnych badanych odmian były bardzo zróżnicowane i odmienne od wyników uzyskanych dla roślin kontrolnych z 1973 r. (tab. 1). Było to prawdopodobnie spowodowane wyjątkowo niekorzystnymi dla wegetacji roślin warunkami atmosferycznymi w 1974 r. Z tego powodu badań porównawczych między latami nie przeprowadzono.

W pokoleniu M_2 u żadnej z badanych odmian nie udowodniono statystycznie istotnego wpływu promieniowania na żywotność pyłku. U odmiany 'Agnieszka' i 'Goplana' w kilku kombinacjach napromienionych obserwowano wprawdzie większą żywotność pyłku niż u roślin kontrolnych, ale były to różnice niewielkie, nie przewyższające 70%. Porównanie wartości minimalnych i maksymalnych u pojedynczych roślin, oraz wyniki średniej żywotności pyłku poszczególnych populacji (tab. 2) wskazują jednak na występowanie w kombinacjach napromienionych (w porównaniu z kontrolnymi) pewnej tendencji do większej zmienności, zarówno w kierunku korzystnym, jak i obniżającym żywotność pyłku.

DYSKUSJA

Uzyskane wyniki wskazują na szkodliwy wpływ promieniowania na żywotność pyłku w pokoleniu M_1 i na różną wrażliwość badanych odmian. Obniżoną żywotność pyłku, statystycznie udowodnioną, stwierdzono we wszystkich kombinacjach napromienionych u odmiany 'Agnieszka' (zależność liniowa) i u 'Goplany' (efekt paraboliczny). W przypadku 'Goplany' okazało się, że dawka 9 kR była najmniej szkodliwa. Być może, że dawka ta jako najwyższa z zastosowanych (dawka 12 kR w warunkach polowych była letalna), wywołała w pierwszym okresie rozwoju tak znaczne uszkodzenia u niektórych roślin, że zostały one

Tabela 2—Table 2

Wpływ promieni gamma na żywotność pyłku astra chińskiego w pokoleniu M₂
 The effect of gamma radiation on pollen vitality of China aster in M₂ generation

Odmiana Variety	Dawka kR Dose kR	Liczba bada- nych roślin Number of plants studied	Liczba badanych kwiatków Number of flowers studied	Średnio ziaren pyłku w populacji Average pollen number in a population ‰		Zakres zmienności średniej żywot- ności pyłku pojedynczych roślin Range of variation of average pollen vitality in particular plants ‰	
				żywych alive	nieżywych not alive	minimum	maksimum maximum
'Agnieszka'	0	12	117	88,7	11,3	61,2	99,7
	3	12	120	95,1	4,9	93,1	97,9
	6	11	110	92,1	7,9	78,5	95,8
'Goplana'	0	11	109	94,7	5,3	69,8	99,1
	3	14	139	97,8	2,2	95,8	99,0
	6	18	180	93,9	6,1	48,6	99,1
'Madonna'	0	17	170	96,1	3,9	87,6	97,9
	3	20	200	95,7	4,3	75,4	98,3
	6	18	180	93,6	6,4	76,8	98,1
	9	11	110	94,9	5,1	16,1	83,9
'Płomień'	0	19	183	84,7	15,3	35,1	93,4
	3	23	221	85,6	14,4	65,4	96,8
	6	34	337	86,3	13,7	46,0	95,7
	9	26	249	83,6	16,4	37,8	98,3
	12	12	120	80,3	19,7	70,4	93,1

wyeliminowane z populacji. Przeżyły zatem tylko te rośliny, które nie były uszkodzone lub u których uszkodzenia były niewielkie, a wobec tego obniżona żywotność pyłku ujawniła się u mniejszej liczby roślin. Zgodnie z tym założeniem u roślin traktowanych dawkami niższymi od 9 kR, więcej roślin uszkodzonych (uszkodzenia nie były letalne) dotrwało do okresu kwitnienia i dlatego można było u nich stwierdzić obniżoną żywotność pyłku. To założenie wymaga jednak uzupełnienia, że reakcja na promieniowanie badanych odmian nie była jednakowa, co dla innych cech astra chińskiego kilkakrotnie wykazano (Wosińska, 1979). Aczkolwiek u pozostałych odmian nie udowodniono statystycznie istotnego wpływu promieniowania na żywotność pyłku, to jednak stwierdzony, we wszystkich kombinacjach napromienionych u wszystkich odmian (z wyjątkiem dawki 3 kR u 'Madonny'), zwiększony zakres występowania roślin o mniejszej żywotności pyłku wskazuje, że i u tych odmian, chociaż bardziej odpornych, ujawniła się szkodliwość popromienna. Wyniki uzyskane dla astra chińskiego potwierdzają tezę o szkodliwym wpływie promieniowania na żywotność pyłku w pokoleniu M_1 , co u różnych gatunków roślin obserwowali inni autorzy, np. Beard i wsp. (1958) u pszenicy i kukurydzy, Monti (1967) u *Nicotiana tabacum*, Muszyński (1967) u petunii. Wzrastający razem z dawką popromienny efekt obniżonej żywotności pyłku w pokoleniu M_1 u *Arachis hypogea* obserwował Bhatt i wsp. (1961), a u *Lilium formosanum* Iizuka i Ikeda (1963).

