

ТАМАРА ШНАЙДЕР, ЮТА ПЯРДИ

### О НАРУШЕНИЯХ МИКРОСПОРОГЕНЕЗА В ГИБРИДНОМ ПОТОМСТВЕ ОТ СКРЕЩИВАНИЯ МУТАНТА ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ С ИСХОДНЫМ СОРТОМ

В ходе исследований по индуцированному мутагенезу при обработке семян яровой пшеницы сорта 'Норрэна' алкилирующими химическими мутагенами были выделены мутанты, отличающиеся от исходной формы как по морфологическим, так и по хозяйственно-ценным признакам (Прийлинн, 1968). Один из этих мутантов, 7-248, полученный в первом поколении после обработки семян 0,006%-ным раствором нитрозометилмочевины, характеризовался плотным колосом цилиндрической формы, повышенной устойчивостью к бурой и стеблевой ржавчине (Прийлинн, Каск, 1971) и высокой продуктивностью.

Изучение генетической природы изменений, выявляемых при генетическом и цитологическом исследовании мутантов, может способствовать дальнейшей разработке эффективных методов экспериментального мутагенеза. Исходя из этого, нами было предпринято изучение микроспорогенеза у яровой пшеницы сорта 'Норрэна' и у гибрида  $F_1$ , полученного при скрещивании пятого поколения мутанта 7-248 с исходным сортом.

Молодые колосья растений сорта 'Норрэна' и гибридного потомства фиксировали по Ньюкомеру, пыльники окрашивали ацетокармином и на давленных препаратах просматривали и анализировали под микроскопом стадии мейоза в материнских клетках пыльцы от профазы до образования тетрад микроспор. Учитывали нарушения конъюгации хромосом, подсчитывали число унивалентов и мультивалентов в метафазе I, число мостов, фрагментов и отставших хромосом в анафазах I и II, процент нормальных тетрад, тетрад с микроядрами и полиад.

Как видно из данных, представленных в таблице, процент нарушений, отмеченных во всех фазах мейоза, у гибрида 'Норрэна' × 7-248 значительно превышает процент нарушений у контрольных растений. Особенно сильно эти различия выражены по числу клеток с унивалентами и мультивалентами, а также по числу тетрад с микроядрами. Клеток с мостами, фрагментами, отставшими хромосомами и асинхронным делением в анафазах I и II у гибрида было в 1,5—2 раза больше, чем у сорта 'Норрэна'.

Однако, кроме вышеперечисленных нарушений, обычно имеющих место при отклонении хода мейоза от нормы, нами были отмечены также аномалии микроспорогенеза, носящие несколько иной характер. Наряду с нормальными фигурами диакинеза, метафазы, анафазы и телофазы

Число клеток с нарушениями в мейозе у гибрида, полученного при скрещивании  $M_5$  мутанта с исходным сортом яровой пшеницы 'Норрэна'

	'Норрэна' контроль	Гибрид $F_1$ 'Норрэна' $\times 7-248$
Число растений	18	37
<b>Метафаза I</b>		
Число клеток	1060	1213
с унивалентами, %	6,6	25,5
с мультивалентами, %	1,2	5,6
<b>Анафаза I</b>		
Число клеток	1468	1406
с мостами, фрагментами, отставшими хромосомами, %	9,2	17,3
<b>Анафаза II</b>		
Число клеток	1666	570
с мостами, фрагментами, отставшими хромосомами, %	4,5	11,0
с асинхронным делением, %	8,6	20,0
<b>Диады</b>		
Число	1524	1469
с микроядрами, %	4,4	10,3
<b>Тетрады</b>		
Число	3108	3707
с микроядрами, %	0,7	5,9

первого деления мейоза, в цитоплазме материнских клеток пыльцы наблюдались тонкие, в большей или меньшей мере спирализованные нити хроматина. Такие нити, сходные по своей морфологии с хромосомами начала профазы (лептонема — пахинема), отмечены нами в диакинезе профазы, метафазе и анафазе первого деления мейоза (рис. 1—6).

В клетках микроспороцитов, находящихся на стадии диакинеза или метафазы и содержащих описываемые нити хроматина различной длины и разной степени спирализации, число бивалентов было нормальным ( $21_{II}$ ), или немного большим ( $22_{II}$ — $24_{II}$ ), а в отдельных клетках наблюдалось уменьшенное число бивалентов ( $14_{II}$ — $18_{II}$ ). В клетках, находящихся в этих фазах деления, наблюдались гетероморфные биваленты, мультиваленты, высокая частота унивалентов, сильная фрагментация и слипание хромосом, что зачастую делало невозможным подсчет бивалентов (рис. 7, 8).

В анафазах, кроме отставших хромосом, мостов, фрагментов, асинхронных делений и образования трехполюсного веретена, нами также наблюдались слабо спирализованные хромосомные нити (рис. 9, 10).

На стадии диады в телофазе I, наряду со слабо спирализованными хромосомными нитями, отмечались микроядра и скопления хроматина (рис. 11—13). Следует отметить, что характерные сгустки хроматинового вещества в виде ядрышек или капель различной величины, иногда напоминающие по своему виду плотные клубки лептотенных или пахитенных хромосом, наблюдались и в самом начале профазы (рис. 14, 15).

Описанные нами отклонения от нормального хода мейоза встречались у растений гибридного потомства во многих пыльниках и гораздо реже в контрольном материале, т. е. у исходного сорта 'Норрэна'.

