

ЛИСОВСКАЯ Т.П., ВОЙТЮК В.П., АНДРЕЕВА В.В., МОТУЗЮК А.П.

Волинский национальный университет имени Леси Украинки,
Украина, 43025, Луцк, вул. Потапова, 9, e-mail: Tlisovska@ukr.net

ФЕРТИЛЬНОСТЬ ПРОДУКТОВ МУЖСКОГО И ЖЕНСКОГО МЕЙОЗА У МЕЙОТИЧЕСКИХ МУТАНТОВ ТОМАТА

Введение

Мейоз - тип деления половых клеток, в результате которого количество хромосом в дочерних клетках уменьшается вдвое. Благодаря мейозу поддерживается постоянство хромосомного набора у потомков во время полового размножения, а также происходят такие важные генетические процессы как репарация и рекомбинация наследственного материала [1, 10].

Процессы взаимодействия гомологичных хромосом в мейозе сложные и контролируются значительным количеством генов. Успех в исследовании генетического контроля элементарных событий, которые обеспечивают синапсис хромосом, репарацию и рекомбинацию генетического материала, регулярное расхождение гомологов в анафазе I, связан с изучением мейотических мутантов – организмов, у которых нарушено нормальное прохождение мейоза. На сегодня известны мутации, которые вызывают полное отсутствие мейоза, отсутствие первого деления мейоза, синаптические мутации, мутации, вызывающие нарушения конденсации хроматина и мутации дополнительного деления мейоза [4, 7]. Подавляющее большинство исследованных на сегодня мейотических мутантов растений представлены синаптическими мутантами, которые влияют на распознавание и синапсис гомологичных хромосом, формирование синаптонемного комплекса, кроссинговер и поддержание хиазм [3, 6, 7]. Это свидетельствует о важности процессов, происходящих во время профазы I мейоза и большом количестве генов, задействованных в их генетическом контроле. Исследование как можно большего количества мейотических мутаций различных организмов позволит выяснить генетические механизмы, которые обеспечивают регулярный ход мейоза, их универсальность и специфичность. Мейотические мутанты с нарушением мейоза характеризуются различной степенью стерильности продуктов мужского и женского мейоза. В лаборатории генетики и селекции биологического факультета ВНУ имени Леси Украинки собрана уникальная коллекция мейотических мутантов томата (*Lycopersicon esculentum* Mill.) [2]. Настоящая работа посвящена изучению влияния различных типов мейотических мутаций томата на фертильность микро- и макрогаметофитов, а также морфометрические параметры пыльцы.

Материалы и методы.

Материалом исследования были мутантные растения, которые находятся в коллекции мейотических мутаций томата лаборатории генетики и селекции кафедры ботаники и садово-паркового хозяйства ВНУ имени Леси Украинки. Это синаптические мутанты (*as_b*, *as₁*, *dsm₁*, *as₅*, *dsm₂*, *dsm₃*), мутанты, характеризующиеся нарушением конденсации хроматина (*as₄* и *sti*) и мутант с дополнительным вторым делением мейоза (*amd*) [2]. По происхождению мутации *as₁*, *as₅* и *as₄* - спонтанные мутации, отобранные по стерильности в полевых посевах томата сорта San Marzano, *as_b* – сорта Bountry [9], *amd* и *dsm₃* выделены в M₂ сорта Факел, полученного из семян, облученных γ-лучами в дозе 500 Гр [2]. Мутации *dsm₁* и *sti* возникли спонтанно в полевых посевах томата сорта Глория [8], а мутация *dsm₂* отобрана среди растений-регенерантов томата сорта Викторина. Растения морфологически не отличались от других растений исходных сортов. Цветки были обычного строения, происходило нормальное цветение, но плоды не завязывались. Из-за высокой мужской стерильности мутации поддерживаются в виде популяции ВС от скрещивания гомозиготных по мей-генам

растений (в качестве материнской формы) с фертильными гетерозиготами в качестве отцовской формы.

Для всех мутаций был установлен моногенный рецессивный характер наследования, для наиболее изученных установлено отсутствие аллелизма между ними. Однако обнаружен аллелизм между синаптическими мутациями *dsm₁* и *as_b*, имеющими различное происхождение.

Фертильность пыльцы определяли ацетокарминовым методом. Фотографии пыльцевых зерен сделаны с использованием светового микроскопа Axioskop-40 при увеличении $\times 400$. Размеры пыльцы измеряли на фотографиях с последующим пересчетом в мкм с помощью объект - микрометра. Площадь поперечного сечения пыльцевых зерен рассчитывали для фертильных пыльцевых зерен округлой формы по формуле $S = \pi \cdot r^2$, для стерильных пыльцевых зерен овальной формы по формуле $S = (\pi \cdot d_1 \cdot d_2) / 4$. Статистическую обработку данных осуществляли по t-критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Для оценки влияния исследуемых мейотических мутаций на мейоз в микро- и макроспорогенезе мы провели анализ жизнеспособности продуктов мужского мейоза по фертильности пыльцы, а продуктов женского мейоза - по завязыванию семян на плод при искусственном опылении гомозиготных по мей-генам растений фертильной пыльцой. Также провели оценку морфометрических параметров пыльцы. Диаметр пыльцевых зерен измеряли на фотографиях с последующим вычислением площади.

