



12. Архипова Е. А., Горин В. И., Степанов М. В., Поликанов С. Н. Обновления экологических шкал Л.Г. Раменского (1956) по результатам описаний лесной растительности Хвалынского национального парка // Бюл. Бот. сада СГУ. Саратов, 2009. Вып. 8. С. 46–51.

13. Давиденко О. Н., Невский С. А., Березуцкий М. А. Эколого-ценотическая характеристика местообитаний некоторых охраняемых растений южной части саратовского Поволжья // Поволж. экол. журн. 2007. № 4. С. 339–345.

14. Невский С. А., Давиденко О. Н., Филиппова С. А. К методике выявления наиболее информативных фитоценологических параметров при экологической оценке лесных местообитаний // Бюл. Бот. сада СГУ. 2007. Вып. 6. С. 41–47.

15. Давиденко О. Н., Невский С. А., Давиденко Т. Н. Биоценотический потенциал урочища «Дальнее» // Тр. национального парка «Хвалынский». Вып. 1. Саратов ; Хвалынский, 2009. С. 118–122.

16. Давиденко О. Н., Невский С. А. Возрастная структура ценопопуляций смолевки меловой (*Silene cretaceae* Fisch. Ex Spreng.) в Саратовской области // Тр. национального парка «Хвалынский». Вып. 1. Саратов ; Хвалынский, 2009. С. 114–118.

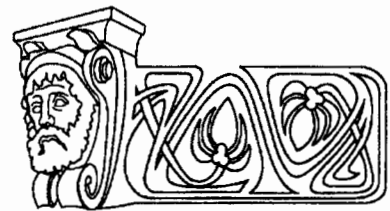
17. Зырянова О. А., Абаимов А. П., Бугаенко Т. Н. Оценка видового разнообразия коренных лиственных ассоциаций криолитозоны и его послепожарной динамики на основе информационного индекса Шеннона // Сибирский экол. журн. 2004. № 5. С. 735–743.

18. Информационно-аналитическая система для оценки сукцессионного состояния лесных сообществ / Л. Б. Заугольнова, Л. Г. Ханина, А. С. Комаров и др. Пушино, 1995. 50 с.

19. Ханина Л. Г., Смирнов В. Э., Бобровский М. В. Новый метод анализа лесной растительности с использованием многомерной статистики (на примере заповедника «Калужские засеки») // Бюл. МОИП. Сер. биол. 2002. Т. 107, № 1. С. 40–48.

УДК 581.331.1; 581.163

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕДУКЦИИ ЧИСЛА КЛЕТОК В ЗАРОДЫШЕВЫХ МЕШКАХ МУТАНТА ТАБАКА



А. Ю. Колесова

Саратовский государственный университет,
УНЦ «Ботанический сад»
E-mail: Kolesovaau@yandex.ru

Проведено исследование мегаспоро- и мегagamетофитогенеза мутанта табака с уменьшенным числом клеток в зародышевых мешках. Установлено, что мутация вызывает нарушение конъюгации по одной паре гомологичных хромосом в мейозе. Вследствие этого наряду с гаплоидными (24-хромосомными) спорами образуются анеуплоидные (23-хромосомные) споры, дающие начало аномальным зародышевым мешкам. На ценоцитной стадии развития мегagamетофита у мутанта отмечалось выпадение 1–2 митозов и/или их аномальное протекание, а также нарушение поляризации зародышевых мешков.

Ключевые слова: зародышевый мешок, партеногенез, кукуруза, тетраплоиды.

Cytological Mechanisms of the Cells Number Reduction in Embryo Sacs of the Tobacco Mutant

A. Yu. Kolesova

Megaspore- and megagametophytogenesis in tobacco mutant with reduced cells number in embryo sacs were studied. It is established, that the mutation causes a disturbance of one pair of homologous chromosomes conjugation in meiosis. Consequently alongside with the haploid (24-chromosomal) spores aneuploid (23-chromosomal) spores forms which are developed into abnormal embryo sacs. At cenocyte stage of megagametophytes development falling out of 1–2 mitoses and/or their abnormal course were observed, as well as abnormalities in embryo sacs polarization.

Key words: embryo sac, parthenogenesis, maize, tetraploids.

Один из перспективных подходов к изучению генетического контроля систем размножения растений состоит в выявлении и исследовании мутаций признаков, проявляющихся на разных этапах генеративного развития.

