

Н.А. ЖАРКОВ

Сибирский НИИ сельского хозяйства, Омск, Россия

ХАРАКТЕР ПОВЕДЕНИЯ УНИВАЛЕНТА У СЕРИИ МОНОСОМНЫХ ЛИНИЙ СОРТА ПШЕНИЦЫ МИЛЬТУРУМ 553 ВО ВТОРОМ МЕЙОТИЧЕСКОМ ДЕЛЕНИИ МИКРОСПОРОЦИТОВ



В результате проведенных исследований определен характер поведения унивалента каждой хромосомы сорта мягкой пшеницы Мильтурум 553 во втором мейотическом делении микроспороцитов. Выявлены общие закономерности гемизиготного состояния хромосом при реализации механизмов смены полюсной ориентации и расхождении хроматид в противоположные стороны.

© Н.А. ЖАРКОВ, 2003

ISSN 0564-3783. Цитология и генетика. 2003. № 5

Введение. После создания первой серии моносомных линий по сорту Чайназ Спринг [1] аналогичные наборы были получены по многим другим коммерческим сортам мягкой пшеницы [2]. С самого начала внимание ученых было обращено на изучение специфики прохождения мейотических процессов у моносомных растений. Усилиями ряда ученых [3–5] было установлено, что унивалентная хромосома обладает способностью к продольному и поперечному делению, отходить к одному из противоположных полюсов без дополнительного расщепления либо оставаться в межполюсной зоне и давать начало формированию микроядер в диадах и тетрадах. Однако имеющиеся данные литературы не дают полного представления о характере поведения унивалента в процессе микроспорогенеза, так как исследования проводились в основном на неполном наборе линий с ограниченным объемом выборки прорабатываемого материала [3–5]. В связи с тем, что результаты анализа анафазы I у серии моносомных линий Мильтурум 553 были представлены в ранее опубликованных работах [6–8], в настоящей статье предлагаются результаты изучения экспериментального материала в отношении фаз второго мейотического деления.

Материал и методика. Цитологические исследования мейоза у серии моносомных линий яровой мягкой пшеницы Мильтурум 553 проводились на фиксированном материале растений, выращенных в условиях теплицы при оптимальном температурно-световом режиме. В качестве фиксатора использовалась смесь Ньюкомера. Изучение микроспорогенеза было осуществлено на временных давленых ацетокарминовых препаратах с помощью светового микроскопа МБИ-3. В метафазе II и анафазе II подсчитывали количество клеток без отклонений и клеток с отстающими хромосомами. При этом каждую конфигурацию учитывали отдельно. В ходе тетрадного анализа определяли число ассоциаций дочерних клеток (тетрад) с микроядрами и без микроядер. Полученные экспериментальные данные обрабатывали с использованием методов вариационной статистики [9].

Результаты исследований и их обсуждение. Исходный сорт пшеницы Мильтурум 553 во втором мейотическом делении имел 1,2–1,6 % клеток с отстающими хромосомами. Его мейотический индекс составил 97,8 %.

По данным цитологических наблюдений у моносомных линий в метафазе II так же, как и в

других последующих фазах мейоза, преобладали нормальные клетки, без отклонений. Однако наряду с этим отмечались конфигурации с отброшенной целой хромосомой либо одной и двумя хроматидами (табл. 1), причем в последнем случае хроматиды чаще располагались в разных дочерних клетках.

Из числа перечисленных отклонений наиболее представительной оказалась группа клеток, имеющая во внеэкваториальной зоне нерасщепившийся унивалент. Их доля в общей совокупности проанализированного материала в среднем по се-

рии составила 10,34 %. По усредненным данным наличие в метафазе II двух отброшенных хроматид отмечалось с частотой 5,24 %, одной хроматиды — 8,77 % при размахе варьирования 1,07 % (7B) — 13,24 % (4A) и 3,52 % (6B) — 19,59 % (5D) соответственно для двух и одной хроматиды.