Наши данные свидетельствуют о том, что все растения, содержащие мейотические мутации в гомозиготном состоянии, проявляют низкую фертильность пыльцы, которая достоверно отличается от фертильности пыльцы гетерозиготных по тем же мутациям растений (табл.). Однако наименьшую фертильность пыльцы имеют мутанты с дополнительным вторым делением мейоза (*amd*), у которых выявлена 100% мужская стерильность. Наши данные соответствуют литературным данным относительно фертильности мутантов этого типа, обнаруженных у других организмов [5, 7]. Мутантные растения *amd* образуют пыльцевые зерна наименьшего размера (47,4 % от площади фертильных гомозигот), что объясняется характером нарушений мейоза у этих мутантов. В результате нерегулярного дополнительного деления мейоза (без репликации ДНК и удвоения хромосом) на стадии спорад у них образуются октады неравного размера.

Очень низкой фертильностью пыльцы характеризуются растения, гомозиготные по генам, нарушающим конденсацию хроматина – *as₄* и *sti* – $1,67 \pm 0,68$ % и $0,58 \pm 0,41$ %, соответственно (см. табл.). Пыльца этих мутантных растений характеризуется достаточно большими размерами по отношению к фертильным гетерозиготам (68,6 % для *sti/sti* и 78,8 % для *as₄/as₄*). Необходимо отметить, что мутации этого типа характеризуются настолько значительными нарушениями в первом делении мейоза, что второе деление отсутствует практически во всех мейоцитах. На стадии спорад наблюдаются преимущественно диады и диады с микроядрами.

Фертильность синаптических мутантов также снижена, причем по степени фертильности синаптические мутанты несколько различаются. Так у гомозигот *as₁/as₁* фертильность пыльцы составляет $15,76 \pm 1,59$ %, тогда как у *dsm₂/dsm₂* – $1,16 \pm 0,58$ %. Мы предполагаем, что это может быть связано с различной степенью нарушения синапсиса гомологичных хромосом у этих мутантных растений.

В связи с невозможностью прямого оценивания фертильности макрогаметофитов мы провели косвенную оценку по завязываемости семян на плод при опылении гомозиготных по мей-генам растений пыльцой фертильных растений, что является также весьма информативным показателем. Все исследованные мейотические мутанты томата, кроме *amd*, обнаружили существенно меньшую завязываемость семян на плод по сравнению с фертильными гетерозиготами, что

свидетельствует о проявлении мейотических мутаций как в микроспорогенезе, так и в макроспорогенезе. Наименьшей фертильностью продуктов женского мейоза характеризуются мутанты с нарушением конденсации хроматина *as₄/as₄* и *sti/sti* (5,50 и 13,30 семян на плод, соответственно), что совпадает с низким процентом фертильности пыльцы у этих растений (см. табл).

Таблица

Показатели фертильности микро- и макрогаметофитов мейотических мутантов томата

Генотип	Площадь пыльцевых зерен		Фертильность пыльцы		Завязываемость семян	
	мкм ²	% к гетерозиготе	Фертильность, %	% к гетерозиготе	семян на плод, штук	% к гетерозиготе
Amd/amd	469,64±8,96	100,0	96,12±0,90	100,0	70,60±6,70	100
amd/amd	222,47±25,20*	47,4	0	0	47,60±5,00	67,0
Sti/sti	489,23±7,20	100,0	70,72±2,61	100,0	124,90±11,30	100,0
sti/sti	335,70±17,60*	68,6	0,58±0,41*	0,8	13,30±2,20*	10,6
As ₄ /as ₄	545,56±5,62	100,0	93,67±0,97	100,0	89,30±10,30	100,0
as ₄ /as ₄	429,94±15,92*	78,8	1,67±0,68*	1,7	5,50±1,00*	6,2
As _b /as _b	472,87±6,08	100,0	81,98±2,11	100,0	110,80±15,80	100,0
as _b /as _b	302,00±8,60*	63,4	3,15±0,98*	3,9	10,67±2,26*	9,6
Dsm ₁ /dsm ₁	436,64±8,96	100,0	97,66±0,70	100,0	115,00±14,20	100,0
dsm ₁ /dsm ₁	271,18±10,41*	62,1	5,70±1,09*	4,7	6,83±2,15*	5,9
Dsm ₂ /dsm ₂	561,31±25,67	100,0	86,13±0,94	100,0	133,30±21,22	100,0
dsm ₂ /dsm ₂	283,92±19,07*	50,6	1,16±0,58*	1,3	8,71±3,41*	6,5
Dsm ₃ /dsm ₃	469,64±8,96	100,0	96,16±3,84	100,0	98,00±15,12	100,0
dsm ₃ /dsm ₃	267,26±12,85*	56,9	10,33±1,44*	10,7	18,43±2,31*	18,8
As ₁ /as ₁	503,78±8,55	100,0	93,67±0,97	100,0	90,00±9,76	100,0
as ₁ /as ₁	263,90±13,91*	52,4	15,76±1,59*	16,8	22,16±2,76*	24,6
As ₅ /as ₅	475,08±9,81	100,0	78,28±0,41	100,0	107,25±13,72	100,0
as ₅ /as ₅	250,12±7,61*	52,6	4,87±0,95*	6,2	13,63±1,13*	12,7

