

УДК 634.22:576.354.4

## ОСОБЕННОСТИ МИКРОСПОРОГЕНЕЗА СЛИВЫ ДИПЛОИДНОЙ

**М.Н. Васильева, В.А. Матвеев**

РУП «Институт плодоводства»,

ул. Ковалева, 2, пос. Самохваловичи, Минский район, 223013, Беларусь,

e-mail: belhort@it.org.by

### РЕФЕРАТ

Цитологическое изучение процесса микроспорогенеза у сортообразцов сливы диплоидной позволит выявить характер и причины стерильности мужского гаметофита исследуемых образцов и даст возможность отбора генотипов, которые могут быть использованы в качестве родительских форм для дальнейшей селекции.

Установлены аномалии при формировании мужского гаметофита у внутривидовых гибридов сливы диплоидной, приводящие к неравномерному распределению генетического материала среди полюсов деления мейоцитов.

На всех стадиях мейоза проявлялись такие нарушения как: выброс синапсов (конъюгация гомологичных хромосом), выброс унивалентов (единичные, неконъюгировавшие хромосомы), забегание унивалентов, отставание одной или нескольких хромосом (преимущественно тех, которые в метафазе I находились в унивалентном состоянии), неравномерное расхождение хромосом, неравная величина ядер, образование микроядер, хромосомных мостов, большего и меньшего количества ядер, в большем количестве групп. Также наблюдали асинхронность деления в одном поле зрения.

Ключевые слова: микроспорогенез, стадии мейоза, хромосомы, слива диплоидная, типы нарушений, Беларусь.

### ВВЕДЕНИЕ

Создание высокоадаптивных сортов сливы с заданным сочетанием хозяйственно ценных признаков является одной из центральных проблем в селекции. Причём, важным путём совершенствования сортов является межвидовая гибридизация. Использование её в селекции сливы облегчается тем, что большинство видов сливы довольно легко скрещиваются между собой. Особенно эффективной оказывается гибридизация между диплоидными видами.

Систематическая научная работа по межвидовой гибридизации сливы начата в Беларуси В.А. Матвеевым в конце 60-х годов XX столетия. К тому времени коллекция сортов и форм насчитывала около 200 сортообразцов, в том числе более 40 сортообразцов сливы диплоидной. Успешная селекционная работа позволила впервые в Беларуси создать и включить в районированный сортимент высококачественные гибридные сорта диплоидной сливы.

В настоящее время в районированный сортимент сливы в Беларуси включено 9 сортов сливы диплоидной, большинство из которых имеют сложное межвидовое происхождение. Включение в геном новых сортов видов, таких как *Prunus cerasifera*, *Pr. salicina*, *Pr. ussuriens*, *Pr. pissardi*, *Pr. americana* и др., не могло не повлиять на формирование репродуктивных органов, а следовательно, и на продуктивность новых сортов [1, 2].

Одним из важнейших критических периодов полового размножения организмов является мейоз. Качество мужских гамет, а следовательно, и успешность оплодотворения у растений зависит от прохождения мейоза, нарушения которого могут привести к стерильности пыльцы и семян. Гибридная стерильность на генетическом уровне может быть обусловлена генными, хромосомными и цитоплазматическими причинами. Наиболее широко распространена обычно генная стерильность. Неблагоприятные сочетания генов родительских типов, принадлежащих к разным видам, могут приводить и действительно приводят к цитологическим отклонениям и нарушениям развития у гибридов, что препятствует образованию гамет [3, 4, 5, 6]. Районированный и перспективный сортимент гибридных сортов сливы диплоидной в Беларуси в этом плане не изучен.

## МЕТОДИКА, МАТЕРИАЛЫ И ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили в отделе селекции плодовых культур РУП «Институт плодоводства». Изучены цитологические особенности микроспорогенеза сортов сливы диплоидной Комета (Скороплодная х Пионерка), Асалода (Путешественница х 78-3/107) и гибрида 89-1/109 (*P. americana* х *P. cerasifera*).

