

Jefferson R. Apomixis: a social revolution for agriculture? // *Biotechnology Development Monitor*. 1994. №.19. P.1 – 16.

Toenniessen G.H. Feeding the World in the 21st Century: Plant Breeding, Biotechnology and Potential Role of Apomixis // *The flowering APOMIXIS: from Mechanisms to Genetic Engineering*. – Y.Savidan et al., editors. 2001. Chapter 1. P. 1 – 7.

Турнов V.S. Producing of parthenogenetic forms of maize // *Maize Genetics Cooperation Newsletter*. 1997. Vol.71. P.73 –74.

Турнов V.S., Smolkina Yu., Titovets V.V. Estimation of parthenogenesis frequency on the grounds of genetical and embryological data // *Maize Genetics Cooperation Newsletter*. 2001. Vol. 75. P.56-57.

УДК 582.988 : 581.163 +576.354.4

## ХАРАКТЕР НАРУШЕНИЙ В МУЖСКОЙ ГЕНЕРАТИВНОЙ СФЕРЕ В ДВУХ ПОПУЛЯЦИЯХ АГАМНОГО КОМПЛЕКСА *PILOSELLA*

А.С.Кашин, Ю.А. Демочко, М.И. Цветова\*

*Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского*

\* *НИИСХ Юго-Востока*

Исследования апомиктических форм покрытосеменных растений показали, что при автономном апомиксисе нередко наблюдаются явления морфологической редукции цветка. При этом в первую очередь происходят нарушения в развитии пыльца, а у некоторых апомиктических видов пыльца вообще не образуется (Хохлов, Зайцева, 1971; Куприянов 1983). Характер процессов, ведущих к образованию дефектных пыльцевых зёрен у разных форм апомиктических растений чрезвычайно разнообразен (Rutishauser, 1967). Так, у видов рода *Hieracium* в микроспорогенезе отмечали образование диад, полиад, монад, которые давали начало как диплоидным микроспорам, так и микроспорам с аномальным числом хромосом. У полиплоидных форм отмечали наряду с мультивалентами униваленты. У некоторых видов полностью отсутствовала конъюгация, хромосомы в первом делении мейоза претерпевали митотическое деление, давая начало диплоидным дочерним клеткам. В других случаях хромосомы в анафазе I расходились произвольно, и дочерние ядра получали разное количество хромосом. Нередко отмечалось возникновение реституционных ядер как в первом, так и во втором делениях мейоза (Gustafsson, 1947). Эти данные получены для видов, которым свойственна диплоспорическая форма апомиксиса. В данной работе приводятся результаты исследования микроспорогенеза у вида *Pilosella officinarum* F. Schultz et Sch. Bip. (синоним *Hieracium pilosella* L.), для которого характерна апомиксия.

Исследование проводилось с целью выяснить, какие особенности микроспорогенеза определяют характеристики пыльца растений, выявленные ранее (Кашин, Чернышова, 1997).

## Материал и методика

Были изучены выборки растений из двух популяций *P. officinarum* заказника «Алексеевские дачи» Б.-Карабулакского района, Саратовской области: 22а - с влажного луга и 33а - из остепненного соснового бора. Популяции находятся друг от друга на расстоянии 3,5 - 4 км. Это - пространство, поросшее широколиственным лесом. Условия обитания растений во второй популяции значительно более аридные, чем в первой.

Соцветия фиксировали в ацетоалкоголе (1:3) и хранили в 75% спирте при температуре 6-10° С. Окрашивали материал в 2% ацетокармине после обработки соцветий 4% раствором железо-аммонийных квасцов при  $t=50^{\circ}\text{C}$  в течение 20 минут и двукратной промывки в дистиллированной воде (по 20 минут). Из окрашенных корзинок препаративными иглами извлекали цветки, которые после промывки в дистиллированной воде помещали на 1 час 10 минут в цитазу. После мацерации цветки промывали в воде и готовили мазок в смеси 70% хлоралгидрата и 45% уксусной кислоты, подкрашенной ацетокармином.

## Результаты и обсуждение

В обеих исследованных популяциях отмечены цветки двух типов. К первому типу относятся гермафродитные цветки, несущие пестик и 5 пыльников. Цветки второго типа вместо пыльников содержат 5 стаминодиев - плоских образований, по длине равных пыльникам, состоящих из нескольких слоёв клеток (рис. 1). При этом в популяции 22а из 15 растений 13 (86,7%) имели цветки со стаминодиями, а в популяции 33а из 11 проанализированных растений цветки со стаминодиями имело лишь одно (9,1%) растение.