При сопоставлении полученных экспериментальных данных по анафазе I и метафазе II (табл. 1) видно, что в процессе интеркинеза происходила своего рода стабилизация мейоза, приводящая в последующем к существенному уменьшению частоты клеток с отстающими элементами. В от-

Таблица 1
Эффект стабилизации мейоза в метафазе II микроспор у серии моносомных линий пшеницы Мильтурум 553

Моносомная линия	Клеток с отстающим унивалентом, %			Клеток с отстающими хроматидами, %		
	AI	MII	±d	AI	MII	±d
1A	23,00	6,02	-16,98***	27,48	17,57	-9,91
2A	32,34	10,00	-22,34***	10,14	8,22	-1,92
3A	14,59	5,94	-8,65***	33,90	24,22	-9,68***
4A	26,73	9,18	-17,55***	34,27	15,05	-19,22***
5A	19,40	6,40	-13,00***	36,64	21,83	-14,81***
6A	13,612	13,69	0,08	27,11	9,72	-17,39***
7A	6,84	16,46	9,62***	47,55	6,18	-41,37***
1B	20,02	11,64	-8,38***	30,78	4,74	-26,04***
2B	11,10	9,46	-1,64	46,82	7,22	-39,60***
3B	23,75	15,84	-7,91***	29,99	7,47	-22,52***
4B	13,09	10,29	-2,80	32,34	12,04	-20,30***
5B	15,71	15,18	-0,53	35,00	10,64	-24,31***
6B	28,25	17,80	-10,45***	17,68	6,60	-11,08***
7B	19,36	7,97	-11,39***	27,16	5,64	-21,52***
1D	33,58	11,20	-22,38***	12,02	9,94	-2,08
2D	20,57	6,92	-13,65***	15,15	10,88	-4,27**
3D	18,73	10,00	-8,73***	26,92	17,36	-9,56***
4D	17,99	5,51	-12,48***	30,62	22,53	-8,09***
5D	9,80	6,08	-3,72***	39,68	26,94	-12,74***
6D	14,29	2,47	-11,82***	30,51	21,16	-9,35***
7D	35,53	19,60	-15,93***	23,17	11,75	-11,42***
A	19,91	9,67	-10,24***	30,22	16,54	-13,68***
B	18,79	7,97	-10,82***	31,64	7,78	-23,86***
D	21,41	9,10	-12,31***	25,47	16,91	-8,56***
\bar{x}	19,92	10,36	-9,56***	29,28	13,23	-16,05***

** $P = 0.01-0.001$, *** $P \leq 0.001$.

ношении наличия унивалента вне зоны расположения основной массы хромосом данный показатель снизился в среднем на 9,56 %, а хроматид — на 16,05 %. Однако переход от анафазы I к метафазе II не всегда сопровождался подобного рода эффектом. Так, у моносомных линий 6A и 5B обе фазы мейоза имели практически один и тот же уровень формирования клеток с отстающим унивалентом (табл. 1), а при гемизиготном состоянии хромосомы 7A их доля возросла в метафазе второго деления на 9,62 %. Если проявление общей закономерности свидетельствует о способности отстающей в анафазе I хромосомы в ходе интеркинеза устанавливать свою связь с полюсом (полюсами), то случай с хромосомой 7A свидетельствует о том, что унивалент, имеющий в анафазе I униполярный тип поведения [7], может сохранять свою одностороннюю ориентацию и в метафазе II. К сожалению, используемая методика анализа не позволяет установить — приобретает ли он в дальнейшем связь с обоими полюсами либо отходит к одному из них без дополнительного расщепления. Очевидно, последним объясняется вышеупомянутое в само-

опыленном потомстве моносомных растений трисомиков ($2n = 43$).

По данным корреляционного анализа степень проявления эффекта стабилизации мейоза в целом по генотипу определяется характером прохождения анафазы I ($r = 0,78\text{--}0,83$). При этом наличие сопряженности между анафазой I и метафазой II в пределах каждой группы отклонений (клетки с отстающим унивалентом либо хроматидами) не доказано. Специфика поведения хромосом в моносомном состоянии по каждой из двух рассматриваемых фаз мейоза может быть понята исходя из построения полученных экспериментальных данных в виде гистограммы (рис. 1 и 2).

