

УДК 575:634. 723.1

**ПЕРВЫЙ ГАПЛОИДНЫЙ МИТОЗ В ПЫЛЬЦЕВОМ ЗЕРНЕ У
ПОЛИПЛОИДНЫХ ФОРМ СМОРОДИНЫ ЧЕРНОЙ**

Фролова Любовь Алексеевна

кандидат биологических наук, доцент

oks.kh@rambler.ru

Петрищева Любовь Петровна

заместитель директора

dekbiol.michgpi@yandex.ru

Золотова Ольга Михайловна

заведующий кафедрой

zolotova.olga1@mail.ru

Попова Екатерина Евгениевна

кандидат сельскохозяйственных наук, заместитель директора

dekbiol.michgpi@yandex.ru

Федулова Юлия Александровна

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

yulia_fed@mail.ru

Мичуринский государственный аграрный университет

г. Мичуринск, Россия

Аннотация. Статья посвящена изучению первого гаплоидного митоза у автотриплоидных форм смородины черной, анализу числа хромосом в пыльце, выявлению автотриплоидных форм, склонных к образованию сбалансированных эуплоидных пыльцевых зерен.

Ключевые слова: автотриплоиды, первый гаплоидный митоз, анеуплоидная пыльца, сбалансированные гаплоидные и диплоидные пыльцевые зерна.

Введение

Общеизвестно, что широкое использование автотетраплоидов, индуцированных с помощью колхицина у многих культурных растений, существенно ограничивается понижением их продуктивности (фертильности). Искусственные полиплоиды в большинстве случаев образуются в вегетативной фазе, в результате действия колхицина на делящиеся соматические ткани растений, что приводит к нарушению расхождения хромосом и образованию клеток с удвоенным набором хромосом, тогда как естественные полиплоиды образуются во время процесса оплодотворения, от слияния нередуцированных гамет, спонтанно возникших у растений в результате специфических отклонений в мейозе. В последнее время изучение триплоидных растений приобретает все более практическое значение для селекции мейотических полиплоидов, более плодовых чем колхиполиплоиды [1, 2, 5, 6, 8].

Впервые автотриплоиды в роде *Ribes* были получены в Швеции [10], но никаких сведений об особенностях этих форм нет. Автотриплоидные формы смородины черной, изучаемые в нашей работе, были выделены в семенном потомстве колхитетраплоидов *So* в условиях их свободного переопыления с диплоидами. В имеющихся немногочисленных работах [4, 9] приводятся данные по морфобиологическому описанию и сведения по мейозу при микроспорогенезе полученных триплоидных форм смородины черной. Вместе с тем отсутствует характеристика микрогаметогенеза, не выявлены индивидуальные уровни частот образования различных типов гамет у отдельных триплоидных растений, не вскрыты закономерности формообразовательного процесса у триплоидных форм, не установлены эффективные пути целенаправленного получения автотриплоидных форм у *R. nigrum*.

С целью выяснения вопроса, в какой степени различные нарушения мейоза оказывают влияние на образование пыльцевых зерен с теми или иными числами хромосом, а также для определения уровня частот встречаемости 16-ти хромосомных пыльцевых зерен у различных триплоидных растений, нами

были изучены некоторые особенности микрогаметогенеза у автотриплоидов *R. nigrum*.

Методика исследования

Для определения морфологической полноценности пыльцы использовали ацетокарминовый метод. Цитологические исследования проводили по методике автора [7]. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили по методике [3].

Основная часть

У автотетраплоидов смородины черной пыльца характеризуется высокой степенью неоднородности и стерильности. Анализ морфологической полноценности пыльцы у автотриплоидов обнаружил, что их пыльца окрашивается ацетокармином на 52,80 – 69,76 %, но очень плохо прорастает на искусственной питательной среде, жизнеспособность варьирует от 1,84 до 6,80 %. Причины низкой жизнеспособности пыльцы, как показало изучение мейоза, связаны с большими отклонениями от нормы в поведении хромосом и образованием гамет с несбалансированными числами хромосом. Значительное присутствие в МІ триплоидов уни- и тривалентов, после взаимной коориентации центромеров последних в прометафазе мейоза (триплоидам смородины черной свойственны линейная и конвергентная ориентации центромеров в плоскости метафазной пластинки), приводит на стадии АІ к численно неравномерному расхождению хромосом к полюсам и возникновению большого разнообразия типов их распределения. В среднем по группе триплоидов, чаще других встречалось распределение хромосом типа “11 и 13” (34,62%), несколько реже “12 и 12” (22,16%), остальные сочетания хромосом довольно редки. Как показали наши исследования в АІ на одном из полюсов никогда не бывает меньше 8 и больше 16 хромосом, это указывает на правильное распределение к полюсам гомологичных хромосом двух геномов, тогда как случайное распределение третьего генома приводит к возникновению гамет с числом хромосом от 8 до 16. При изучении типов расхождения хромосом в АІ нас в первую очередь интересовал вопрос о возможности и

