

Хохлов С.С., Тырнов В.С., Гришина Е.В. и др. Гаплоидия и селекция. М., 1976. 221 с.

Цветова М.И. Исследование полиэмбрионии у некоторых сортов мягкой пшеницы // Апомиксис и цитоэмбриология растений. Вып.2. Саратов, 1971. С. 94-103.

Grossniklaus U., Koltunow A., van Lookeren Campagne. A bright future for apomixis // Trends in plant science. Vol.3, № 3. P.415 – 416.

УДК 581.331.2, 575.224.234

ХАРАКТЕРИСТИКА ПЫЛЬЦЫ У ТЕТРАПЛОИДНЫХ И ГИПОТЕТРАПЛОИДНЫХ ФОРМ ТАБАКА, ПОЛУЧЕННЫХ НА ОСНОВЕ ДЕСИНАПТИЧЕСКОГО МУТАНТА Ds_{y1}

А.Ю. Колесова, О.Л. Госнова, Н.Х. Еналеева

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского

Для понимания механизмов генетической регуляции систем размножения растений необходимо создание и изучение коллекции форм с мутационными изменениями отдельных генеративных признаков. У *Nicotiana tabacum* L. экспериментальным путем получена мутантная форма, характеризующаяся уменьшенным числом элементов в зародышевых мешках и остановкой развития пыльцевых зерен на одноядерной или ранней двухклеточной стадиях (Еналеева, 1997; Колесова, Еналеева, 2001). Установлено, что основной эффект мутации (Ds_{y1}) заключается в десинапсисе по одной хромосоме, приводящем к формированию анеуплоидных 23-хромосомных мега- и микроспор, из которых развиваются аномальные мега- и микрогаметофиты (Еналеева, Колесова, 2000; Колесова, 2000).

Путем культивирования *in vitro* соматических тканей мутанта Ds_{y1} получен 96-хромосомный тетраплоид, характеризующийся частичной фертильностью. В настоящей работе представлены результаты подсчета числа хромосом и цитологического анализа пыльцы у самоопыленного потомства тетраплоида.

Материалы и методы

Объектом исследования служили тетраплоид, несущий мутацию Ds_{y1} в двойной дозе (далее обозначаемый как «Тетраплоид (P)»), и 14 его потомков. У каждого растения на стадии проростков фиксировали ацетоалкоголем (1:3) кончики корешков, предварительно обработанные 0,002 М раствором оксигидрохинолина. Корневые меристемы окрашивали ацетогематоксилином по стандартной методике (Турков и др., 1988) и подсчитывали числа хромосом.

Растения выращивали на экспериментальном участке и во время цветения фиксировали зрелые пыльники (по 3 из разных цветков).

Пыльцу окрашивали в смеси ацетокармина, глицерина и хлоралгидрата (1:1:1), после чего проводили детальный анализ пыльцевых зерен (ПЗ). Морфо-

логически нормальные ПЗ измеряли на ацетокарминовых препаратах с помощью окуляр-микрометра. Для каждого растения анализировали по 300 ПЗ из 3 разных пыльников и измеряли по 100 морфологически нормальных ПЗ.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Excel для Windows.

Результаты

Кариологический анализ потомков тетраплоида ($4n=96$) показал, что 12 растений содержат от 90 до 95 хромосом (то есть, они являются гипотетраплоидами), а два растения имеют тетраплоидный набор хромосом (табл. 1).

В результате изучения качества пыльцы установлено, что частота возникновения морфологически нормальной пыльцы у потомков тетраплоида варьирует от 17,0 до 63,3% (рис. 2). Среди аномальных ПЗ у большинства растений преобладали пустые ПЗ (13,3-43,0% от общего числа ПЗ), представляющие собой результат полной дегенерации содержимого ПЗ. Далее по частоте встречаемости следовали двуклеточные недоразвитые ПЗ (13,3-43,0%), отличавшиеся от нормальных меньшими размерами и морфологией ядер (рис. 3, а). В отличие от морфологически нормальных ПЗ, где просматривалось интенсивно окрашенное генеративное ядро веретеновидной формы, в двуклеточных недоразвитых ПЗ генеративное ядро имело овальную или округлую форму. Частота образования 1-ядерных ПЗ (рис. 3, а) у разных растений составляла от 5,7 до 37,0%. У исходной родительской формы морфологически нормальные ПЗ составили 44,7%; остальные ПЗ в большинстве случаев останавливались в своем развитии на 1-ядерной стадии (рис. 2).

Морфологически нормальная пыльца у изученных растений значительно варьировала по размерам (табл. 1, рис. 3, б), при этом наиболее многочисленную группу составляли ПЗ размером от 30 до 42 мкм (рис. 4).