По нашим данным, варьирование по линиям частоты клеток с различного рода отклонениями во многих случаях оказалось близким к нормальному распределению. По изменчивости наличия клеток с отстающим унивалентом в анафазе I (рис. 1, a) обособленным оказался геном A, в то время как B и D составляют единый блок, причем в отношении последних наблюдаются два уровня распределения, где более высокими показателями частот обладали линии, моносомные

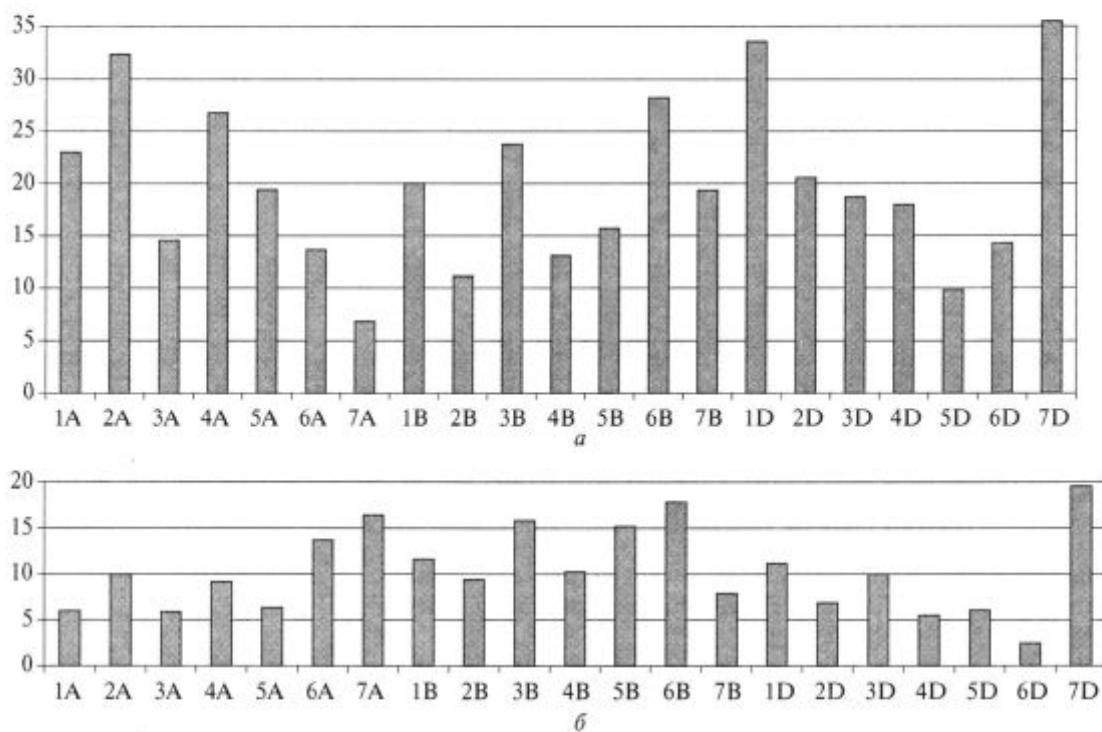


Рис. 1. Характер варьирования по моносомным линиям сорта пшеницы Мильтурум 553 частоты встречаемости клеток с отстающей унивалентной хромосомой в анафазе I (a) и метафазе II (b); по вертикали — проц., по горизонтали — хромосома