частоте образования в АІ дочерних пластинок из 8 и 16 хромосом. Распределение хромосом типа “ x и $2x$ ” (8 и 16), при котором хромосомы третьего гаплоидного набора полностью отходят к одному из полюсов, мы наблюдали у всех изученных триплоидов, но с различной частотой – меньше у триплоида 10-1 (3,82%) и более чем в 2 раза больше у триплоидных форм 10 -5 (8,71%) и 10-9 (8,83%). Анализ мейозии на стадии ТІІ показал, что 68,99% МКМ триплоидов состоит из 5-12 ядер. Самым распространенным типом нарушений в ТІІ, как мы и ожидали, являются гексады, т.е. клетки с 6 ядрами разного размера (в среднем 37,52%). Это находится в полном соответствии с данными ТІ и МІІ, где был отмечен высокий процент МКМ с тремя ядрами и тремя метафазными пластинками.

У триплоидов образование тетрад идет по симультанному типу. Расположение микроспор в тетрадах- тетраэдральное, редко т-образное или линейное. Стадия тетрадогенеза характеризуется массовым образованием полиад (от 64,30 до 74,69 %). У триплоидов микроядра, образовавшиеся на стадии тетрад, не включаются в качестве дополнительных ядер в микроспоры, а отделяются клеточной перегородкой, образуя самостоятельные микроспоры, число которых варьирует в полиадах от 5 до 12. Полиады триплоидов состоят из различных по величине и хромосомному составу ядер.

При изучении первого гаплоидного митоза у триплоидов смородины черной действительно было обнаружено большое количество различных типов гамет, имеющих все промежуточные числа хромосом- от 8 до 16. Этому способствовали и нарушения, отмеченные в ходе первого митоза, а именно: отставание хромосом в анафазном движении, выбросы в цитоплазму на стадии МІ. Довольно часто попадались пыльцевые зерна, где происходил лизис выброшенных за пределы экваториальной пластинки хромосом и они были видны в виде “теней”. Элиминация унивалентных хромосом, а также нарушения в МІ и АІ являются дополнительным источником возникновения анеуплоидных гамет у автотриплоидов. Помимо отклонений в ходе первого гаплоидного митоза были отмечены различные аномалии в морфологии

пыльцы: наличие отставших в развитии и дегенирирующих пыльцевых зерен, присутствие мелкой пыльцы типа Lobed.

Анализ числа хромосом в метафазе первого гаплоидного митоза обнаружил у триплоидов наряду с эуплоидной пылью наличие большого количества анеуплоидной пыльцы с различными числами хромосом, образование которых очевидно обусловлено хаотичным распределением хромосом третьего генома к полюсам в AI, а также другими отклонениями от нормы в ходе мейоза. Спектр наблюдаемых пыльцевых зерен у автотриплоидов смородины черной заключен в пределах $X + (1-7)$. Наиболее часто встречающимися типами анеуплоидных пыльцевых зерен являются: $n=10, n=12, n=15$. По количеству анеуплоидной пыльцы триплоиды довольно сильно отличаются друг от друга, больше такой пыльцы наблюдали у триплоида 10-1 (96,07%), меньше у форм 10-5 (90,72%) и 10-9 (90,30%). Различия между триплоидами по процентному содержанию анеуплоидной пыльцы обусловлены неодинаковой степенью нарушения мейоза.

К группе сбалансированных эуплоидных пыльцевых зерен у триплоидов относятся два типа: 1) гаплоидные ($n=x=8$); 2) диплоидные ($n=2x=16$). Возникновение 8 и 16 хромосомных пыльцевых зерен по-видимому связано с таким распределением хромосом в AI, когда к одному из полюсов отходят вместе хромосомы двух геномов, а к другому - хромосомы третьего генома. При этом, как было нами установлено, каждый триплоид характеризуется довольно определенным для него уровнем частоты образования диплоидных и гаплоидных пыльцевых зерен. Так, у триплоида 10-1 наблюдали 3,93% 8-ми и 16-ти хромосомных пыльцевых зерен, тогда как у форм 10-5 и 10-9 количество таких пыльцевых зерен оказалось выше в три раза, соответственно 9,28% и 10,70%. На наш взгляд, это обусловлено генетическими различиями между триплоидами, что указывает на существование генетического контроля поведения хромосом в мейозе, поэтому возможно выделение среди триплоидов генотипов с определенным характером поведения хромосом в мейозе, в частности таких генотипов триплоидов, у которых имеется высокая

индивидуальная склонность к образованию диплоидных пыльцевых зерен, с целью вовлечения их в валентные скрещивания для получения плодовых мейотических тетраплоидов.

Заключение

1. Изучение микрогаметогенеза при микроспорогенезе у автотриплоидных форм смородины черной обнаружило в их пыльце большое количество различных типов гамет с чрезвычайно разнообразными наборами хромосом- от $n=8$ до $n=16$, что обусловлено случайным распределением 8-ми хромосом третьего генома, а также различными отклонениями от нормы в ходе мейоза, имеющие место на всех его стадиях.

