

Новосибирский государственный университет

**Динамика тубулинового цитоскелета в материнских  
клетках пыльцы растений табака *Nicotiana tabacum* L.  
при увеличении уровня ploидности.**

кафедра цитологии и генетики

студент: Киняйкин В. И.

лаборатория биоинженерии растений

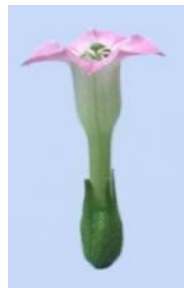
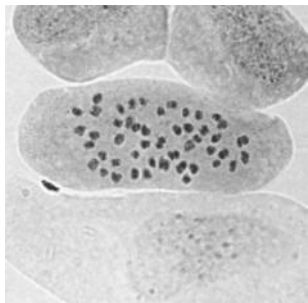
ИЦиГ СО РАН

руководитель: к.б.н. Сидорчук Ю. В.

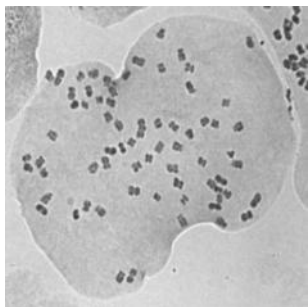
2011

**Материалом для исследований послужили растения табака с различным уровнем плоидности ( $3n=72$ ;  $4n=96$ )**

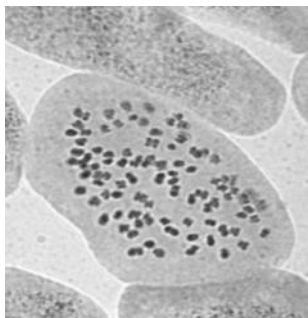
**В качестве контроля использовали растения исходной линии SR1 ( $2n=48$ )**



**а) нормальная структура  
цветка у контрольных  
растений (линия SR1),  
 $2n=48$**



**б) измененная структура  
цветка у триплоидных  
растений,  $3n=72$**



**в) измененная структура  
цветка у тетраплоидных  
растений,  $4n=96$**

## **Цель и задачи исследования**

**Целью настоящего исследования является изучение цикла реорганизации микротрубочкового цитоскелета в материнских клетках пыльцы (МКП) растений табака, характеризующихся различным уровнем ploидности.**

**Задачи исследования:**

- 1. Провести сравнительный микроскопический анализ аномалий микроспорогенеза у диплоидных растений табака и при изменении уровня ploидности.**
- 2. Установить соответствие выявленных аномалий мейотического деления и микротрубочкового цикла**