Цитологические исследования проводили на временных давленных препаратах с фиксацией в сокращённой смеси Карнуа (3:1), и окрашиванием в ацетогематоксилине по методике Л.А. Топильской, С.В. Лучниковой, Н.П. Чувашиной [9]. Для определения начала мейоза в саду собирали цветковые почки в первой-второй декадах апреля, примерно в 10-12 часов, из которых вычленили пылинки и просматривали в капле ацетокармина. При обнаружении профазы в материнских клетках микроспор (МКМ) начинали фиксацию. С целью обнаружения всех фаз мейоза цветковые почки фиксировали по мере их развития в течение нескольких дней.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Нами установлено, что у всех исследуемых образцов, на самых ранних этапах микроспорогенеза профазы I, а именно зигонеме, хроматиновые нити гомологичных хромосом соединяются попарно. На этапе диакинеза все хромосомы конъюгируют друг с другом, в результате чего образуются униваленты. На данной стадии нарушений выявлено не было.

Первые и вторые фазы мейоза были обнаружены у материала, зафиксированного 7-8 апреля.

У сорта Асалода **метафаза I** (M I) мейоза в норме характеризуется строгой ориентацией центральных районов, объединенных в биваленты. Строго ориентированные и расположенные в экваториальной области микроспороцита биваленты составляют метафазную пластинку. Основные нарушения на этой стадии мейоза проявлялись в следующем: выброс синапсов (конъюгация гомологичных хромосом) – 3,8%, выброс унивалентов (единичные, некоъюгировавшие хромосомы) – 3,1%, забегание унивалентов –

6,2% (таблица 1). Нарушения мейоза в **анафазе I** (А I) проявлялись в отставании одной или нескольких хромосом (преимущественно тех, которые в метафазе I находились в унивалентном состоянии) – 6,5%, выбросе хромосом – 6,5%, забегании хромосом – 6,5%, в неравномерном расхождении хромосом – 8,6%, а также в образовании хромосомных мостов – 4,3%. В **телофазе I** (Т I) выявлено такое нарушение как образование микроядер – 7,1%.

Таблица 1 – Основные нарушения в фазах мейоза у сорта Асалода в процентном соотношении

Тип нарушений	Асалода					
	М I	А I	Т I	М II	А II	Т II
Выброс синапсов	3,8	-	-	-	-	-
Выброс унивалентов/хромосом	3,1	6,5	-	9,5	15,3	-
Отставание унивалентов/хромосом	-	6,5	-	-	2,5	-
Забегание унивалентов/хромосом	6,2	6,5	-	9,5	2,5	-
Хромосомный мост	-	4,3	-	-	-	-
Неравномерное расхождение хромосом	-	8,6	-	-	-	1,8
Образование микроядер	-	-	7,1	-	-	3,6
Большее количество групп	-	-	-	-	-	-
Большее количество ядер	-	-	-	-	-	0,6
Меньшее количество ядер	-	-	-	-	-	4,2
Неравная величина ядер	-	-	-	-	-	-

Если сравнивать количество нарушений на стадии анафаза I с таковыми на стадии **метафаза II** (М II), то у исследуемых образцов, как правило, наблюдается тенденция к увеличению этого показателя. Основным нарушением на этой стадии мейоза, как и в метафазе I, является наличие хромосом, не включённых в метафазные пластинки, выброс хромосом – 9,5%, забегание хромосом – 9,5%. Расхождение хромосом к полюсам во втором делении мейоза **анафаза II** (А II) сопровождается выбросом хромосом – 15,3% от всего просмотренных, отставанием хромосом – 2,5%, забеганием хромосом – 2,5%. На стадии **телофаза II** (Т II), кроме нормального формирования четырёх групп хромосом, отмечено в цитоплазме образование микроядер – 3,6%, наблюдали также большее (0,6%) и меньшее (4,2%) количество ядер, неравномерное расхождение ядер в цитоплазме – 1,8%. Также была отмечена асинхронность деления, в одном поле зрения наблюдали профазу I и телофазу II (рисунок 1).



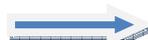
 - образование телофазы II  
 - стадия профазы

Рисунок 1 – Асинхронность деления у сорта Асалода.