2. Выявлено, что низкая жизнеспособность пыльцы триплоидов связана с высоким содержанием анеуплоидных пыльцевых зерен, достигающих у отдельных форм 96,07 %.

3. Установлено, что уровни частот образования эуплоидной пыльцы строго специфичны для каждого триплоидного генотипа. Выделены формы 10-5(9,28%) и 10-9(10,70), детерминирующие высокую частоту образования диплоидных гамет, что позволяет использовать их в валентных скрещиваниях для целенаправленной, от заведомо известных родителей, селекции мейотических тетраплоидов.

Список литературы:

1. Дубровский, М.Л. Оптимизация углеводного состава питательной среды для проращивания *in vitro* пыльцы яблони / М.Л. Дубровский, Р.В. Папихин, А.В. Кружков // Наследие академика Н.В. Цицина. Современное состояние и перспективы развития: сборник статей Всероссийской научной конференции с международным участием, посвященной 120-летию Н.В. Цицина, 2019. - С. 45-47.

2. Изучение проращаемости пыльцы генотипов яблони в условиях моделируемого температурного стресса / Р.В. Папихин, М.Л. Дубровский, Н.Л.

Чурикова, А.В. Кружков // Коняевские чтения: сборник научных трудов VII Международной научно-практической конференции. - 2020. - С. 150-152.

3. Лакин, Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. - М.: Просвещение, 1973. - С. 231-235.

4. Особенности протекания цитомиксиса у полиплоидных форм смородины чёрной / Л.А. Фролова, Л.П. Петрищева, О.М. Золотова [и др.] // Сб.: Актуальные проблемы образования и воспитания: интеграция теории и практики: материалы Национальной контент-платформы. – Мичуринск, 2019. - С. 236-239.

5. Разработка методов повышения плодовитости у колхицинированных тетраплоидов смородины черной / Л.А. Фролова, Л.П. Петрищева, О.М. Золотова, Т.А. Шиковец // Наука и Образование. - 2020. - Т. 3. - № 2. - С. 366. // Способ цитоанатомического изучения пыльцы растений с помощью люминесцентной микроскопии / М.Л. Дубровский, Р.В. Папихин, И.Б. Кирина [и др.] // Наука и Образование. - 2020. - Т. 3. - № 1. - С. 74.

6. Фролова, Л.А. Закономерности формообразованного процесса в потомстве от скрещивания разнохромосомных форм смородины чёрной / Л.А. Фролова, С.С. Демочкина, Т.В. Костырина // Наука и Образование. - 2018. - Т. 1. - № 3-4. - С. 49.

7. Фролова, Л.А. Изучение соматических и мейотических хромосом смородины на ацетогематоксилиновых давленных препаратах / Л.А. Фролова, С.В. Лучникова, Н.П. Чувашина // Бюллетень научной информации Центральной генетической лаборатории имени И.В. Мичурина. - 1975. - № 22. - С. 58-61.

8. Фролова, Л.А. Экспериментальное получение мейотических тетраплоидов с помощью валентных скрещиваний / Л.А. Фролова // Актуальные проблемы науки и образования: сборник статей по итогам научно-исследовательской и инновационной работы Социально-педагогического института ФГБОУ ВО Мичуринский ГАУ за 2017 год. - Мичуринск, 2017. - С. 243-245.

9. Цитологический анализ сеянцев от свободного опыления автотриплоидных форм смородины черной / Л.А. Фролова, Л.П. Петрищева, Н.В. Попенко [и др.]. - 2019. - Т. 2. - № 2. - С. 102.

10. Nilsson P. Amphidiploid species in the genus ribes.-rept XIV Internat. Hort. Cjbgr. Hoterlands, 1955. - p. 687.

UDC 575:634. 723.1

**FIRST HAPLOID MITOSIS IN A POLLEN GRAIN IN POLYPLOID
FORMS OF BLACK CURRANT**

Frolova Lyubov Alekseevna

Candidate of Biological Sciences, Associate Professor

oks.kh@rambler.ru

Petrishcheva Lyubov Petrovna

Deputy Director

dekbiol.michgpi@yandex.ru

Olga Mikhailovna Zolotova

Head of Department

zolotova.olga1@mail.ru

Popova Ekaterina Evgenievna

Candidate of Agricultural Sciences, Deputy Director

dekbiol.michgpi@yandex.ru

Fedulova Yulia Alexandrovna

Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor

yulia_fed@mail.ru

Michurinsk State Agrarian University

Michurinsk, Russia

Annotation. The article is devoted to the study of the first haploid mitosis in autotriploid forms of black currant, analysis of the number of chromosomes in pollen, identification of autotriploid forms prone to the formation of balanced euploid pollen grains.

Key words: autotriploid, first haploid mitosis, aneuploid pollen, balanced haploid and diploid pollen grains.