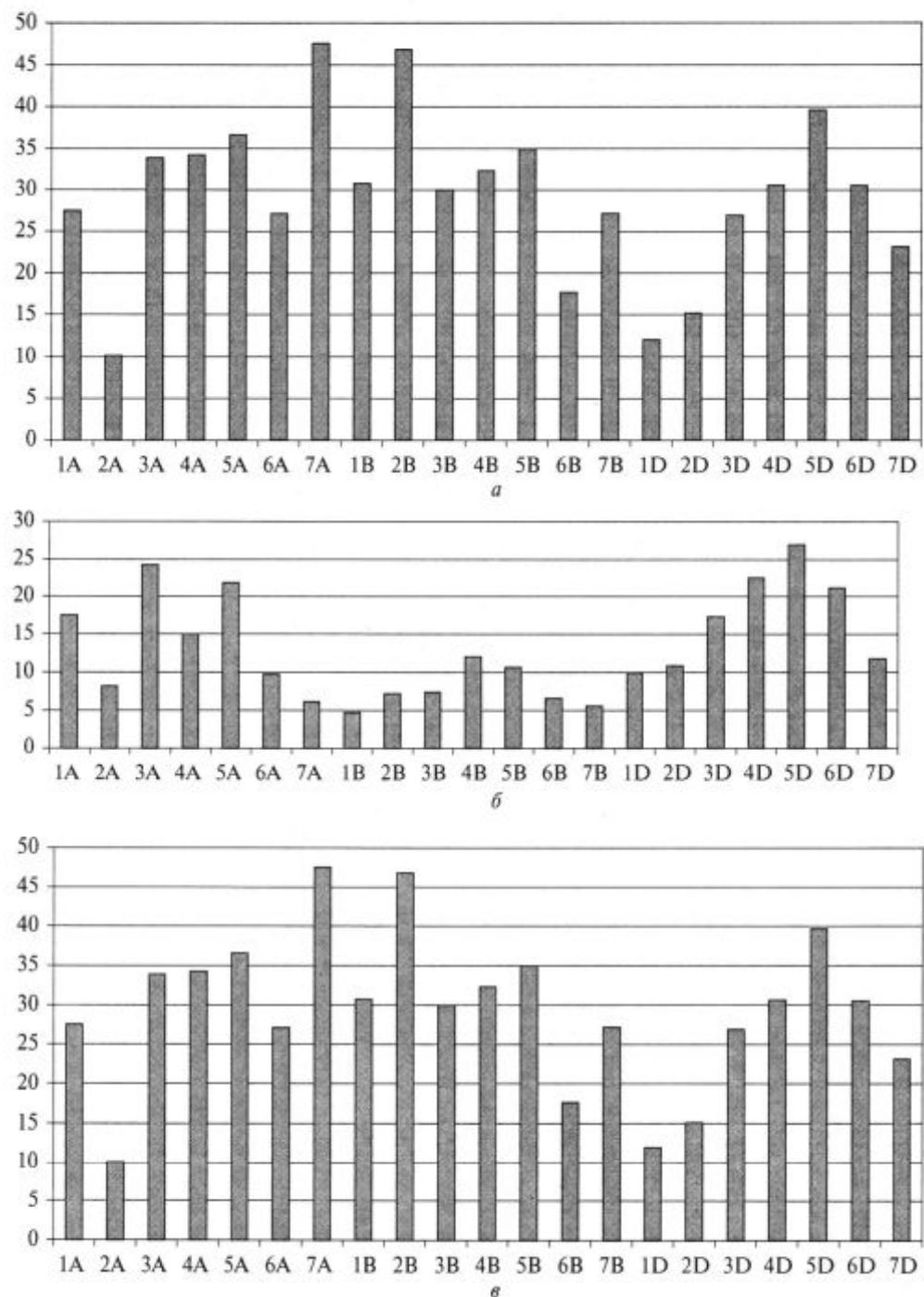


Рис. 2. Характер варьирования по моносомным линиям сорта пшеницы Мильтурум 553 частоты встречаемости клеток с отстающими хроматидами в анафазе I (а) метафазе II (б) и анафазе II (в): по вертикали — проц., по горизонтали — хромосома

по хромосомам 1B, 3B, 6B, 1D и 7D. В метафазе II доля клеток с отброшенным унивалентом имела менее упорядоченный спектр своего распределения по линиям.

Несколько иная ситуация складывается в отношении частоты клеток с отстающими хроматидами (рис. 2). По способности унивалента продольно расщепляться в анафазе I мейоза

■ Характер поведения унивалента у серии моносомных линий ... ■

обособленным оказался геном D, где в отличие от двух других геномов варьирование показателей соответствовало кривой нормального распределения (рис. 2, a). Сложившееся соотношение линий генома D по количественному составу клеток с отстающими хроматидами практически полностью сохранялось и в мета-

фазе II (рис. 2, б). На данной стадии по анализируемому показателю хорошо дифференцируются и два других генома, у которых проявляются те же закономерности, что и в первом случае. Таким образом, графические построения полученных экспериментальных данных указывают на наличие определенной упорядоченности в харак-