Подобные нарушения в микроспорогенезе у самых различных видов растений и у отдаленных гибридов описываются в литературе на протя-

Рис. 1—21. Аномалии на разных фазах мейоза в материнских клетках пыльцы пшеницы. Увеличение: рис. 9 — 1400X; рис. 2, 13, 15, 19 — 1600X; рис. 1, 3, 7, 11, 12, 14, 18 — 1700X; рис. 4, 5, 6, 8, 10, 16, 17, 20, 21 — 1800X. Концентрические круги, наблюдающиеся на большинстве рисунков, объясняются дефектом линзы микрофотонасадки.

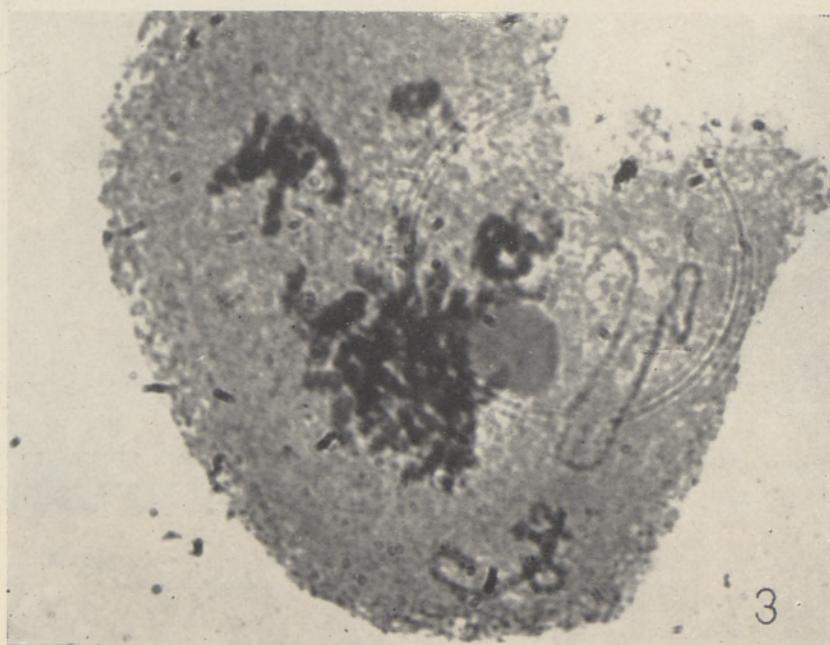


Рис. 1—3. Биваленты хромосом и слабоспирализованные нити хроматина в диакинезе профазы I.

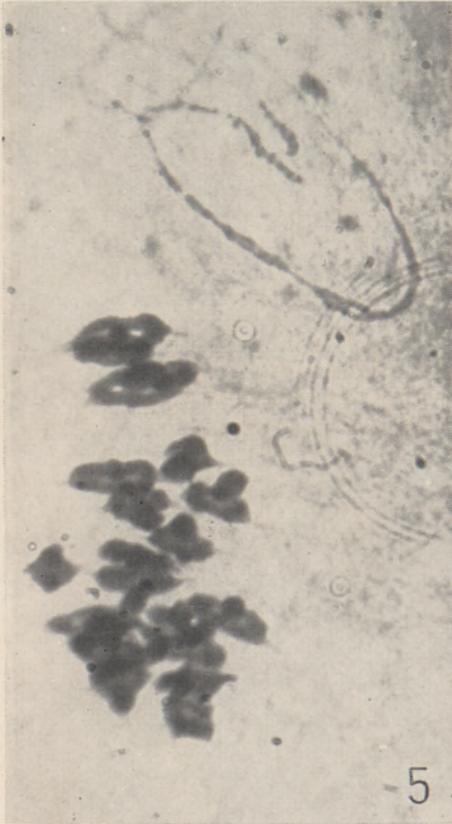


Рис. 4—6. Биваленты хромосом, число которых равно норме ( $21_{II}$ ) или превышает ее, и нити лептонемных-зигонемных хромосом в метафазе I.

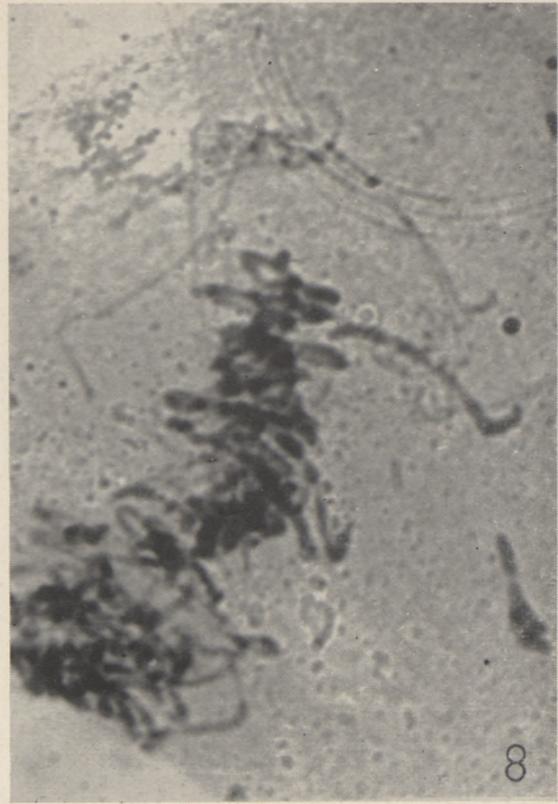
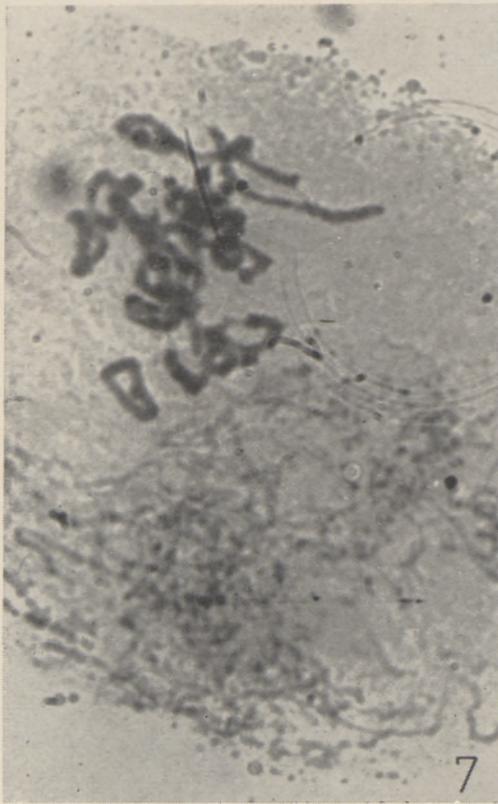