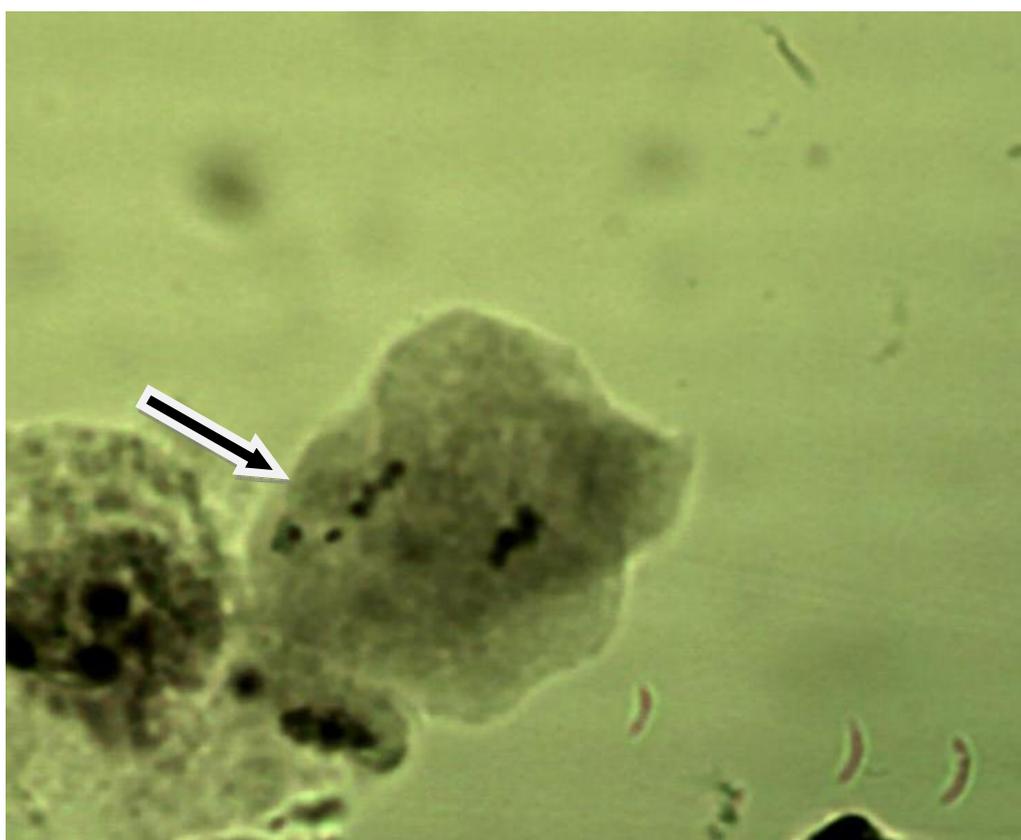
Первые и вторые фазы мейоза были обнаружены у материала, зафиксированного 9-10 апреля.

У сорта Комета в **метафазе I** было обнаружено такое нарушение как выброс синапсов – 13,4% (таблица 2). Нарушения мейоза в **анафазе I** проявлялись в отставании одной или нескольких хромосом (преимущественно тех, которые в метафазе I находились в унивалентном состоянии) – 16,6%, выбросе хромосом – 8,3% и неравномерном расхождении хромосом – 8,3% (рисунок 2). В **телофазе I** выявлено такое нарушение как образование микроядер – 3,1%.

Таблица 2 – Основные нарушения в фазах мейоза у сорта Комета в процентном соотношении

Тип нарушений	Комета					
	М I	А I	Т I	М II	А II	Т II
Выброс синапсов	13,4	-	-	-	-	-
Выброс унивалентов/хромосом	-	8,3	-	-	5,8	-
Отставание унивалентов/хромосом	-	16,6	-	-	5,8	-
Забегание унивалентов/хромосом	-	-	-	-	11,7	-
Хромосомный мост	-	-	-	4,0	-	-
Неравномерное расхождение ядер	-	8,3	-	-	5,8	-
Образование микроядер	-	-	3,1	-	-	3,3
Большее количество групп	-	-	-	-	-	-
Большее количество ядер	-	-	-	-	-	14,6
Меньшее количество ядер	-	-	-	-	-	1,1
Неравная величина ядер	-	-	-	-	-	3,3