В большинстве случаев строение всех проанализированных цветков у одного растения совпадало: все они были гермафродитными или имели пестик и стаминодии (независимо от того, проанализировано одно, два или три соцветия). Но у двух растений из популяции 22а отмечено по одному цветку, в стаминодиях которых имелась спорогенная ткань. В одном из них были микроспороциты на стадиях от лептономы до тетрад. Число хромосом в них превышало  $2x=18$ . У другого растения стаминодии содержали пыльцевые зёрна, размер которых очень сильно варьировал.

Очевидно, мы наблюдали явление, аналогичное тому, которое наблюдалось у левкоев и тюльпанов, у которых в лепестках, возникших из тычинок, иногда образуются пыльцевые гнёзда, которые вскрываются очень редко и пыльца в которых дегенерирует (Тутаюк, 1980).

В обоюполых цветках в процессе микроспорогенеза у растений популяции 33а наблюдали большое количество аберраций. В диакинезе часть клеток содержала униваленты (табл.), что является следствием нарушений конъюгации.

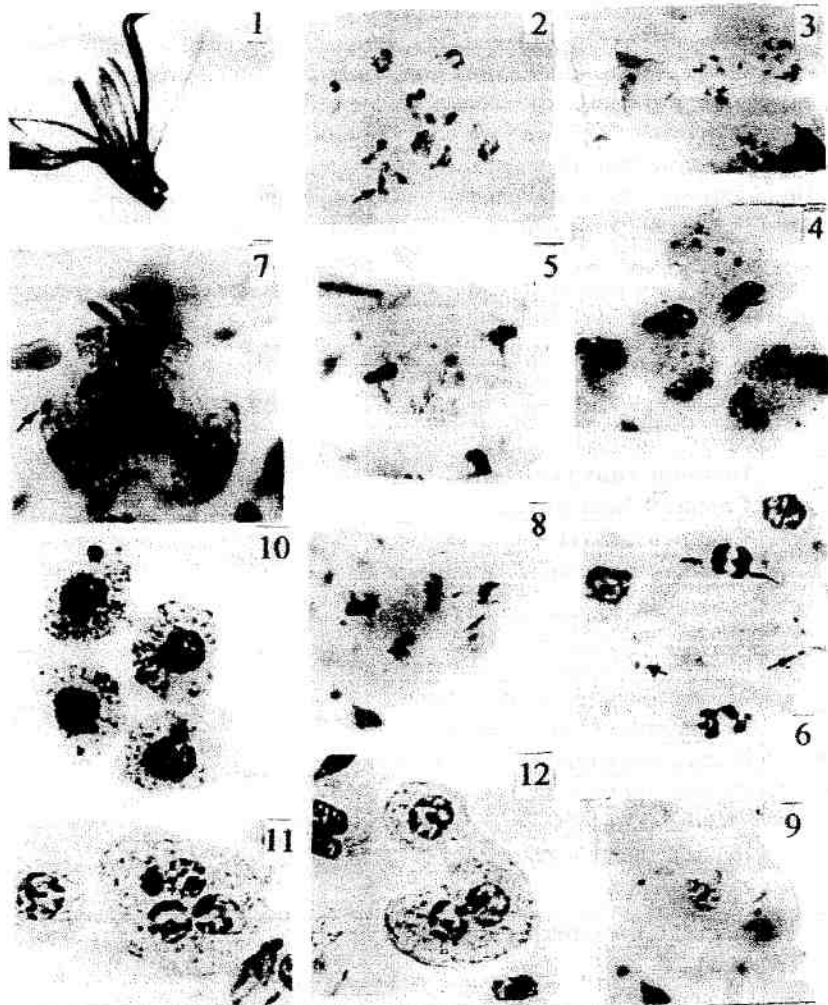


Рис. 1. Цветок со стаминодиями. Рис. 2. Диакинез (стрелкой указан крупный бивалент). Рис. 3. Телофаза I с отставшим унивалентом. Рис. 4. Диада с микроядрами. Рис. 5. Хроматиновые тяжи в метафазе II. Рис. 6. Хроматиновые тяжи (стрелкой указаны микроядра, образовавшиеся в телофазе I). Рис. 7. Трёхполюсное веретено деления в телофазе II (стрелкой указаны микроядра, образовавшиеся в телофазе I). Рис. 8. Отставание в телофазе II. Рис. 9. Микроспора с микроядром. Рис. 10. Тетрада с микроядром. Рис. 11. Монада. Рис. 12. Продукт аномального II мейотического деления. (Рис. 3, 4. X280. Рис. 2, 5-12. X630).

В метафазе I часть бивалентов и унивалентов не включалась в метафазную пластинку, и иногда они оказывались за пределами веретена деления. В ана-телофазе I чаще всего наблюдались нарушения в расхождении хромосом, причём клеток с отставанием единичных хромосом (рис.3) наблюдалось меньше, чем клеток, в которых хромосомы беспорядочно были разбросаны по веретену деления (табл.), в результате чего образовывались диады с множественными микроядрами (рис.4).