Рис. 7—8. Фрагментация и слипание в различной степени спирализованных хромосом в метафазе I.

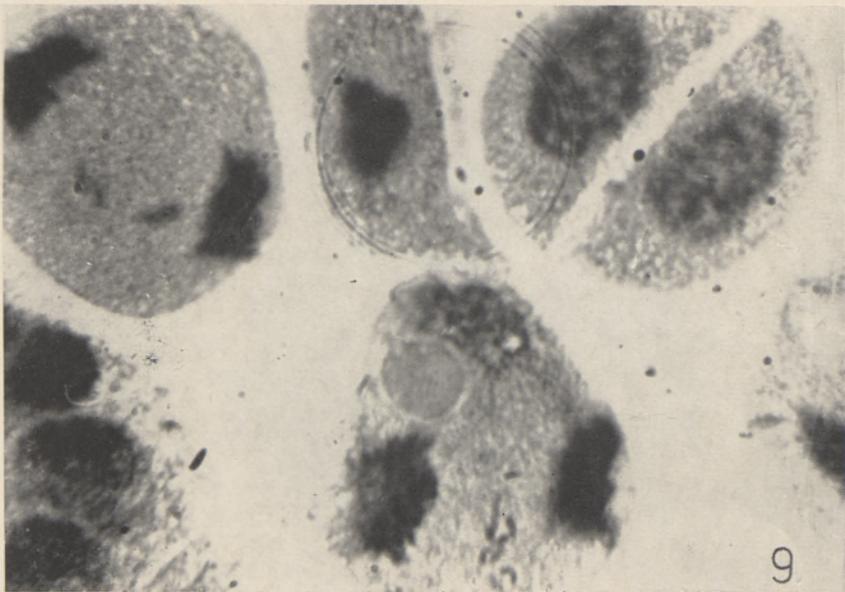


Рис. 9. Анафаза I с отстающими хромосомами и трехполюсная анафаза I с профазным ядрышком и отстающими хромосомами.

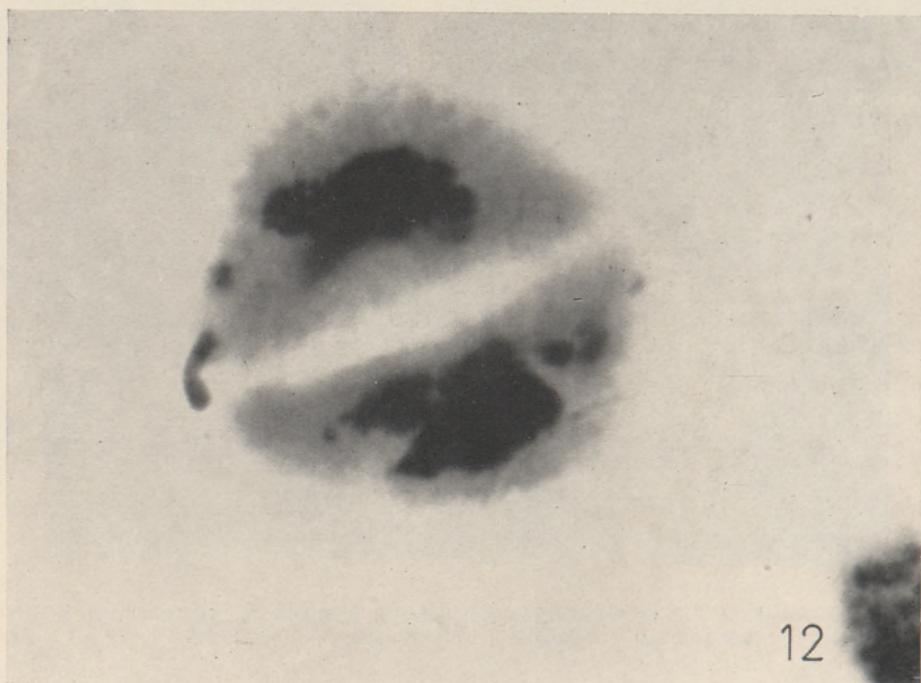
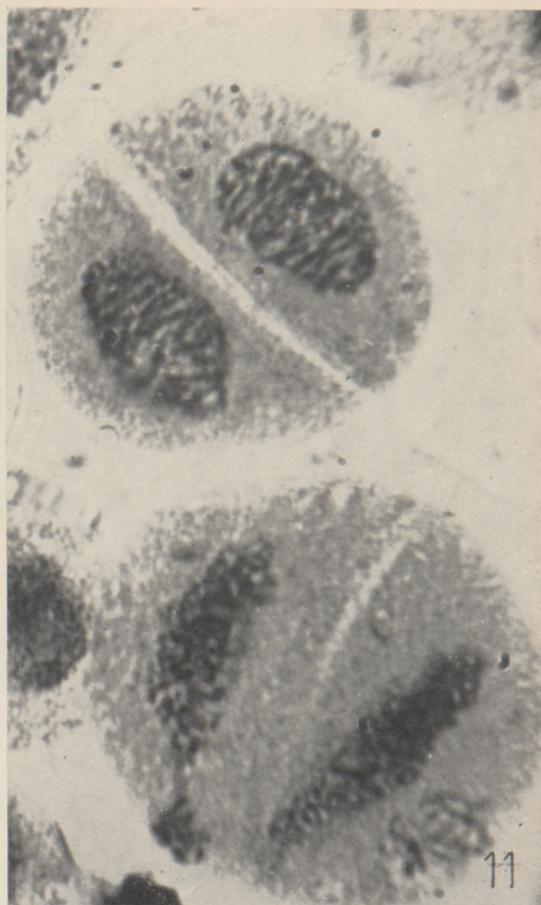
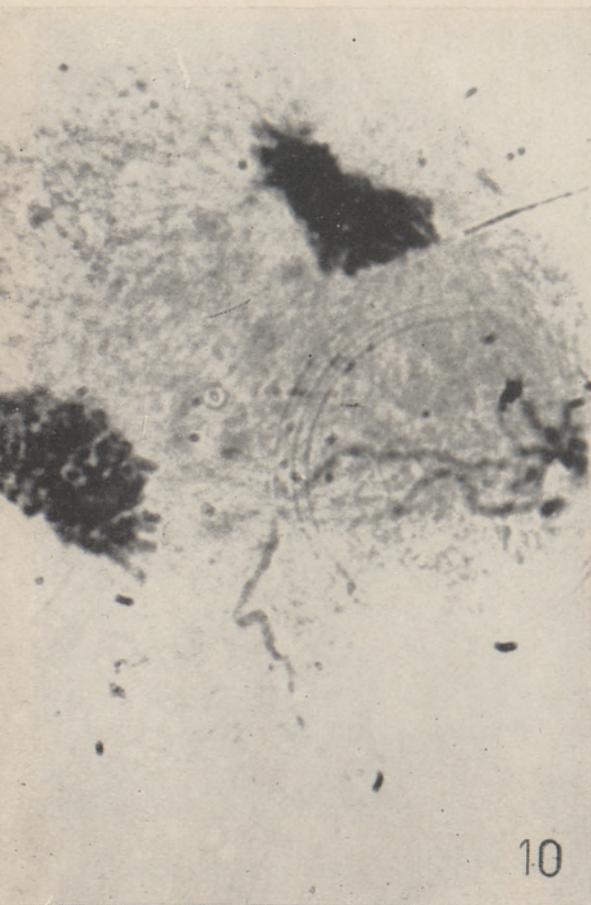