Основное нарушение на стадии мейоза **метафаз II** проявилось в образовании хромосомных мостов – 4,0%. Расхождение хромосом к полюсам во втором делении мейоза (**анафаза II**) сопровождалось выбросом хромосом – 5,8%, отставанием хромосом – 5,8%, забеганием хромосом – 11,7%, неравномерным расхождением ядер в цитоплазме – 5,8%. На стадии **телофаза II**, кроме нормального формирования четырёх групп хромосом, отмечены такие нарушения как: образование микроядер в цитоплазме – 3,3%, наблюдали также большее (14,6%) и меньшее (1,1%) количество ядер, неравная величина ядер в материнских клетках микроспор (МКМ) – 3,3%. Также была отмечена асинхронность деления, в одном поле зрения наблюдали метафазу I и тетрадогенез.

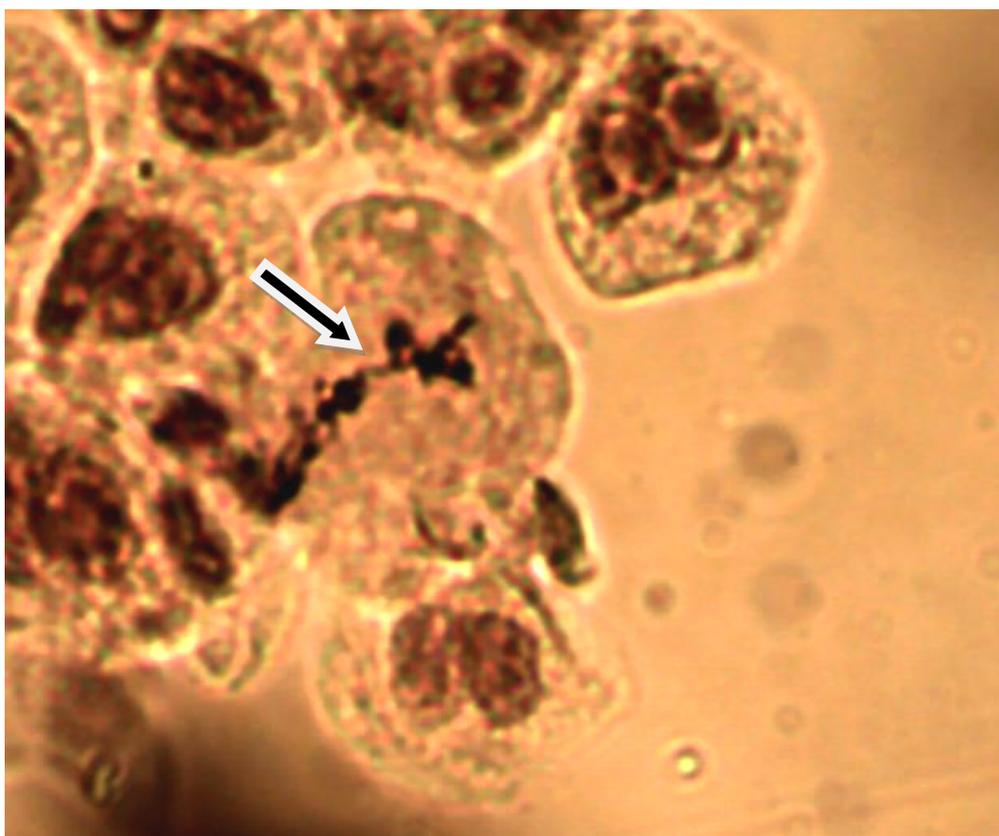


 - выброшенные хромосомы за пределы метафазной пластинки

Рисунок 2 – Выброс хромосом в анафазе I у сорта Комета.

Первые и вторые фазы мейоза были обнаружены у материала, зафиксированного 10-11 апреля.