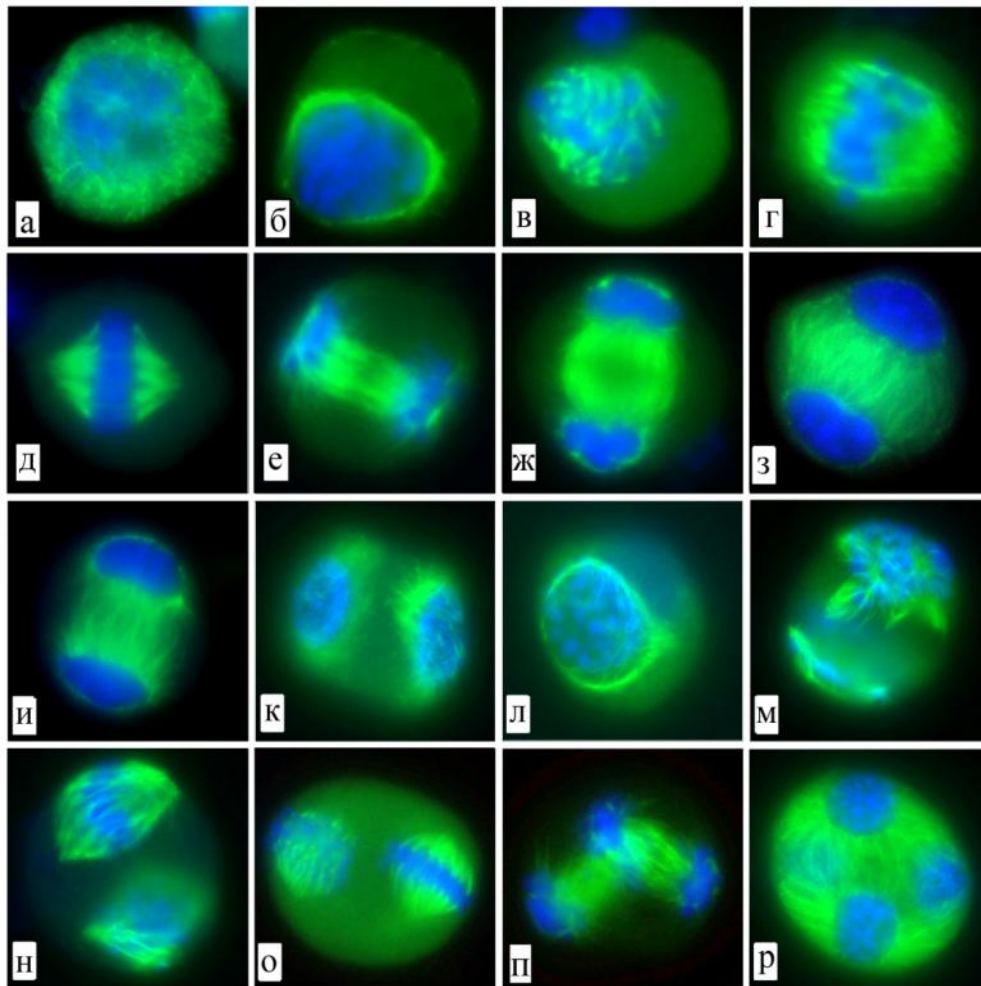
## **Методы:**

**- Световая микроскопия (фиксации по Навашину и по Карнуа с окрашиванием препаратов ацетокармином.**

**- Иммунофлуоресцентный анализ цитоскелета с использованием первичных антител на  $\alpha$ -тубулин (monoclonal anti- $\alpha$ -tubulin, clone B-5-1-2, SIGMA, product number T5168) и вторичных антител (anti-mouse IgG FITC conjugate, SIGMA, product number F0257). Хромосомы окрашивали DAPI (1мкг/мл) в 20% глицерине.**

**Иммунофлуоресцентный анализ проводили на базе ЦКП микроскопического анализа биологических объектов СО РАН**

# Цикл реорганизации цитоскелета в мейотическом делении в МКП линии SR1 (контроль)



а-з — первое деление; и-р — второе деление;  
а, и - радиальный цитоскелет в профазе;  
б, л - формирование перинуклеарного цитоскелетного кольца в поздней профазе;  
в, м - вход цитоскелета в зону бывшего ядра, хаотическая фигура в средней прометафазе;  
г, н - биполярная коориентация МТ пучков;  
д, о - метафазное веретено деления;  
е, п - полюсные МТ в ранней телофазе;  
ж – полимеризация МТ от поверхности ядерных оболочек;  
з - развитая интерзональная цитоскелетная система на стадии интеркинеза;  
р – тетраэдрическая система цитоскелета в поздней телофазе 2.