Рис. 10. Анафаза I со слабо спирализованной хроматиновой нитью.  
Рис. 11—12. Диады с микроядрами, фрагментами и нитями хроматина.

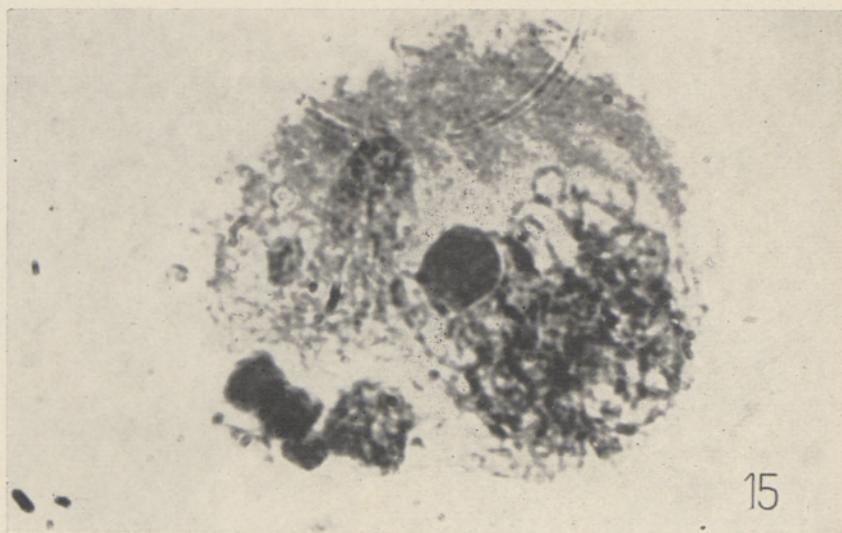
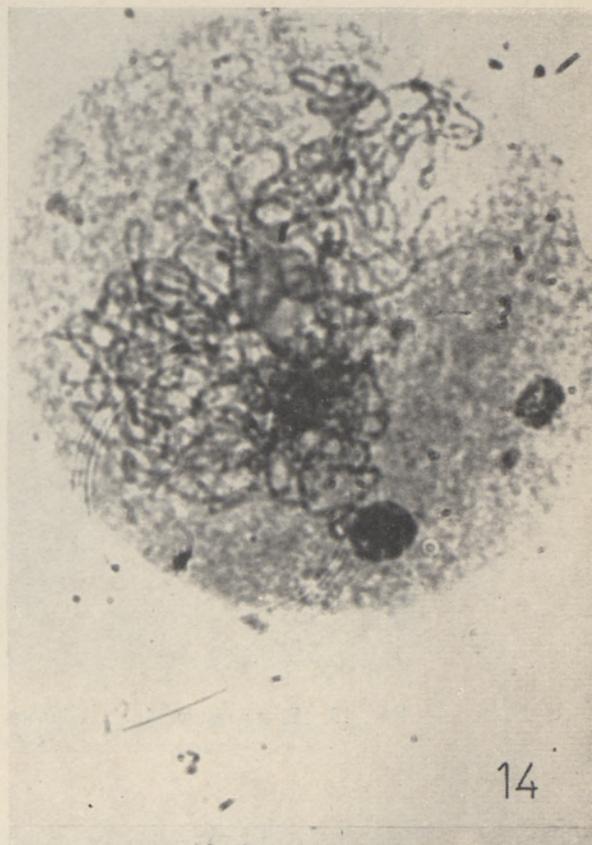
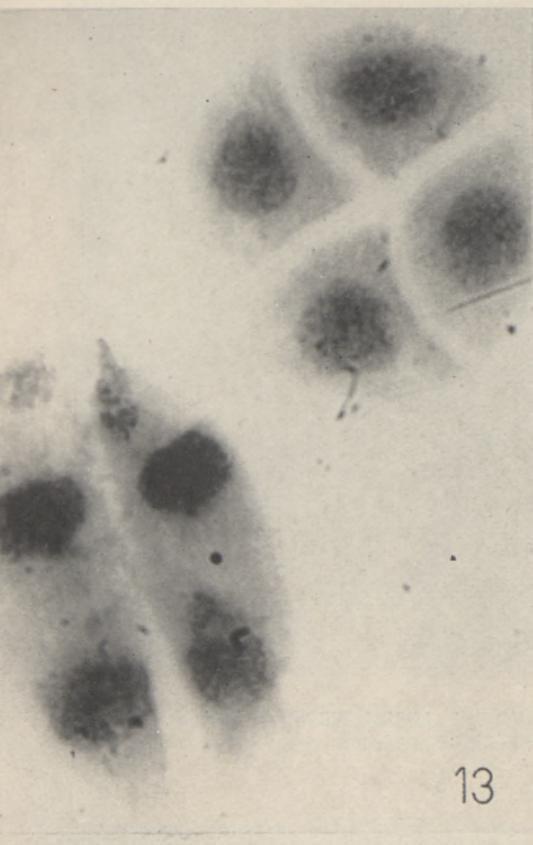