Таблица 2
Поведение унивалента в анафазе II у моносомиков сорта Мильтурум 553

Линия	Изучено клеток	Процент клеток						
		без отстающих элементов	с отстающим универсалентом	с двумя отстающими хроматидами			с одной хроматидой или ее производными	с двумя и более универсалентами и или их производными
				Всего	В том числе			
					хроматиды в разных дочерних клетках	обе в одной дочерней клетке		
1A	1168	69,61	0,51	11,22	9,08	2,14	18,24	0,43
2A	1496	80,08	2,67	8,29	7,89	0,40	8,76	0,20
3A	1319	72,40	0,76	9,48	8,80	1,68	16,60	0,76
4A	1693	61,13	2,13	17,66	14,53	3,13	18,13	0,94
5A	665	62,10	1,80	16,54	15,04	1,50	19,25	0,30
6A	1541	75,60	0,71	8,76	6,94	1,82	14,54	0,39
7A	1335	57,90	0,75	18,95	16,93	2,02	20,97	1,42
1B	1016	65,55	0,39	11,91	8,76	3,15	20,67	1,48
2B	935	58,93	0,43	19,36	17,98	1,28	19,68	1,60
3B	1417	69,65	0,85	12,21	8,96	3,25	16,44	0,85
4B	1126	70,87	0,35	9,68	7,90	1,78	18,56	0,53
5B	1267	61,88	1,66	17,68	13,50	4,18	18,63	0,16
6B	1038	70,13	0,38	10,98	7,03	3,95	17,92	0,58
7B	1119	69,79	0,45	12,06	9,56	2,50	17,25	0,45
1D	1258	80,05	1,75	5,56	4,53	1,03	12,40	0,24
2D	1307	83,93	0,38	6,43	4,52	1,91	8,80	0,46
3D	1253	75,26	0,88	7,26	6,14	1,12	16,20	0,40
4D	1334	66,57	0,67	14,02	12,97	1,05	18,59	0,15
5D	1168	51,11	0,51	21,75	19,87	1,88	26,03	0,60
6D	1178	56,96	0,25	20,12	17,74	2,38	22,24	0,42
7D	1368	76,90	3,07	10,53	7,46	3,07	8,70	0,80
A	9217	68,92	1,36	12,77	11,06	1,71	16,30	0,66
B	7918	66,87	0,68	13,35	10,42	2,93	18,32	0,77
D	8866	70,55	1,10	12,03	10,25	1,78	15,87	0,44
\bar{x}	26001	68,85	1,06	12,70	10,59	2,11	16,77	0,62
M-553	610	98,20	0,98	0,33	0,33	—	0,33	0,16

тере поведения отстающего унивалента на стадиях анафазы I и метафазы II, что может быть связано с проявлением механизма смены полюсной ориентации, причем имеющиеся различия спектров распределения частот по линиям свидетельствуют о возможности существования специфичных элементов его проявления при переходе хромосом от эквационного типа деления к редукционному и обратно.

Положение, наблюдаемое в метафазе II, существенным образом меняется в анафазе II (табл. 2). Прежде всего это связано со значительным снижением доли клеток с отстающей целой хромосомой и увеличением их количества с отставшими хроматидами. Усредненный показатель в первом случае составил 1,06 % против 10,34 %, во втором — 29,47 % против 14,01 %. Наличие корреляционной зависимости между двумя указанными фазами мейоза по рассматриваемым признакам не доказано.

Во втором мейотическом делении среди анафазных клеток с отклонениями превалировали конфигурации с одной отстающей хроматидой. Количество клеток с двумя отстающими хроматидами в среднем по серии составило 12,70 %. При этом хроматиды значительно чаще располагались в разных дочерних клетках, чем в одной (табл. 2).

Присутствие в межполюсной зоне одной из клеток двух хроматид с правильной ориентацией обусловлено задержкой эквационного деления той или иной хромосомы. Происхождение же хроматид, расположенных в разных клетках сформировавшейся диады, связано с продольным расщеплением унивалента в анафазе I. К данной категории можно отнести и случаи с одиночной отстающей хроматидой. Связь между частотой проявления биполярного типа поведения унивалента в анафазе I [7] и количеством клеток с последними двумя указанными отклонениями в анафазе II наглядно демонстрируется при графическом построении результатов проведенных исследований (рис. 2а, 2б) и подтверждается данными корреляционного анализа ($r = 0,82$).