## **Аномалии мейоза в МКП растений табака с увеличенным уровнем ploидности**

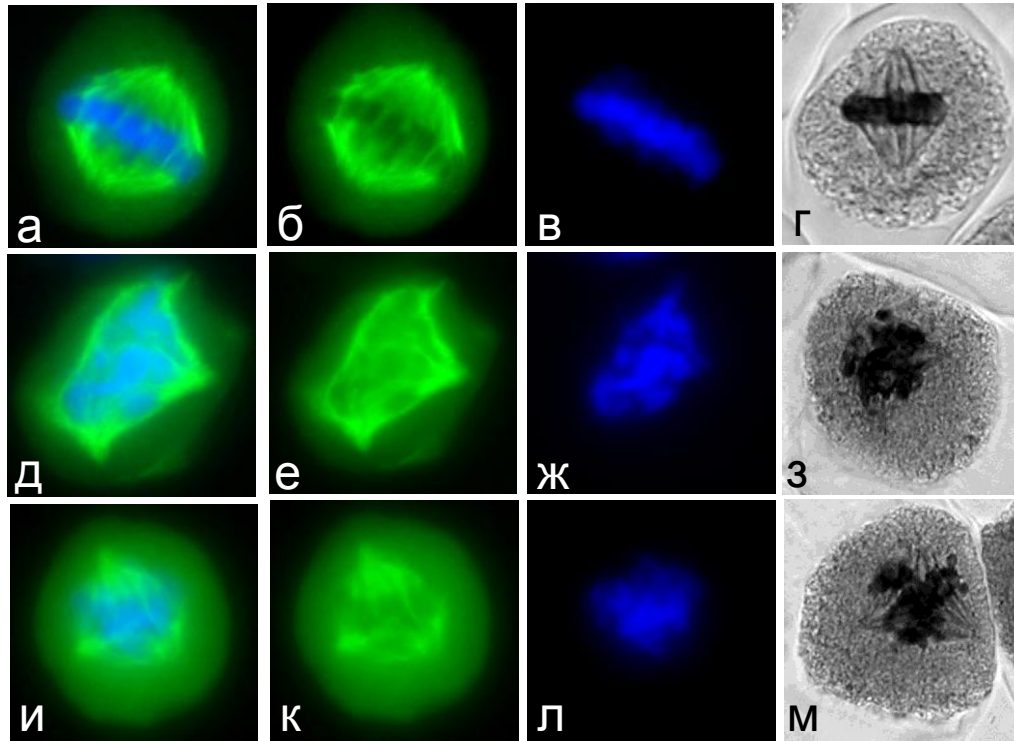
### **Первое деление мейоза:**

- *формирование трехполюсных веретен*
- *сближение ядер в интеркинезе.*

### **Второе деление мейоза:**

- *деформация ядер в профазе 2;*
- *нарушение положения веретен деления.*

# Формирование многополюсных полюсных веретен в метафазе первого деления мейоза



биполярное веретено в норме,  
 $2n=48$

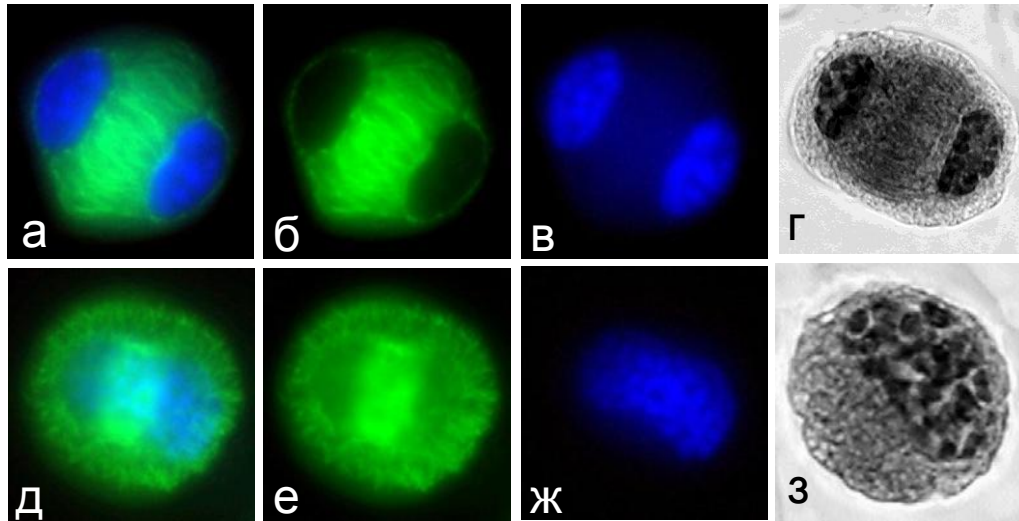
трехполюсные веретена,  $3n=72$

а-г – биполярное метафазное веретено в норме; д-м – трехполюсные веретена в метафазе; г – биполярное метафазное веретено в норме на световом уровне; з, м – трехполюсные веретена на световом уровне.

