

Rice R.D., Alderson P.G. & Wright N.A. Induction of bulbling of tulip shoots in vitro. *Sci. Hort.* 1983. Vol. 20. № 1. P. 377-390.

УДК 581.224.234;581.3

ЦИТОЭМБРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АНЕУПЛОИДОВ *NICOTIANA TABACUM* L.

О. Л. Госенова, А. Ю. Колесова

*Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского,
410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83*

Для определения потенциальной изменчивости мегагаметофита необходимо получение и исследование форм с генетически измененными признаками. Различного типа нарушения в структурной и функциональной организации гаметофита могут быть обусловлены мутациями разного типа (Еналеева, Тырнов, 2000).

Геномные мутации, в частности, полиплоидия и анеуплоидия, является мощным формообразующим фактором, играющим значительную роль в эволюции (Зеленцов, 2002; Otto, Whitton, 2000) и одним из механизмов преобразования систем размножения у растений (Грант, 1984; Nogler, 1984; Soltis, Soltis, 1999). Особый интерес в этом плане могут представить экспериментальные полиплоиды и анеуплоиды, полученные на основе гаметофитных мутантов, поскольку в этом случае может проявиться дополнительный морфогенетический эффект, расширяющий спектр фенотипических вариаций в генеративной сфере.

Материал и методы

Материалом служили анеуплоидные растения из самоопыленного потомства спонтанно возникшего 80-хромосомного гипертриплоида, обнаруженного среди растений мутантной линии Ds₁.

Определение чисел хромосом проводилось с использованием методики укорачивания 0,002 М раствором 8-оксихинолина, фиксации ацетоалкоголем (1:3) и окраски ацетогематоксилином. Анализ препаратов проводился на микроскопе "Zetopan" при увеличении X 1000. У экспериментальных растений количество хромосом варьировало от 66 до 83.

Завязи на 3 сутки после распускания цветков фиксировали ацетоалкоголем (1:3). Анатомический анализ семязачатков проводили с использованием техники просветления семязачатков (Негг, 1971). Препараты зародышевых мешков (ЗМ) готовили по методу ферментативной мацерации (Еналеева и др., 1972). Было исследовано по 200-300 семязачатков и 100 ЗМ.

Цитологический анализ препаратов проводили на микроскопе «Jenaval» при увеличении 10X60.

Математическую обработку материала проводили по стандартным методикам (Рокицкий, 1964).

Результаты и обсуждение

У 6 растений потомства гипертриплоида был проведен анатомический анализ просветленных семязачатков. Результаты подсчетов семязачатков с развивающимися и дегенерирующими ЗМ представлены в таблице 1.

Количество семязачатков с полностью дегенерированными ЗМ у растений потомства гипертриплоида отличается друг от друга и составляет от 7% до 18%. Но по сравнению с исходным 80-хромосомным растением, у которого в 52,7% семязачатков ЗМ не развивались, количество дегенерировавших ЗМ значительно и достоверно снизилось (различия значимы при $p < 0,001$).

Таблица 1.

Частоты семязачатков с дегенерировавшими ЗМ в завязях анеуплоидов

№ растения	Семязачатки	
	всего, шт	с дегенерир. ЗМ, %
3	200	7,0
9	200	8,5
17	200	9,0
27	200	10,5
40	200	18,0
44	200	14,5
исходный гипертриплоид	300	52,7

При исследовании ЗМ у 11 анеуплоидных растений было установлено, что общее число ЗМ аномального строения составляет от 16% до 45% (табл. 2). Это снижение является достоверным по сравнению с исходным гипертриплоидом, у которого 56,7% ЗМ являются аномальными (различия значимы при $p < 0,01$).

Сравнительный анализ спектра аномалий различных типов ЗМ анеуплоидных растений (табл. 2) свидетельствует о том, что встречаемость типов аномальных ЗМ и их соотношение у разных растений заметно варьируют. У всех изученных растений присутствуют малоядерные клеточные и субнормальные ЗМ, также как и у исходного растения. Но только у двух растений ценоцитные малоядерные ЗМ составляют около половины всех аномальных ЗМ, у остальных их количество заметно снижено по сравнению с таковым у исходного растения. Чаще всего подобные малоядерные ценоцитные структуры имели 1-4 ядра и были похожи на молодые 1-, 2- и 4-ядерные ЗМ. Это сходство позволяет предположить, что у анеуплоидов произошло блокирование развития ЗМ на промежуточной стадии.

Таблица 2. Результаты анализа зародышевых мешков у исходного гипертриплоида и его потомков

№ растения	Число хромосом	Всего изучено ЗМ, шт	Аномальные зародышевые мешки, шт :										
			всего	< 7		с числом ядер						> 8	
				клеточн.	ценоц.	с я/п эннер.	с с/п яйцекл.	с 3 пол. ядр.	аном. дифф	клеточн.	ценоц.		
3	74	100	16	5	2	2	0	0	0	3	4	0	
9	66	100	45	20	2	6	1	0	0	6	9	1	
16	82	100	20	4	10	4	0	2	0	0	0	0	
17	68	100	21	4	13	2	0	0	0	1	1	0	
18	75	100	16	6	1	4	0	1	2	2	2	0	
23	75	100	40	25	6	6	0	1	1	1	1	0	
27	83	100	39	29	0	2	3	1	2	2	2	0	
38	72	100	33	13	0	3	1	0	3	13	0	0	
39	74	100	17	9	3	1	0	0	3	1	0	0	
40	80	100	16	2	0	2	2	1	0	0	9	0	
44	75	100	31	7	1	7	0	0	1	14	1	0	
исходный гипертриплоид	80	90	51	30	14	6	0	0	0	0	1	0	

Субнормальные ЗМ в основном представлены ЗМ с яйцеклеткоподобной синергидой, реже встречались ЗМ с тремя полярными ядрами и синергидоподобной яйцеклеткой. У части ЗМ с типичным для *N. tabacum* 7-8 ядрами была отмечена, так называемая, аномальная дифференциация: ЗМ содержали более 3 клеток на одном из полюсов, имели больше трех полярных ядер или же другие структурные нарушения.