У гибрида 89-1/109 основные нарушения на стадии **метафаза I** проявлялись в выбросе хромосом (конъюгация гомологичных хромосом) – 18,7%. Нарушения мейоза в **анафазе I** проявлялись в отставании одной или нескольких хромосом (преимущественно тех, которые в метафазе I находились в унивалентном состоянии) – 1,6%, выбросе хромосом – 10%, забегании хромосом – 3,3%, а также в образовании хромосомных мостов – 1,6% (рисунок 3).



➡ - хромосомный мост, расположенный между обоими полюсами клетки

Рисунок 3 – Хромосомный мост у гибрида 89-1-/109.

В **телофазе I** выявлено такое нарушение как образование микроядер – 28,5% (таблица 3).

Таблица 3 – Основные нарушения в фазах мейоза у гибрида 89-1/109 в процентном соотношении

Тип нарушений	89-1/109					
	М I	А I	Т I	М II	А II	Т II
Выброс синапсов	-	-	-	-	-	-
Выброс унивалентов/хромосом	18,7	10	-	-	9,0	-
Отставание унивалентов/хромосом	-	1,6	-	-	-	-
Забегание унивалентов/хромосом	-	3,3	-	3,3	9,0	-
Хромосомный мост	-	1,6	-	-	-	4,0
Неравномерное расхождение ядер	-	-	-	-	4,5	-
Образование микроядер	-	-	28,5	-	-	15,2
Большее количество групп	-	-	-	1,6	-	-
Большее количество ядер	-	-	-	-	-	-
Меньшее количество ядер	-	-	-	-	3,5	-
Неравная величина ядер	-	-	-	-	1,7	-

Основное нарушение на стадии мейоза **метафазы II** проявилось в забегании хромосом – 3,3% и в большем количестве групп – 1,6%. Расхождение хромосом к полюсам во втором делении мейоза (**анафаза II**) сопровождается выбросом хромосом – 9,0%,

забеганием хромосом – 9,0%, неравномерным расхождением ядер в цитоплазме – 4,5%, меньшим количеством ядер – 3,5%, неравной величиной ядер – 1,7%. На стадии **телофаза II**, кроме нормального формирования четырёх групп хромосом, отмечены нарушения в виде образования микроядер в плазме – 15,2%, также в образовании хромосомных мостов – 4,0%.

Исследование тетрадогенеза показало, что, несмотря на многочисленные аномалии на различных стадиях деления, формируются правильные тетрады, содержащие ядра одинакового размера. Однако у всех образцов наряду с правильными тетрадами формируются полиады. У сорта Асалода образование правильных тетрад составило 91,9%. Нарушения были следующими: образование триад – 5,7%, образование гексад – 2,4%. Образование триад может указывать на то, что на более ранних стадиях произошло неравномерное расхождение хромосом или образовалось меньшее количество ядер, гексады образовались в результате наличия большего количества ядер (таблица 4).

Таблица 4 – Основные нарушения в образовании тетрадогенеза у сортов Асалода, Комета и гибрида 89-1/109 в процентном соотношении

Основные нарушения в тетрадогенезе	Асалода	Комета	89-1/109
Дата фиксации	08.04.10	10.04.10	11.04.10
Образование: правильных тетрад	91,9	73,5	91,8
диад	-	1,2	-
триад	5,7	9,2	5,8
пентад	-	6,9	1,2
гексад	2,4	4,6	1,2
актад	-	4,6	-

У сорта Комета образование правильных тетрад составило 73,5%. Нарушения были следующими: образование диад – 1,2%, триад – 9,2%, пентад – 6,9%, гексад – 4,6%, актад – 4,6%.

У гибрида 89-1/109 образование правильных тетрад составило 91,8%. Нарушения были следующими: образование триад – 5,8%, пентад – 1,2%, гексад – 1,2%.

## ВЫВОДЫ

Проведённые цитологические исследования показали, что нарушения мейоза у сорта Асалода проявляются в выбросе (M I, A I), забегании (M I, A I, M II, A II) и отставании (A I, A II) хромосом, неравномерном расхождении ядер (A I, T II), в образовании: микроядер (T I, T II), большего и меньшего количества ядер (T II), хромосомных мостов (A I). Несмотря на выявленные аномалии на различных стадиях деления, формируются правильные тетрады – 91,9%, полиады – 8,1%. Нарушения, выявленные на всех стадиях деления, были обнаружены на материале, который был зафиксирован 7-8 апреля.