Рис. 13. Нормальная тетрада микроспор и телофаза II с микроядрами.  
Рис. 14—15. Гомогенные скопления хроматина в профазе I.

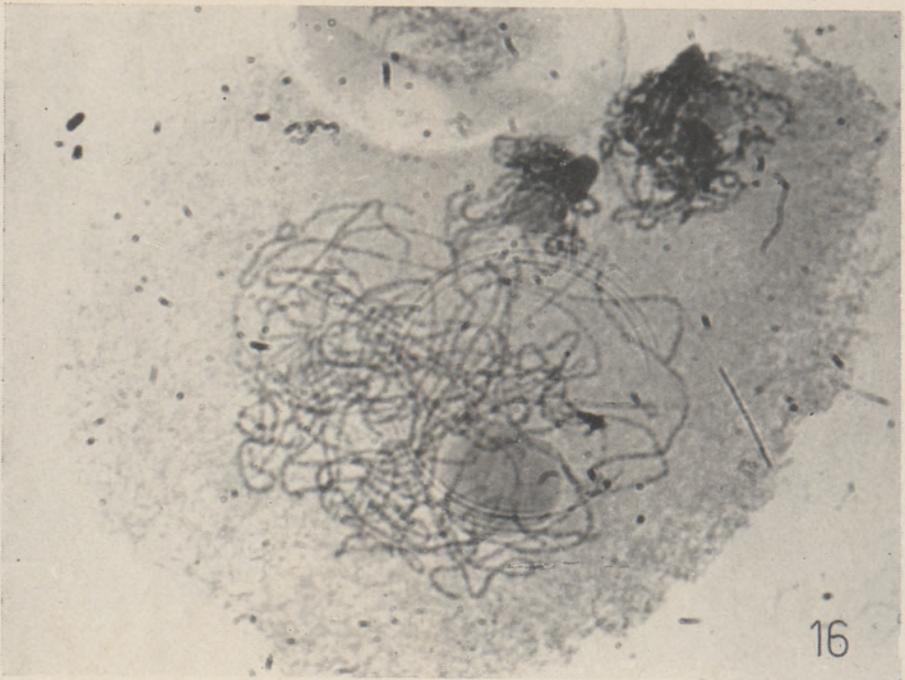


Рис. 16. В профазе I у оболочки клетки видны хромосомные клубки с ядрышками.