По-видимому, часть микроядер элиминировала ко времени наступления метафазы II, так как число мейоцитов с микроядрами на этой ста-

Частота мейоцитов с нарушениями (%) на разных стадиях мейоза у *Pilosella officinarum* (популяция 33а).

Фаза	Аномалия	Частота мейоци- тов, %
1	2	3
Диа- кинез	<b>Наличие унивалентов</b>	26,7
	<b>Свыше 9 бивалентов</b>	1,13
	<b>Квадриваленты</b>	1,13
Метафаза I	Нормальные микроспороциты	88,25
	1-2 унивалента за пределами пластинки *	1,04
	Бивалент за пределами пластинки	5,74
	Бивалент за пределами веретена	3,65
	Биваленты разбросаны по веретену	1,04
Ана-телофаза I	Нормальные микроспороциты	0,26
	Отставание единичных хромосом	32,86
	Разброс хромосом по веретену	41,07
	Расположение хромосомы на полюсе вне ядра	25,42
	Неразделившийся бивалент	0,13
	Дегенерация	0,26
Диада	<b>Нормальные микроспороциты</b>	0,26
	Микроядра	20,48
	Пикноз	78,55
	Несинхронное расхождение	0,73
Метафаза II	<b>Нормальные микроспороциты</b>	0,24
	Микроядра	62,26
	Хромосома вне метафазной пластинки	11,28
	Тяж хроматина	17,13
	Хроматиновые глыбки вне метафазной пла- стинки	17,13

1	2	3
Ана-телофаза II	<b>Нормальные микроспороциты</b>	4,67
	Микроядра	31,68
	Разброс хромосом по веретену деления	36,32
	Мосты**	20,16
	Хроматиновые тяжи перед расходящимися группами хромосом	2,40
	Другие нарушения	1,12
Тетрады	<b>Нормальные тетрады</b>	1,60
	С микроядрами	53,05
	Триады	39,14
	Пентада	0,18
	Дегенерация	0,18
	Отсутствие цитокинеза	3,68

\* В этой графе объединены клетки, в которых униваленты находились а) в пределах веретена деления; б) за пределами веретена деления; в) в экваториальной плоскости клетки, но за пределами веретена деления

\*\*В графе объединены клетки с одинарными или двойными мостами, с фрагментами и без таковых

дии снижалось до 11,3%. На стадии метафазы II в части клеток (табл.) наблюдались тяжи хроматина, направленные от метафазной пластинки к полюсу веретена деления, причём в клетке могло быть один или два таких тяжа, и в последнем случае они были направлены в одну или противоположные стороны (рис.5, 6). Эти образования были длиннее остальных хромосом и в анафазе II двигались к полюсу впереди них (рис.6). Возможно, что это - проявление необычного поведения самой большой хромосомы, хорошо выявляемой в диакинезе (рис. 2).

В ана-телофазе II наблюдали отклонения от обычного хода мейоза: а) в заложении веретена деления, б) в расхождении хромосом, в) в цитокинезе.

В норме в семействе *Asteraceae* образование тетрад происходит по симультанному типу. Тетрады микроспор имеют тетраэдральную крестообразную форму. Такие тетрады образуются в результате заложения в мейоците во втором делении мейоза двух перпендикулярно расположенных веретён деления (Сравнительная..., 1987)

В нашем материале в некоторых цветках до 10% мейоцитов содержали параллельные, расположенные в одной плоскости веретёна. Также во втором делении мейоза иногда закладывалось трёхполосное веретено деления (рис.7), что было, по-видимому, причиной образования пентад.

Независимо от взаиморасположения веретён деления, на стадии ана-телофазы II при расхождении хромосом с высокой частотой (табл.) наблюдалось отставание единичных или многих хромосом (рис.8), а также микроядра, образовавшиеся, по-видимому, в ана-телофазе I (рис. 7). Также на этой фазе мейоза продолжали быть видны «тяжи хроматина», выявившиеся в метафазе II (рис. 6). В результате беспорядочного расхождения хромосом образовывались многочисленные микроспоры с микроядрами (табл), (рис 9). Ко времени наступления первого митоза в пыльцевом зерне микроядра элиминировали.

В некоторых мейоцитах в конце II деления мейоза нарушался цитокинез. В мейоцитах с параллельно расположенными веретёнами наблюдалось необычное заложение борозд деления, и образование тетрад с не свойственной для *Assteraceae* конфигурацией (рис.10).

В других же мейоцитах цитокинез отсутствовал полностью, или же не формировались борозды деления, в результате чего образовывались многоядерные монады или совершенно аномальные продукты микроспорогенеза (рис 11, 12).