Рис. 1. Соотношение разных типов пыльцевых зерен у тетраплоида и его потомков.

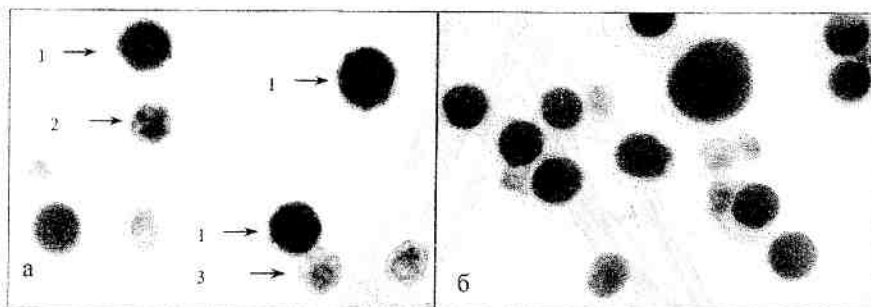


Рис. 2. Пыльца гипотетраплоидов: а - №6 (1 - морфологически нормальные ПЗ; 2 - двуклеточное недоразвитое ПЗ; 3 - одноядерное ПЗ); б - №8. Варьирование пыльцы по размеру.

Таблица 1. Размеры морфологически нормальной пыльцы у тетраплоида и его потомков

| Форма | № растения | Число хромосом | Диаметр ПЗ, мкм | | | |
|---------------------|------------|----------------|---------------------|-------|-------|----------|
| | | | ($\bar{x} \pm m$) | min | max | σ |
| Потомки тетраплоида | 1 | 93 | 34,68 \pm 0,15 | 27,69 | 42,60 | 4,3 |
| | 2 | 95 | 31,16 \pm 0,23 | 25,56 | 38,34 | 7,4 |
| | 3 | 94 | 31,59 \pm 0,35 | 23,43 | 51,12 | 11,1 |
| | 4 | 95 | 37,21 \pm 0,34 | 21,13 | 40,47 | 9,1 |
| | 5 | 96 | 36,74 \pm 0,22 | 23,43 | 46,86 | 6,0 |
| | 6 | 94 | 34,76 \pm 0,22 | 23,43 | 44,73 | 6,3 |
| | 7 | 95 | 32,84 \pm 0,24 | 12,78 | 40,47 | 7,3 |
| | 8 | 95 | 31,52 \pm 0,13 | 21,13 | 55,38 | 12,1 |
| | 9 | 96 | 32,78 \pm 0,24 | 17,04 | 38,34 | 7,3 |
| | 10 | 93 | 34,02 \pm 0,32 | 23,43 | 40,47 | 9,4 |
| | 11 | 93 | 30,31 \pm 0,15 | 14,91 | 40,47 | 4,9 |
| | 12 | 93 | 34,85 \pm 0,35 | 23,43 | 46,86 | 10,0 |
| | 13 | 94 | 34,53 \pm 0,25 | 23,43 | 44,73 | 7,2 |
| | 14 | 90 | 33,76 \pm 0,35 | 17,04 | 44,73 | 10,4 |
| Тетраплоид (P) | 1 | 96 | 34,59 \pm 0,29 | 23,43 | 42,60 | 8,25 |



Рис. 3. Распределение морфологически нормальной пыльцы по размеру у тетраплоида и его потомков

Обсуждение

Цитогенетический анализ потомков мутантного тетраплоида показал, что большая часть растений (12 из 15) являются гипотетраплоидами с числами хромосом от 90 до 95. Лишь два растения имели тетраплоидный набор хромосом. Высокая частота появления гипотетраплоидов, по всей вероятности, связана с действием десинаптического гена *Dsy1*, обуславливающего образование у мутантного тетраплоида анеуплоидных гамет с недостающими хромосомами.

В результате изучения качества пыльцы установлено, что у исследованных растений уровень морфологически нормальной пыльцы составляет от 17,0 до 63,3%, при этом морфологически нормальные ПЗ значительно варьируют по размерам. Наблюдаемая картина может быть связана, во-первых, с аномальным протеканием мейоза, что характерно для анеуплоидных и тетраплоидных форм (Машталер, Чеченева, 1977; Ярмолук, 1972); во-вторых, с действием гена *Dsy1*, увеличивающем частоту нарушений в мейозе. Следует отметить, что гипотетраплоидные растения существенно не отличались от тетраплоидных ни по частоте возникновения аномальных ПЗ, ни по размерам пыльцы.