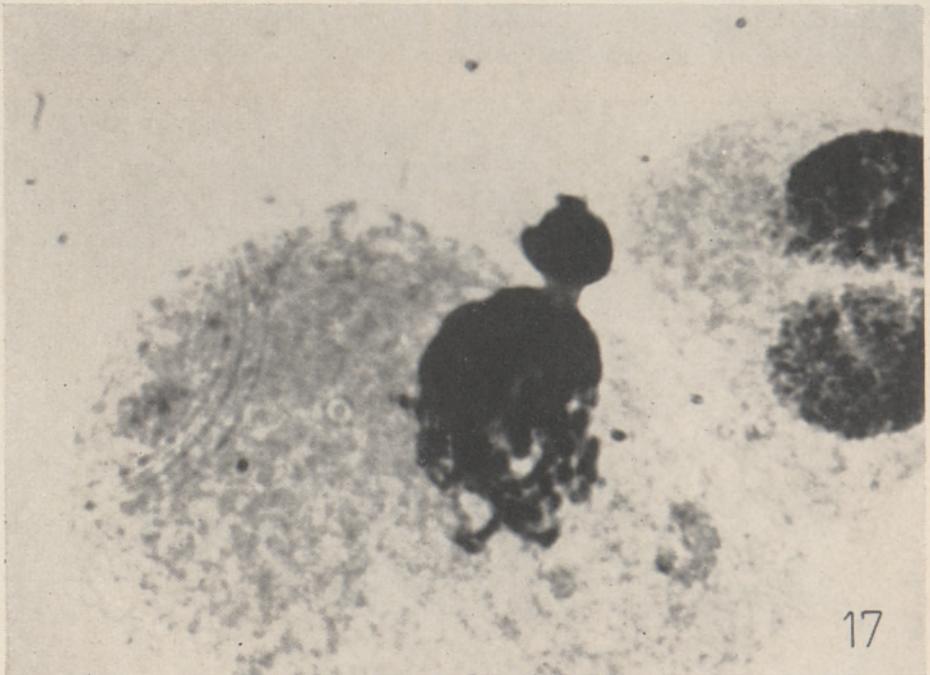


Рис. 17. Экструзия хроматина из цитоплазмы материнской клетки пыльцы.

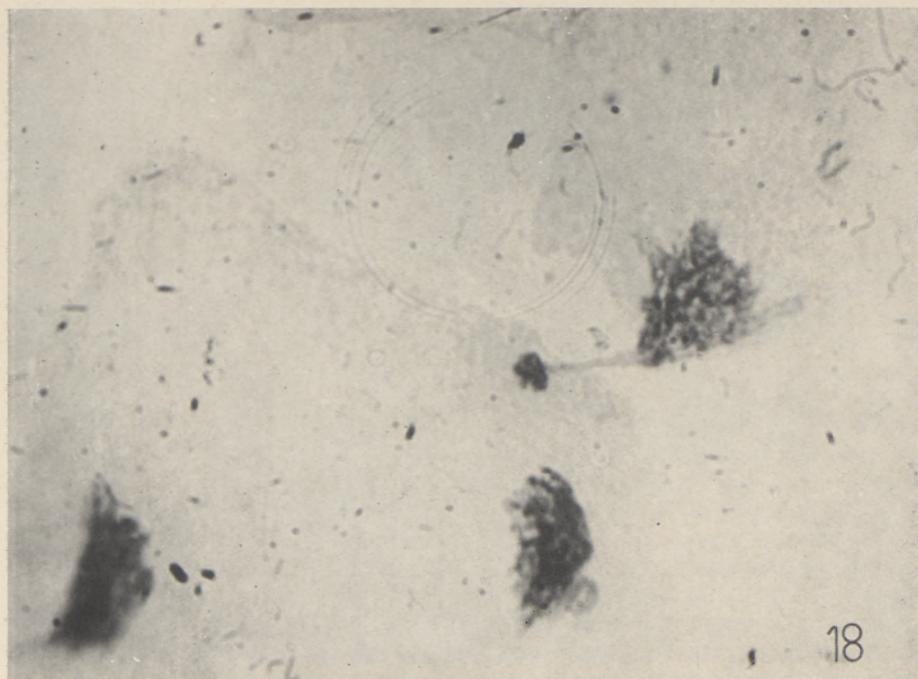


Рис. 18. Материнские клетки пыльца соединены цитоплазматическим каналом, через который часть хроматина мигрировала из одной клетки в другую.



Рис. 19. Перемещение метафазных хромосом из одной материнской клетки пыльца в другую (цитомиксис?).



Рис. 20. Перемещение метафазных хромосом из одной материнской клетки пыльцы в другую (цитомиксис?).

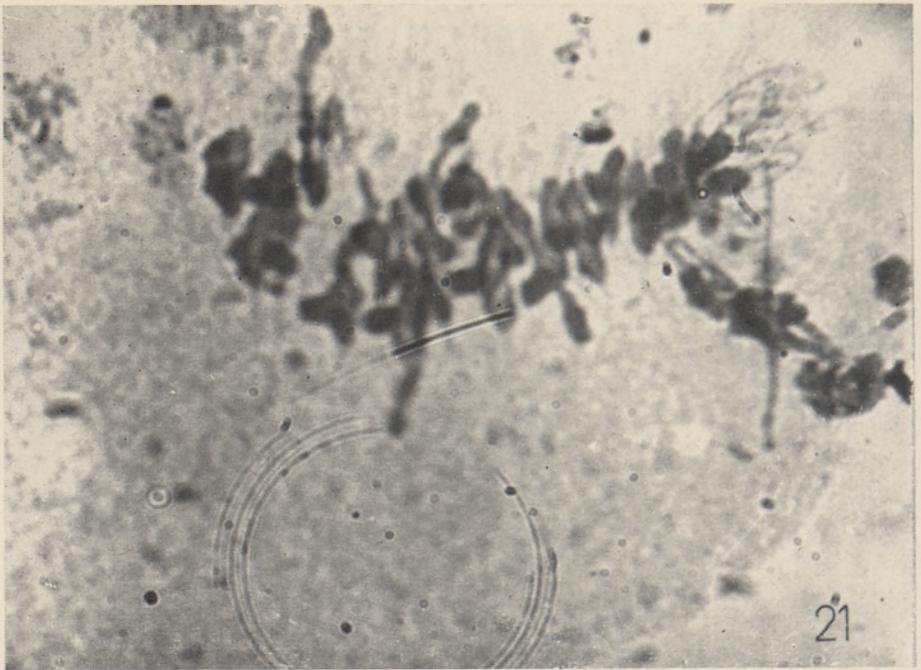


Рис. 21. Различная степень спирализации хромосом в метафазе I.