* - отличие показателей гомозигот по мей-генам от гетерозигот существенно при P < 0,05

Наибольшее количество семян на плод среди гомозиготных по мей-генам растений было получено у мутантов *amd/amd* - 47,60 или 67,0 % относительно фертильных гетерозигот, что указывает на то, что данная мутация не влияет или незначительно влияет на мейоз в макроспорогенезе. Этот результат совпадает с литературными данными относительно подобной *amd* мутации дополнительно деления мейоза - "*polimitosis*" [7] у кукурузы, которая характеризуется значительным количеством зерен в початках гомозиготных растений.

Выводы

Анализируемые типы мейотических мутаций оказывают специфическое влияние на фертильность и размеры пыльцевых зерен, а также фертильность макрогаметофитов, что имеет практическое значение в ежегодной работе по идентификации значительного количества растений расщепляющихся по мей-генам популяций, для составления схем скрещивания, а также для выделения новых мейотических мутаций.

Литература

1. Голубовская И.Н. Генетический контроль поведения хромосом в мейозе / Цитология и генетика мейоза. – М.: Наука, 1975. – С. 312-343.
2. Лисовская Т.П., Войтюк В. П., Кузьмишина И. И., Коцун Л. А. Мейотические мутации томата. Синтетическая теория эволюции: состояние, проблемы, перспективы / Международная научная конференция. – Луганск, 2009. – С. 107-108.
3. Соснихина С.П., Михайлова Е. И., Тихолиз О. А. и др. Проявление и наследование десинаптической формы ржи с нарушением гомологичности синапсиса / Генетика, 2007. - Т. 43, №10. – С. 1424-1433.
4. Baker B.S., Carpenter A.T.C., Esposito M.S. et al. The genetic control of meiosis // Annu. Rev. Genet., 1976, Vol. 10.– P. 53-134.
5. Bhavanandan K. V. Supernumerary cell division during meiosis in *Rumohra aristata* (Forst.) Ching. – Cytologia, 1971. – V.36, № 4. P. 575-578.
6. Gottschalk W., Kaul M. L. H. Asynapsis and desynapsis in flowering plants. II. Desynapsis / Nucleus, 1980. – V. 23 (1,2). – P. 97–120.
7. Kaul M.L.H., Murthy T. G. K. Mutant genes affecting higher plant meiosis / Theor. Appl. Genet., 1985. – V.70. – P. 449–466.
8. Lisovska T.P. Grati M.I., Nyutin Iu.I. Two new tomatoes meiotic mutants appeared spontaneously // Probleme actuale ale geneticii, biotehnologiei si ameliorarii: Conf. I Nationale.– Chisineu, 1994.– P. 37-38.
9. Moens P.B. Genetic and cytological effects of three desynaptic genes in the tomato / Canad. J. Genet. and Cytol., 1969. – V. 11, № 4.– P. 857–859.
10. Pawlowski W.P., Cande W. Z. Coordinating the events of the meiotic prophase / Trends in Cell Biology, 2005. – V. 15, № 12. – P. 674–681.

Резюме

Приведены результаты исследования фертильности микро- и макрогаметофитов, а также размеры пыльцы девяти мейотических мутантов томата (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Все мутации, кроме мутации дополнительного деления мейоза *amd* вызывают достоверное снижение фертильности продуктов мужского и женского мейоза. Мутант *amd* выявляет полную стерильность и наименьшие размеры пыльцы, однако высокую фертильность макрогаметофитов.

Резюме

Наведено результати дослідження фертильності мікро-і мегагаметофітів, а також розміри пилку дев'яти мейотичних мутантів томату (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Всі мутації, крім мутації додаткового поділу мейозу *amd* викликають істотне зниження фертильності продуктів чоловічого і жіночого мейозу. Мутант *amd* виявляє повну стерильність і найменші розміри пилку, проте високу фертильність мегагаметофітів.

Abstract

The results of the study of fertility micro- and macrogametophytes, as well as the size of the pollen of nine meiotic mutants of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) was presented. All mutations, except mutations additional meiotic division *amd* cause significant reduction in fertility products of male and female meiosis. The *amd* mutant reveals a complete sterility of the pollen and the smallest size, but high fertility macrogametophytes.