Нарушения мейоза у сорта Комета проявляются в выбросе (M I, A I), забегании (A II) и отставании (A I, A II) хромосом, неравномерном расхождении ядер (A I, A II), неравной величине ядер (T II), в образовании: микроядер (T I, T II), большего и меньшего количества ядер (T II), хромосомных мостов (M II). Несмотря на выявленные аномалии на различных стадиях деления, формируются правильные тетрады – 73,5%, полиады – 26,5%. Нарушения, выявленные на всех стадиях деления, были обнаружены на материале, который был зафиксирован 9-10 апреля.

Нарушения мейоза у гибрида 89-1/109 проявляются в выбросе (М I, А I, А II), забегании (А I, М II, А II) и отставании (А I) хромосом, неравномерном расхождении ядер (А II), неравной величине ядер (А II), в образовании: микроядер (Т I, Т II), большего количества групп (М II), меньшего количества ядер (А II), хромосомных мостов (А I, Т II). Несмотря на выявленные аномалии на различных стадиях деления, формируются правильные тетрады – 91,8%, полиады – 8,2%. Нарушения, выявленные на всех стадиях деления, были обнаружены на материале, который был зафиксирован 10-11 апреля.

#### Литература

1. Матвеев, В.А. Новый сорт сливы диплоидной Сонейка / В.А. Матвеев, В.С. Волот, М.Н. Васильева // Плодоводство: науч. тр. / РУП «Институт плодородства»; редкол.: В.А. Самусь (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2009. – Т. 21. – С. 166-171.
2. Матвеев, В.А. Жизнеспособность пыльцы и взаимоопыляемость сортов сливы диплоидной / В.А. Матвеев, М.Н. Васильева // Развитие научного наследия И.В. Мичурина по генетике и селекции плодовых культур: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 155-летию со дня рожд. И.В. Мичурина (XXII Мичуринские чтения, Мичуринск, 26-28 октября 2010 г.) / ВНИИГиСПР; под ред. Н.И. Савельева. – Мичуринск: Изд-во ГНУ ВНИИГиСПР им. И.В. Мичурина, 2010. – С. 221-225.
3. Курсаков, Г.А. Отдаленная гибридизация плодовых растений / Г.А. Курсаков. – М.: Агропромиздат, 1986. – 112 с.
4. Харитоновна, Е.Н. Цитологические исследования косточковых / Е.Н. Харитоновна // Труды ЦГЛ им. Мичурина. – Мичуринск, 1971. – Т. 12. – С. 188-204.
5. Цитология и генетика мейоза / Отв. ред. В.В. Хвостова, Ю.Ф. Богданов. – М.: Наука, 1975. – 432 с.
6. Топильская, Л.А. Изучение соматических и мейотических хромосом смородины / Л.А. Топильская, С.В. Лучникова, Н.П. Чувашина // Бюллетень ЦГЛ. – Мичуринск, 1975. – Вып. 22. – С. 58-61.

### **MICROSPOROGENESIS PECULIARITIES OF THE DIPLOID PLUM TREE**

M.N. Vasilieva, V.A. Matveyev

#### ABSTRACT

Cytological study of the microsporogenesis process at samples of the diploid plum variety will let to find out the character and reasons of the male gametophyte infertility of the samples under research and will give the opportunity of genotypes selection for their using as parents and further breeding research.

During the investigation there were revealed anomalies at male gametophyte formation of intraspecific diploid plum hybrids which led to maldistribution of genetic material among poles of meocytes division. At all meiosis stages distortions appeared to be such as synapsis emission (conjugation of homologous chromosomes), univalent's emission (singular, non conjugative chromosomes), univalent's overrunning, one or several chromosomes lagging, irregular chromosome segregation, unequal nucleous size, formation of micro nucleuses, chromosome bridges, etc.

Key words: microsporogenesis, meiosis stages, chromosomes, diploid plum tree, distortion types, Belarus.

*Дата поступления статьи в редакцию 04.04.2011*