жении более полувека под названием цитомиксиса (перехода хроматинового вещества перед началом и во время мейоза из ядра одной материнской клетки пыльцы через цитомиктические каналы в цитоплазму другой клетки), однако до сих пор не ясны причины, обуславливающие этот процесс, и ему не дано достаточно убедительного объяснения.

Явление экстррузии хроматина и цитомиксиса сравнительно широко распространено в растительном мире и его связывают с гетерогенностью — различной степенью физиологической активности материнских клеток пыльцы, которые, как показано светомикроскопическими исследованиями, тесно связаны между собой цитоплазматическими каналами и тяжами таким образом, что вся спорогенная ткань в гнезде пыльника представляет собой как бы один гигантский ценоцит (Takats, 1959; Kamra, 1960; Cheng Kuo-chang и др., 1964; Миляева, 1965; Weiling, 1965; Tarkowska, 1966; Heslop-Harrison, 1966a, б; Baquar, Afaq Husain, 1969; Ключарева, 1970). Некоторые из этих авторов считают, что микроспороциты наиболее тесно связаны между собой многочисленными цитоплазматическими каналами на стадии профазы, к концу мейоза число каналов, пронизывающих каллозную оболочку материнских клеток пыльцы, значительно снижается. Этот факт дал основание Хеслоп-Харрисону предположить, что неудачные попытки культивирования изолированных материнских клеток пыльцы, находящихся на ранних стадиях их развития, *in vitro*, объясняются именно их тесной взаимосвязью в этот период.

Следует отметить, что мнения исследователей относительно того, считать ли цитомиксис и экстррузию ядерного вещества в соседние клетки нормой или патологией, расходятся.

Несомненно, что усложнение картин мейоза, отмечаемое у пшенично-ржаных, пшенично-эгилопных и пшенично-пырейных гибридов, в некоторой степени обусловлено процессом цитомиксиса, хотя некоторые исследователи полагают, что наблюдаемые явления являются следствием обособления геномов разных видов или же результатом асинопсиса, обусловленного генной несбалансированностью и отсутствием родственных геномов у скрещиваемых видов растений (Marshall, Schmidt, 1954; Шкутина, 1969, 1971; Петрова, 1970; Pieritz, 1970; Романов, Орлова, 1971 и др.).

Ядра и их части, мигрировавшие из одной материнской клетки пыльцы в другую, в дальнейшем, по-видимому, дегенерируют, но высказываются предположения, что в некоторых случаях цитомиксис может быть одной из причин анеуплоидии (Kamra, 1960; Baquar, Afaq Husain, 1969; Романов, Орлова, 1971).

Статичность картин, получаемых при наблюдении мейоза на фиксированном материале, позволяет нам лишь с оговорками сделать предположение, что в гибридном потомстве, полученном от скрещивания мутанта с исходным сортом, и в меньшей степени у исходного сорта 'Норрэна' мы имеем дело с последствиями цитомиксиса — миграцией в различной степени спирализованного хроматинового вещества из одних материнских клеток пыльцы в соседние на разных стадиях мейоза (рис. 16—20). По-видимому, не исключена возможность и того, что наряду с цитомиксисом в ходе мейоза может происходить нарушение синхронности спирализации хромосом. Так, например, в метафазе рядом с нормальными бивалентами и мультивалентами были отмечены открытые биваленты с разной степенью конденсации хроматина и тонкие хроматиновые нити (рис. 21).

В отношении изменений, полученных у пшеницы 'Норрэна' под действием обработки нитрозометилмочевинной, можно допустить, что они обусловлены хромосомными перестройками типа инверсий, дупликаций

или делеций, однако более определенный вывод может быть сделан только после проведения теста на аллелизм и моносомного анализа. Значительно большая, чем в контроле, частота нарушений у гибридного потомства может служить подтверждением высказанного предположения относительно природы полученной доминантной мутации.