Следует отметить, что у потомков анеуплоида мы зафиксировали появление двух крупных ценоцитных ЗМ с 18 и 60 ядрами. Наличие подобных структур некоторые авторы объясняют, нарушением корреляции между двумя системами: определенным размером ЗМ и соответствующим ему числом митотических циклов (Еналеева, 2000).

Кроме ценоцитных многоядерных были обнаружены клеточные многоядерные ЗМ, у некоторых анеуплоидов их количество было довольно велико. Подобные ЗМ обычно содержали 9-12 ядер, но некоторых случаях их количество достигало 32. У исходного гипертриплоида был зафиксирован только единственный многоядерный ЗМ с 9 ядрами.

Выявление различного типа аномалий при изучении мегагаметофита анеуплоидов табака закономерно, поскольку мейоз у анеуплоидов в значительной степени нарушен: в результате образуются генетически несбалансированные гаметы с разным числом хромосом (Ярмолюк, 1972; Юркевич, 1977). В данном случае мейоз может быть нарушен ещё в большей степени из-за присутствия мутации *Dsu1*, влияющей на процесс конъюгации хромосом (Колесова, 2000).

У исходного гипертриплоида существовали значительные нарушения при протекании процесса мегагаметогенеза, о чем свидетельствует большое количество семязачатков с полностью дегенерированными ЗМ (52,7%) и ЗМ аномального строения (56,7%). В его потомстве количество нарушений достоверно меньше: увеличилось число семязачатков с развившимися ЗМ и число ЗМ нормального строения. Это согласуется с литературными данными. Многие исследователи отмечают повышение фертильности у полиплоидов и анеуплоидов в последующих поколениях, считая, что в дальнейшем происходит адаптация генеративной системы к повышенному уровню пloidности и анеуплоидии. «Ранние» гетероплоиды проходят этап стабилизации, приводящий к появлению «диплоидизированных» полиплоидов, имеющих повышенную, по сравнению с исходной, фертильность (Бреславец, 1963; Жуковский, 1972; Зеленцов, 2002). Подобное явления можно объяснить также жизнеспособностью анеуплоидных мегаспор (Зосимович и др, 1974; Чеченева, 1975). Считается, что при анеуплоидии геном претерпевает определенную перестройку на молекулярном уровне, благодаря которой становится возможным его нормальное функционирование и, следовательно, образование нормальных гаметофитов.

Литература

Бреславец Л.П. Полиплоидия в природе и опыте. М.: Наука, 1963. 364 с.

Грант В. Видообразование у растений. М.: Наука, 1984. 529 с.

Еналеева Н.Х. Внутривидовая изменчивость зародышевых мешков покрытосеменных растений: теоретические и прикладные аспекты (на примере *Nicotiana tabacum* L) // Автореф. дисс... докт. биол. наук. СПб., 2000. 41с.

Еналеева Н.Х., Тырнов В.С., Хохлов С.С. Выделение зародышевых мешков покрытосеменных растений путем мацерации тканей // Цитология и генетика. 1972. Т. 6. № 5. С 439-441.

Еналеева Н.Х., Тырнов В.С. Гаметофитные мутации // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепции. Т.3. СПб., 2000. С. 378-384.

Жуковский П.М. Эволюционные аспекты полиплоидии растений // Полиплоидия и селекция. Минск, 1972. С. 9-18.

Зосимович В.П., Навалихина Н.К., Мареха Л.Н., Павленко Г.С. Влияние анеуплоидии на плодовитость в популяции клевера красного АН-тетра-1 // Полиплоидия и селекция. Минск, 1972. С. 270-278.

Зеленцов С.В. Полиплоидная рекомбинация генома как фактор формообразования у высших растений // Электронный журнал «ИССЛЕДОВАНО В РОССИИ» <http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2002/035>

Колесова А.Д. Цитологический и генетический механизмы редукции числа элементом в зародышевых мешках гаметофитного мутанта *Nicotiana tabacum* L. // Автореф. дисс... канд. биол. наук. СПб., 2000. 19с.

Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. Минск: Вышэйш. школа. 1964. 327с.

Чеченева Т.Н. Анеуплоидия в микро- и макроспорогенезе тетраплоидной ржи // Тез. IV Всесоюз. совещ. по полиплоидии. Киев, 1975. С. 131.

Юркевич Л.Н. Изменчивость некоторых морфологических и цитогенетических признаков разнохромосомных анеуплоидов из тетраплоидной популяции клевера красного АН-тетра-1 // Экспериментальная генетика растений. Киев, 1977. С. 73-84.

Ярмолук Г.И. Микро- и макроспорогенез у анеуплоидной сахарной свеклы // Половой процесс и эмбриогенез растений. М., 1973. С. 290-291.

Нерг J.M. A new clearing squash technique for the study of ovule development in angiosperms // Amer. J. Bot. 1971. Vol. 58. № 8. P. 785-790.

Nogler, G.A. Genetics of apospory in apomictic *Ranunculus auricomus* // V. Conclusion. Bot. Helvet. 1984. Vol. 94. P. 411-422.

Otto S.P., Whitton J. Polyploid incidence and evolution // Annual Review of Genetics. 2000. Vol. 34. P. 401-437.

Soltis D.E., Soltis P.S. Polyploidy: Recurrent formation and genome evolution // Trends in Ecology and Evolution. 1999. Vol. 14. P. 348-352.