В настоящее время изучен ряд мутаций, затрагивающих мейоз [1–3], эмбрио- и эндоспермогенез [4], развитие мужского гаметофита [5]. Генетика мегagamетофита остается наименее изученной [6, 7].

В лаборатории генетики и цитологии Саратовского государственного университета экспериментальным путем получена мутация табака, характеризующаяся уменьшенным числом клеток в зародышевых мешках. Мутация константно воспроизводится в ряду поколений и характеризуется высокой экспрессивностью, которая у отдельных растений может достигать 80% [8]. Цель настоящей работы заключалась в изучении цитологических механизмов данной мутации.



Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовалась мутантная линия *Nicotiana tabacum* БГ-141.4, характеризующаяся признаком «уменьшенное число клеток в зародышевых мешках». Контролем служила линия табака БГ-6. Растения выращивались в открытом грунте на экспериментальном участке либо в вегетационных сосудах в оранжерее.

Препараты для изучения зрелых зародышевых мешков, мегagamетофитогенеза и женского мейоза готовились с использованием метода ферментативной мацерации семязачатков до клеточной суспензии [9]. Для исследования стадии тетрад мегаспор, морфометрического анализа семязачатков и зародышевых мешков, а также количественного учета семязачатков со зрелыми мегagamетофитами применяли методику просветления. Исследование просветленных семязачатков проводилось на микроскопе с фазово-контрастным устройством.

Результаты и их обсуждение

Мейоз при мегаспорогенезе у контрольного растения проходил в основном нормально. В метафазе I практически во всех материнских клетках мегаспор формировались правильные экваториальные пластинки, лишь в единичных клетках 1 унивалент или 1 бивалент находились вне метафазных пластинок. На стадиях анафазы I, телофазы I, метафазы II и анафазы II видимых аномалий не было выявлено. В телофазе II и на стадии тетрад большинство клеток были нормальными, но изредка встречались клетки с одним микроядром. Наряду с тетрадами мегаспор наблюдалось формирование триад (21,9%), возникающих за счет выпадения цитокинеза в верхней клетке диады после второго мейотического деления и диад (0,6%).

У мутанта на стадии метафазы I в большинстве исследованных материнских клеток мегаспор было видно по 2 унивалента. В 32,8% мегаспороцитов 1 унивалент и в 9,2% – 2 унивалента лежали за пределами метафазных пластинок. В анафазе I наблюдалось отставание 1–2 унивалентов; отстающие униваленты, как правило, расщеплялись на

хроматиды. В телофазе I 30% мейоцитов содержали одно и 5% – два микроядра. На стадии анафазы II в дочерних клетках диад отмечалось отставание 1–2 хроматид. В телофазе II 68,6% клеток имели по 1 и 25,6% по два микроядра, образованных одиночными хромосомами. Встречаемость микроядер в верхних и нижних частях спорад с завершённым вторым делением оставалась на уровне таковой в телофазе II. Микроклетки образовывались крайне редко. В среднем на одно основное ядро спорад приходилось по 0,61 элиминированного хромосом. У исследованного растения общая частота аномальных зародышевых мешков составила 81%, среди них частота малоклеточных мегagamетофитов – 77%.

У 5-ти исследованных мутантных растений частота образования тетрад варьирует от 6,7 до 58,1%. Остальные спорад представлены преимущественно триадами с остановкой деления в верхней клетке диады на стадии метафазы II. Также наблюдалось образование триад (от 0,9 до 6,9% в разных вариантах) за счет выпадения цитокинеза в верхней клетке диады после второго мейотического деления. Выпадение второго деления мейоза отмечалось в 0,4–4,3% семязачатков.

В контроле развитие мегagamетофита осуществляется типичным для табака образом. Инициальной клеткой зародышевых мешков, как правило, становится халазальная мегаспора, и формирование женского гаметофита происходит по *Polygonum*-типу.

У мутанта в большинстве случаев зародышевые мешки как обычно образуются из халазальной клетки спорад. В то же время достаточно часто наблюдается развитие двух мегаспор в одном семязачатке. У 5-ти изученных мутантных растений частота образования двух материнских клеток зародышевых мешков варьирует от 6,9 до 17,8%. Однако в зародышевый мешок, как правило, развивается только одна из них; дополнительная функционирующая мегаспора дегенерирует на ранних стадиях формирования женского гаметофита.