Отмеченная у сорта 'Норрэна' мейотическая нестабильность, видимо, является сортовым признаком и в ее основе могут лежать генетически контролируемые процессы асинопсиса или десинапсиса (Моррис, Сирс, 1970). Возможно, что определенную роль играет и гибридное происхождение сорта 'Норрэна', полученного от скрещивания финского сорта 'Апу' с норвежским сортом 'Фрам II'.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Ключарева М. В., 1970. Экструзия и цитомиксис в материнских клетках пыльцы ячменя. Ж. общей биологии 31 (5) : 615—619.
- Миляева Э. Л., 1965. К вопросу о цитомиксисе в процессе микроспорогенеза. Бюл. Главного ботанического сада АН СССР 59 : 53—59.
- Моррис Е. Р., Сирс Э. Р., 1970. Цитогенетика пшеницы и родственных форм. В кн.: Пшеница и ее улучшение. М. : 33—110.
- Петрова К. А., 1970. Особенности стерильности пшенично-элимусных гибридов первого поколения и возможности ее преодоления. В кн.: Отдаленная гибридизация и полиплоидия. М. : 58—77.
- Прийлинн О. Я., 1968. Действие супермутагенов — N-нитрозозтилмочевины и N-нитрозометилмочевины — на яровую пшеницу в  $M_1$ . В кн.: Мутационная селекция. М. : 249—251.
- Прийлинн С., Каск К., 1971. Устойчивость к ржавчине мутантных линий яровой пшеницы, индуцированных химическими мутагенами. Изв. АН Эст. ССР. Биол. 20 (3) : 250—254.
- Романов И. Д., Орлова И. Н., 1971. Цитомиксис и его последствия в микроспорочитах *Triticale*. Генетика 7 (12) : 5—13.
- Шкутина Ф. М., 1969. Цитогенетический анализ 42-хромосомных пшенично-ржаных амфидиплоидов. Генетика 5 (11) : 16—29.
- Шкутина Ф. М., 1971. Влияние геномов ржи и пырея на цитогенетическую стабильность пшенично-ржаных и неполных пшенично-пырейных амфидиплоидов. В кн.: Цитогенетика пшеницы и ее гибридов. М. : 222—242.
- Vaquar S. R., S. Afaq Husain, 1969. Cytoplasmic channels and chromatin migration in the meiocytes of *Arnebia hispidissima* (Sieb.) DC. Ann. Bot. 33 (132) : 821—831.
- Cheng Kuo-chang, Nieh Hsiu-wan, Yang Chi-lan, Wang I-hsiu, 1964. Chromatin extrusion in pollen mother cells in relation to mechanical injury and fixing fluids during microsporogenesis. Acta bot. sinica 12 (4) : 289—303.
- Heslop-Harrison J., 1966a. Cytoplasmic connexions between angiosperm meiocytes. Ann. Bot. N. S. 30 (118) : 221—230.
- Heslop-Harrison J., 1966b. Cytoplasmic continuities during spore formation in flowering plants. Endeavour 25 (95) : 65—72.
- Kamra Om P., 1960. Chromatin extrusion and cytomixis in pollen mother cells of *Hordeum*. Hereditas 46 (3—4) : 592—600.
- Marshall H. G., Schmidt J. W., 1954. A study of the meiotic stability of certain *Agrotriticum* hybrids. Agron. J. 46 (8) : 383—388.
- Pieritz W. J., 1970. Elimination von Chromosomen in amphidiploiden Weizen-Roggen-Bastarden (*Triticale*). Z. Pflanzenzücht. 64 (1—2) : 90—109.
- Takats Stephen T., 1959. Chromatin extrusion and DNA transfer during microsporogenesis. Chromosoma (Berl.) 10 (4) : 430—453.
- Tarkowska J., 1966. Experimental analysis of the mechanism of cytomixis. II. Cytomixis in the pollen mother cell of the lily — *Lilium candidum* L. Acta Soc. Bot. Polon. 35 (1) : 25—40.
- Weiling F., 1965. Licht- und elektronenmikroskopische Beobachtungen zum Problem der Cytomixis sowie ihrer möglichen Beziehung zur Potocytosi Untersuchungen bei *Cucurbita*-Arten und *Lycopersicum esculentum*. Planta (Berl.) 67 : 182—212.

TAMARA SNAIDER, JUTA PÄRDI

### MIKROSPOROGENEESI HÄIRETEST TALINISU MUTANDI JA LÄHTESORDI RISTAMISEL SAADUD HÜBRIIDSES PÖLVKONNAS

#### Resüme

Uuriti mikrosporogeneesi talinisuordil 'Norröna' ja  $F_1$  hübriidil, mis saadi nitroosometüülkarbamiidiga (konts. 0,006%) indutseeritud  $M_5$  mutandi ristamisel lähtesordiga. Tsütogeneetiline analüüs näitas, et meioosi faasides — profaasist kuni tetraadide moodustumiseni — esineb häiretega (univalentidega, multivalentidega, sildadega, fragmentidega, mahajäänud kromosoomidega ja asünkroonse jagunemisega) mikrosporotsüüte hübriidil tunduvalt rohkem kui lähtesordil 'Norröna'. Peale nende kõrvalekaldumiste täheldati mikrosporotsüütide tsütoplasmas rohkem või vähem spiraliseerunud peeni kromatiiniite, mis morfoloogiliselt sarnasid profaasi algstaadiumi kromosoomidega. Hübriidil esinesid sellised anomaaliad paljudes tolmukates tunduvalt sagedamini kui lähtesordil. Seda nähtust võib seostada tsütomiksise, s. o. meioosi kestel või enne selle algust toimuva kromatiinaine migratsiooniga ühest mikrosporotsüüdist läbi tsütomiktliste kanalite teise raku tsütoplasmasse. Nitroosometüülkarbamiidi toimel nisul 'Norröna' tekkinud muutused on ilmselt tingitud kromosoomi aberratsioonidest.

Eesti NSV Teaduste-Akadeemia  
Eksperimentaalsbioloogia Instituut

Toimetusse saabunud  
4. IV 1972

TAMARA SHNAIDER, JUTA PÄRDI

### ABOUT SOME ABNORMALITIES OF MICROSPOROGENESIS IN THE HYBRID PROGENY RECEIVED FROM CROSSING BETWEEN INDUCED IN SPRING WHEAT MUTANT AND THE ORIGINAL VARIETY

#### Summary

A cytogenetical analysis was undertaken to study microsporogenesis in pollen mother cells of spring common wheat variety 'Norrena' and hybrid progeny  $F_1$  received from crossing between mutant  $M_5$  (induced in the variety 'Norrena' by nitrosomethylurea treatment in a concentration of 0.006%) and the original variety. The cytogenetical investigation of meiosis revealed that on the subsequent phases of meiotic division — from prophase I to microspore formation — the proportion of pollen mother cells with abnormalities (univalents, multivalents, bridges, fragments, lagged chromosomes, asynchronous division and micronuclei) in the hybrid material was significantly higher than in the control one. In addition to these disturbances in the cytoplasm of pollen mother cells, prophase-like chromatin threads were observed at various meiotic stages in many anthers of hybrid, and more seldom — in the 'Norrena' variety. The phenomenon considered is probably the result of cytomixis-migration and transfer of nuclear material from one pollen mother cell to an adjacent cell. The cause of mutation induced in the variety 'Norrena' by nitrosomethylurea treatment may be chromosomal aberrations of different types.

Academy of Sciences of the Estonian SSR,  
Institute of Experimental Biology

Received  
April 4, 1972