Как уже отмечалось ранее, в метафазе второго деления по сравнению с анафазой I происходит снижение уровня клеток с отстающими хроматидами. Данное обстоятельство свидетельствует о том, что ранее сформировавшиеся хроматиды в ходе интеркинеза, подобно целым хромосомам, обладают способностью переходить с униполяр-

ной ориентации на биполярную. Механизм подобного рода преобразований может быть понят из предложенной ранее концепции «разводящих нитей» [7]. Очевидно, при коориентации центромеры основной массы хромосом единственный пучок связующих нитей одиночной хроматиды расщепляется в продольном направлении. При разведении нитей в противоположные стороны хроматида оказывается задействована между двумя полюсами и под действием сил натяжения выстраивается в экваториальной плоскости. При дальнейшем расхождении хромосом в анафазе II такая хроматида из-за отсутствия возможности дальнейшего эквационного деления оказывается как бы в «подвешенном» состоянии и при равенстве сил натяжения остается в межполюсной зоне. Именно данным обстоятельством может объясняться значительное увеличение доли клеток с подобного рода отклонениями в анафазе II.

Наличие отстающих элементов в анафазе II является прямым источником формирования микроядер в тетрадах (табл. 3). Среди клеток с подобного рода отклонениями превалировали тетрады с одним микроядром. Довольно часто наблюдались тетрады с двумя микроядрами, которые в большинстве случаев располагались в разных микроспорах (табл. 3). Наличие трех и более микроядер отмечалось довольно редко. В целом мейотический индекс у моносомных растений анализируемой серии составил 66,12 %. По данным корреляционного анализа частота формирования микроядер в тетрадах определялась главным образом характером поведения унивалента в анафазе I и, в частности, частотой его продольного расщепления ($r = 0,89$).

При сравнительном анализе цифрового материала, представленного в табл. 2 и 3, видно, что в целом ряде случаев количество тетрад с микроядрами оказывается значительно больше, чем это предполагается, исходя из наличия клеток с отсекающими элементами в анафазе II. Данное явление также может быть понято, исходя из той же концепции «разводящих нитей». Вероятно, при переходе одиночной хроматиды с униполярной ориентации на биполярную ее пучок кинетохорных нитей веретена деления не всегда расщепляется строго пропорционально. В этом случае хроматида будет передвигаться к полюсу с наибольшей силой приложения (натяжения). При его достижении и демонтаже основных несущих

■ Характер поведения унивалента у серии моносомных линий ... ■

Таблица 3
Частота тетрад с микроядрами у серии моносомных линий пшеницы сорта Мильтурум 553

Линия	Изучено клеток	Процент тетрад				Значение χ^2 по частоте тетрад без микроядер	
		без микроядер	с микроядрами				
			1	2	3 и более		
				Всего	В том числе в одной микроспоре		
1A	2806	64,65	25,62	8,73	0,32	1,00	302,24**
1B	4322	65,62	22,67	9,07	0,72	0,72	
1D	2848	82,83	12,89	3,55	0,28	0,74	
2A	3609	76,72	16,29	6,23	0,42	0,75	
2B	3165	53,08	24,61	18,14	0,54	4,17	
2D	3047	82,74	12,08	4,79	0,26	0,39	757,43**
3A	3069	55,62	25,28	15,87	1,01	3,23	
3B	3367	71,46	18,89	8,37	0,89	1,28	
3D	3569	75,59	17,18	6,44	1,15	0,78	329,68**
4A	3268	60,56	23,96	12,85	0,80	2,63	
4B	2709	65,37	22,66	9,89	0,59	2,07	
4D	3279	68,56	20,83	9,70	0,94	0,91	46,48**
5A	3202	61,12	25,61	11,74	0,50	1,53	
5B	2872	66,54	20,51	10,48	0,56	2,47	
5D	3361	53,58	28,26	16,51	0,62	1,64	110,51**
6A	3208	69,23	21,01	8,57	0,62	1,18	
6B	3132	68,93	20,66	8,72	1,05	1,69	
6D	2918	59,29	28,14	11,51	1,03	1,06	85,55**
7A	3319	48,69	29,59	18,32	0,72	3,40	
7B	3145	68,23	20,32	9,82	0,57	1,62	
7D	3644	69,73	21,95	7,41	0,63	0,91	394,86**
A	22481	62,56	23,76	11,72	0,63	1,69	
B	22712	65,64	21,50	10,56	0,71	2,29	
D	22666	70,14	20,30	8,63	0,71	0,93	293,38**
\bar{x}	67859	66,12	21,85	10,30	0,68	1,72	

** $P \leq 0,01$.

элементов конструкции связующих нитей до уровня необходимой достаточности для поддержания связи центромер с полюсом срабатывает нить противоположной силы натяжения, которая практически на завершающей стадии телофазы II выдергивает данную хроматиду из состава ядра,

увеличивая тем самым количественный состав тетрад с микроядрами.