Wpływ promieni gamma na żywotność pyłku w pokoleniu M_2 nie został udowodniony statystycznie jako istotny.

STRESZCZENIE I WNIOSKI

Badano żywotność pyłku u 4 odmian astra chińskiego w pokoleniu M_1 (rośliny wyrosłe z nasion napromienionych) i w M_2 (potomstwo roślin napromienionych). Żywotność pyłku określono na preparatach barwionych acetokarminem.

W pokoleniu M_1 zbadano 3867 kwiatków z 394 roślin. Udowodniony statystycznie, szkodliwy wpływ promieniowania na żywotność pyłku stwierdzono tylko u 2 odmian. U odmiany 'Agnieszka' żywotność pyłku obniżała się ze wzrostem dawki (rys. 1A). Po dawce 9 kR rośliny miały obniżoną żywotność pyłku w porównaniu do kontroli średnio o ok. 16%. U odmiany 'Goplana' zależność żywotności pyłku od dawki promieniowania odpowiadała krzywej 2-go stopnia (rys. 1G). Najmniejszą szkodliwość popromienną stwierdzono po dawce najwyższej tj. po 9 kR. U pozostałych odmian nie udowodniono statystycznie istotnego wpływu promieniowania na żywotność pyłku. U wszystkich odmian, we wszystkich kombinacjach napromienionych (z wyjątkiem dawki 3 kR u od-

miany 'Madonna') obserwowano zwiększony zakres zmienności pojedynczych roślin w populacji, ale zawsze w kierunku obniżonej żywotności pyłku (tab. 1).

W pokoleniu M_2 zbadano 2545 kwiatków z 258 roślin. U żadnej z badanych odmian nie udowodniono istotnego wpływu promieniowania na żywotność pyłku.

Panu Prof. dr J. R. Starckowi za umożliwienie mi wykonania niniejszej pracy i Pani Docent L. Ubysz za cenne rady i wskazówki, składam serdeczne podziękowania.

Obliczenia statystyczne w całym cyklu doświadczeń były wykonane przez Pana mgr W. Mądrego, za co autorka serdecznie dziękuje.

LITERATURA

- Beard B. H., Haskins F. A., Gardner C. O., 1958. *Genetics*, 43: 728-736.
- Bhatt B. Y., Bora K. C., Gopal-Ayengar A. R., Pati S. H., Rao N. S., Shama Rao N. S., Subbaiah K. C., Thacare R. G., 1961. Effects of ionizing radiations on seeds. IAEA, Vienna, 591-607.
- Elandt R., 1964. Statystyka matematyczna w zastosowaniu do doświadczalnictwa rolniczego. PWN, Warszawa.
- Gaul H., 1970. Manual of mutation breeding, IAEA, Vienna, 85-106.
- Gerlach D., 1972. Zarys mikrotechniki botanicznej. PWRiL Warszawa.
- Ibragimow Sz. J. 1963. Predposiewnoje obłuczenie siemian s/ch kultur. AN SSSR, Moskwa, 204-210.
- Iizuka M., Ikeda A., 1963. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 82: 508-516.
- Kuźdowicz A., 1965. *Biuletyn IHAR*, 1-2: 5-12.
- Monti L. M., 1967. *Rad. Bot.*, 7: 177-182.
- Muszyński S., 1967. Badania nad eksperymentalnie wywołanymi promienianiem jonizującym mutacjami u petunii. Praca doktorska, Katedra Genetyki SGGW, Warszawa.
- Okta W., 1974. Elementy statystyki matematycznej i metodyka doświadczalnictwa. PWN, Warszawa.
- Rana R. S., 1965. *Euphytica*, 14: 296-300.
- Sagawa Y., Mehlquist A. L., 1959. *Amer. J. Bot.*, 44, 5: 397-403.
- Seregina M. T., 1973. *Biul. Nauczno Technicznej Informacji po Agronomicznej Fiziki*. 7/8: 81-84.
- Ślusarczyk H., 1968. Oznaczanie żywotności pyłku u petunii przy pomocy barwienia oraz metody kielkowania. Praca magisterska, Katedra Genetyki SGGW, Warszawa.
- Walewa S. A., 1967. Prińcypy i metody primeneniya radiacji w selekcii rastenij. Atomizdat. Moskwa.
- Wosińska A., 1979. *Acta agrobot.*, 32: 109-131.