Данные, полученные при изучении пыльцы у потомков мутантного тетраплоида, аналогичны результатам проведенного ранее исследования пыльцы потомков гипертриплоидного растения табака, спонтанно возникшего в потомстве десинаптического мутанта *Dsy1* (Колесова и др., 2002). У изученных потомков гипертриплоида, числа хромосом которых составляли от 66 до 83, также наблюдалось значительное варьирование пыльцы по размеру и качеству (частота морфологически нормальных ПЗ у разных растений варьировала от 14 до 79%).

Полученные нами анеуплоидные формы табака частично фертильны, что позволяет в течение многих поколений получать анеуплоидные растения различной генетической конституции для дальнейших эмбриологических исследований.

Работа выполнена при поддержке фондов «Университеты России» (грант УР.07.01.016) и МО РФ по фундаментальным исследованиям в области естественных наук (грант Е02-6.0-315).

Литература

Еналеева Н.Х., Колесова А.Ю. Цитологическое и генетическое исследование гаметофитной мутации табака, вызывающей редукцию числа элементов в зародышевых мешках // Тез. докл. ВОГИС. СПб., 2000. С.211-212.

Колесова А.Ю., Еналеева Н.Х. Состояние мужского гаметофита у мутантов *Nicotiana tabacum* L. с уменьшенным числом элементов в зародышевых мешках // Известия СГУ. Серия биологическая, Вып. специальный. 2001. С.184-189.

Колесова А.Ю., Еналеева Н.Х., Белоконова С.А. Цитологическое и морфологическое исследование анеуплоидов *Nicotiana tabacum* // репродуктивная биология, генетика и селекция. Саратов, 2002. С. 61-68.

Машталер С.Г., Чеченева Т.Н. Цитогенетические исследования тетраплоидной ржи // Экспериментальная генетика растений. Киев, 1977. С.36-52.

Турков В.Д., Гужов Ю.Л., Шелепина Г. А., Кишмария Я.Ш., Кометиани Д. Г. Хромосомные исследования растений в проблемах селекции, клеточной инженерии и генетическом мониторинге. М., 1988. 64с.

Ярмолюк Г.И. Явление анеуплоидии у полиплоидной сахарной свеклы // Полиплоидия и селекция. Минск, 1972. С.212-218.

Enaleeva N. A tobacco mutant with a reduced cell number in embryo sacs. 1. Expression of the mutation in plants of different generations at the mature gametophyte stage// Sex. Plant Reprod. 1997. № 10. P. 300-304.

УДК 581.331.2 + 576.354.4

РАЗЛИЧИЯ В ПРОЯВЛЕНИИ МУТАЦИИ ДОМИНАНТНОЙ МУЖСКОЙ СТЕРИЛЬНОСТИ У СОРГО В РАЗНЫХ ГЕНОТИПАХ

М.И. Цветова, Л.А. Эльконин
НИИ СХ Юго-Востока

К настоящему времени у десятков видов цветковых растений открыты гены мужской стерильности (Kaul, 1988). Признак мужской стерильности чаще определяется одним или немногими рецессивными генами, однако, у ряда видов обнаружены и доминантные гены мужской стерильности. Ранее проведённые исследования показали, что стерилизующее действие генов, обуславливающих мужскую стерильность (*ms* и *Ms*), проявляется чаще во время гаметогенеза, как это наблюдается и у форм с цитоплазматической мужской стерильностью (Kaul, 1988). Однако выявлены гены, нарушающие микроспорогенез, причём большинство из них вызывает нарушения на строго определённых стадиях формирования пыльцевого зерна.

Существование мутаций, нарушающих процессы микроспорогенеза у растений при сохранении нормального мейоза в женской сфере, указывает на то, что у растений генетические системы, контролирующие «женский» и «мужской» мейоз, различаются между собой.

Общепризнано, что анализ мейоза у организмов, несущих мейотические мутации, позволяет вычлнить элементарные события, происходящие в мейозе, и выявить гены, определяющие эти события. Очевидно, что накопление данных о действии генов, определяющих ход микроспорогенеза у мужски стерильных обонопольных растений, может быть полезным для более глубокого понимания такого общебиологического явления как мейоз.

У сорго ранее выявлен ряд рецессивных генов мужской стерильности, причём, по крайней мере, семь из них являются неаллельными друг другу (Dogget, 1988; Ишин и др., 1987).

Нами ранее из каллусных культур, полученных из листьев и метелок гаплоида сорго (сорт Майло-145) были регенерированы мутанты с мужской стерильностью (Elkonin et al, 1994). При скрещивании мутантов с линией СК-723 наблюдалось закрепление мужской стерильности. В результате серии последовательных бэкроссов мутантов с линией СК-723 был создан аналог данной линии на цитоплазме мутантов, обозначенной как [Atc], [Atc]СК-723. У этого