Выводы. Результаты проведенных исследований показали, что поведение унивалента по биполярному и аполярному типу в анафазе, а также проявление его гемизиготного состояния как

на уровне целой хромосомы, так и отдельных хроматид в последующих фазах мейоза имеют определенную упорядоченность, которая определяется общим для всего генотипа механизмом смены полюсной ориентации.

Отстающий в анафазе I унивалент в половине всех наблюдавших случаев анализируемого материала серии моносомных линий сорта Мильтурум 553 обладает способностью в интеркинезе мейоза устанавливать свою связь с полюсом и принимать нормальную биполярную ориентацию в метафазе II.

Унивалентная хромосома с характером поведения в анафазе I мейоза по типу редукционного деления в ряде случаев на стадии метафазы II оказывается вне экваториальной зоны расположения основной массы хромосом, что может быть связано с сохранением ее униполярной ориентации.

Одиночные хроматиды, образовавшиеся в анафазе I, в ходе интеркинеза подобно диадам способны переходить с униполярной на биполярную ориентацию и выстраиваться в экваториальной плоскости в метафазе II. Из-за отсутствия возможности их дальнейшего продольного расщепления такие хроматиды в анафазе II зависают в межполюсной зоне и дают начало формированию микроядер в тетрадах.

По результатам статистического анализа количество тетрад с микроядрами по большинству моносомных линий оказывается больше, чем это должно быть исходя из наличия клеток с отстающими элементами в анафазе II. Указанное явление может быть связано с реализацией механизма «выдергивания» одиночной хроматиды на заключительном этапе телофазы II при неадекватном приложении сил натяжения нитей веретена деления со стороны противоположных полюсов.

Автор выражает благодарность Ю.И.Шутову, Н.А.Гришину и С.Н.Жаркову за оказанную помощь в подготовке работы к публикации.

SUMMARY. The investigations fulfilled resulted in defining the character of the univalent behavior of each chromosome of the wheat cultivar Milturum 553 in the second meiotic division of the microsporocytes. General regularities of the hemizygous state of chromosomes in realisation of mechanisms of the changes of pole orientation and disjunction of chromatids to the opposite sides has been revealed.

РЕЗЮМЕ. В результаті проведених досліджень визнано характер поведінки унівалента кожної хромосоми сорту м'якої пшениці Мільтурум 553 в другому мейотичному діленні мікроспороцитів. Виявлено загальні закономірності гемізиготного стану хромосом при реалізації механізмів зміни полюсної орієнтації і розходження хроматид в протилежні сторони.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sears E.R. The aneuploids of common wheat // Missouri Agr. Exp. Stat. Res. Bull. — 1954. — № 572. — P. 1–58.
 2. Worland A.J. Catalogue of monosomic series // Proc. 7th Int. Wheat. Genet. Symp. — Cambridge, 1988. — 2. — P. 1349–1403.
 3. Sears E.R. Misdivision of univalents in common wheat // Chromosoma. — 1952. — 4, № 6. — P. 535–550.
 4. Morrison J.W. Chromosome behaviour in wheat monosomics // Heredity. — 1953. — 7. — P. 203–217.
 5. Лбова М.И. Мейоз у моносомиков яровой пшеницы сорта Чайниз Спринг при осеннем полевом посеве // Цитогенетические исследования анеуплоидов мягкой пшеницы. — Новосибирск, 1973. — С. 28–43.
 6. Zharkov N.A. Pattern of common wheat chromosome univalent meiotic behaviour as an exhibition of the special cell division organization // EWAC Newslett. — 2001. — Nowosibirsk. — P. 180–183.
 7. Жарков Н.А. Анеуплоидная модель механизмов мейотических преобразований у пшеницы. 1. Механизм перехода хромосом от митоза к мейозу // Цитология и генетика. — 2001. — 35, № 4. — С. 18–24.
 8. Жарков Н.А. Анеуплоидная модель механизмов мейотических преобразований у пшеницы. 2. Предотвращение синаптиса гомеологов // Цитология и генетика. — 2001. — 35, № 4. — С. 25–32.
 9. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. — М.: Колос, 1979. — 416 с.

Поступила 23.06.03