Исследование мегagamетофитогенеза показало, что часть зародышевых мешков мутанта развивается нормально (по *Polygonum*-



типу), но в большинстве случаев процесс формирования женского гаметофита отклоняется от исходного типа. На свободноядерной стадии развития женского гаметофита у мутанта зарегистрировано уменьшение числа ядер в зародышевых мешках по сравнению с контролем. В 29,0% ценоцитных мегагаметофитах изученного растения были обнаружены увеличенные ядра неправильной формы с дополнительными ядрышками. Появление таких ядер указывает на аномалии в прохождении митозов либо на замену митотических делений эндомитозами.

У мутанта, в отличие от контроля, последнее митотическое деление в большинстве случаев не сопровождается заложением фрагмопластов. В контроле фрагмопласты зарегистрированы во всех 8-ядерных зародышевых мешках. У мутанта фрагмопласты наблюдали лишь в единичных 2- и 4-ядерных мегагаметофитах. В большинстве же ценоцитных зародышевых мешках, находящихся на заключительных стадиях гаметогенеза, фрагмопласты отсутствовали. Это свидетельствует об аномальном прохождении цитокинеза в мегагаметофитах мутантных растений.

У мутанта также наблюдались нарушения полярности зародышевых мешков. Мегагаметофиты с аномальной полярностью достаточно часто встречались среди 1-, 2-, 3- и 4-ядерных ценоцитных зародышевых мешков. Это свидетельствует о том, что нарушение полярности может происходить еще при разрастании материнской клетки ЗМ, а также в процессе развития мегагаметофита.

Проведенное исследование показало, что изучаемая мутация вызывает нарушение конъюгации по одной паре хромосом, приводящее к утрате этих хромосом в ходе мейоза и формированию зародышевых мешков с хромосомным набором $n-1$. В результате этого развитие гаметофита происходит с дефи-

цитом генетической информации, содержащейся в данной хромосоме. Отсутствие этой информации приводит к нарушению некоторых событий мегагаметофитогенеза в ценоцитной фазе (выпадению или аномальному протеканию митотических делений, нередко сочетающемуся с нарушением полярного распределения ядер) и аномальной дифференциации клеток. Таким образом, редукция числа клеток в мегагаметофитах растений линии БГ-141.4 обусловлена мей-мутацией, влияющей на профазу I мейоза. Высокая специфичность отклонений в ходе развития зародышевых мешков указывает на то, что у мутанта, по всей вероятности, нарушен си-напис по одной определенной паре гомологичных хромосом.

Список литературы

1. Голубовская И.Н. Экспериментальное исследование генного контроля мейоза у кукурузы // Теоретические основы селекции. Новосибирск, 1985. С.119-135.
2. Gottschalk W., Kaul M.L.H. Asinapsis and desinapsis in flowering plants. I. Asinapsis // Nucleus. 1980. Vol.23, №1-2. P.1-15.
3. Gottschalk W., Kaul M.L.H. Asinapsis and desinapsis in flowering plants. II. Desinapsis // Nucleus. 1980. Vol.23, №1-2. P.97-120.
4. Meinke D.W. Perspectives of genetic analysis of plant embryo-genesis // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т.2. Семя / под ред. Т.Б. Бытыгиной. СПб., 1997. С.583-604.
5. Mascarenhas J.P. Gene activity during pollen development // Ann. Rev. Plant. Physiol. 1990. Vol.41. P.317-338.
6. Drews G.N., Lee D., Christensen C.A. Genetic analysis of female gametophyte development and function // Plant Cell. 1998. Vol.10. P.5-17.
7. Yadegaria R., Drews G.N. Female Gametophyte Development // Plant Cell. 2004. Vol.16. P.133-141.
8. Enaleeva N.Kh. Experimental production of gametophyte mutants // Proc. XI Intern. Symp. «Embryology and seed reproduction». Leningrad, July 3-7, 1990. St. Petersburg, 1992. P.143-144.
9. Enaleeva H.X., Тырнов В.С., Хохлов С.С. Выделение зародышевых мешков покрытосеменных растений путем мацерации тканей // Цитология и генетика. 1972. Т.6, №5. С.439-441.