В популяции 22a удалось проанализировать микроспорогенез лишь у одного растения. Частота диад с множественными микроядрами равнялась 42,7%, тетрад с микроядрами – 61,4%. Также отмечены мейоциты с параллельными веретёнами во втором делении мейоза. Всё это свидетельствует о сходстве процессов микроспорогенеза в двух исследованных популяциях.

Выше отмечалось, что у многих апомиктичных форм ход микроспорогенеза резко отличается от такового у половых видов. В результате образуется либо нежизнеспособная пыльца, либо анеуплоидные, диплоидные или полиплоидные пыльцевые зёрна (ПЗ), причём процессы, ведущие к образованию таких ПЗ, чрезвычайно разнообразны (Gustafsson, 1947; Rutishauser, 1967; Richards, 1970; Davis, 1968; Bitari, 1980; Quarí, 1996 и др.).

В нашем материале большая часть аномалий связана с нарушениями в расхождении хромосом и неправильным цитокинезом.

Известно, что поведение хромосом в момент расхождения определяется ориентацией их центромер, а невозможность митотического деления центромеры в первом делении мейоза обеспечивается «слипанием» микротрубочек, присоединённых к центромерам сестринских хроматид (Dawe, 1998).

Характер цитокинеза определяется архитектурой микротрубочкового скелета клетки. Известно, что у двудольных образование и рост борозд деления при цитокинезе начинается в точках у плазмалеммы, где сходятся микротрубочки первичных и вторичных веретён (Васильев, 1996). В нашем материале параллельное заложение веретён во втором делении мейоза определяет необычную форму тетрад (рис.10). В других случаях нарушения цитокинеза были ещё более глубокими (рис.11-12).

Всё это позволяет предположить, что у исследованных нами растений нарушения мейоза определяются нарушениями в поведении микротрубочек веретена деления и их взаимодействия с центромерами хромосом. Генетические последствия наблюдаемых нами явлений требуют дальнейшего исследования.

## Литература

- Васильев А.Е. Цитоскелет генеративной сферы высших растений // Журн. общ. биол., 1996. Т.57, №5. С.567-590.
- Кашин А.С., Чернышова М.П. Частота апомиксиса в популяциях некоторых видов *Taraxacum* и *Hieracium* (*Asteraceae*) // Бот. журн., 1997.- Т. 82, № 9.- С.14-24
- Куприянов П.Г. Соотносительная роль факторов, вызывающих появление дефектных пыльцевых зёрен у растений в природе // Апомиксис и цитозембриология растений. Саратов, 1983. Вып.5. С.3-33.
- Сравнительная эмбриология цветковых растений. Л., 1987.- 391 с
- Тутаюк В.Х. Анатомия и морфология растений. 2е изд. М., 1980. 317 с.
- Хохлов С.С., Зайцева М.И. Опыт определения количества апомиктических видов во флоре окрестностей Саратова антморфологическим методом // Апомиксис и цитозембриология растений. Саратов, 1971. Вып. 2. С.25- 40.
- Birari S.P. Apomixis and sexuality in *Themeda Forssk.* at different ploidy levels (*Graminae*) // *Genetica* (Ned), 1980. V.54, № 2. P.133-139.
- Davis G.L. Apomixis and abnormal anther development in *Calotis Lappilacea* Benth. (*Compositae*) // *Austr. J. Bot.*, 1968. V.16, №1. P. 1-17.
- Dawe R.K. Meiotic chromosome organization and segregation in plants // *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1998. V.49. P. 371-395.
- Gustafsson A. Apomixis in higer plants. Part II. The causal aspect of apomixis. *Lunds universitets arsskrift.N.F. Avd. 2*, 1947. -Bd.43, №2. S.71-179.
- Quari C.L., Pozzobon M.T., Valls J.F.M. Cytology and reproductive behavior of diploid, tetraploid and hexaploid germplasm accessions of a wild forage grass: *Paspalum compressifolium* // *Euphytica*, 1996. V.90, №3. P. 345-349.
- Richards A.J. Eutriploid facultative agamospermy in *Taraxacum* // *New Phytol.*, 1970. V. 69, №3. P.761-774.
- Rutishauser A. Fortpflanzungsmodus und Meiose apomiktischer Blütenpflanzen. // *Protoplasmologia*, 1967. N 3. S. 1-243.

УДК 581.143.6

ГОРМОНОНЕЗАВИСИМОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ ЭМБРИОГЕНЕЗА *IN VITRO*  
У ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЛИНИИ КУКУРУЗЫ

Т.А.Алаторцева, В.С.Тырнов

Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского

Индукция автономного развития яйцеклетки *in vitro* зависит от многих факторов, включая состав питательных сред, их специфичность для разных видов и этапов культивирования. Обычно среды для индукции каллусо- и эмбриоидогенеза включают различные гормональные добавки в сочетании с углеводами (Yang, Zhou, 1982; Бугара, Русина, 1988; Mukhambetzhonov, 1997; Mol, 1999).