*Обозначения:*

синий цвет – хромосомы; зеленый цвет – цитоскелет.

# Формирование радиального интерзонального цитоскелета в первом делении мейоза



интеркинез в норме,  $2n=48$

радиальная система  
цитоскелета в интеркинезе,  
 $3n=72$

а-г – радиальный интерзональный цитоскелет в норме; д-з – девиантная форма радиального интерзонального цитоскелета при сближении ядер; г – интерзональный цитоскелет в норме на световом уровне; з – сближение ядер в интеркинезе на световом уровне.

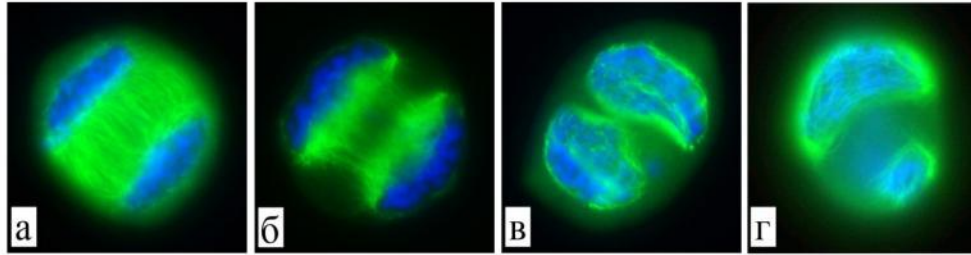
*Обозначения:*

синий цвет – хромосомы; зеленый цвет – цитоскелет.

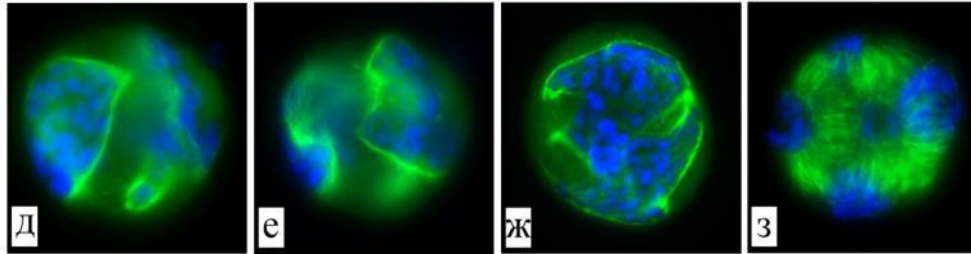


# Динамика тубулинового цитоскелета во втором делении мейоза в МКП с деформированными ядрами ( $3n=72$ , $4n=96$ )

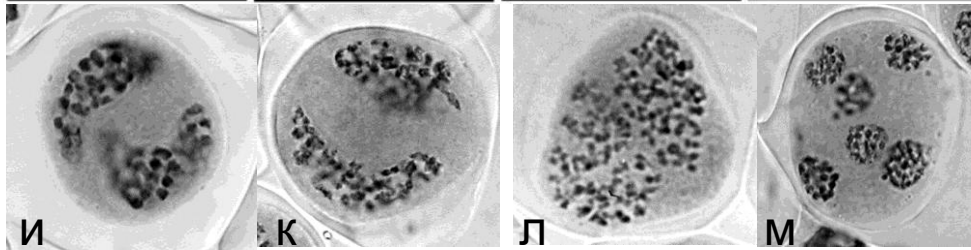
норма



нарушение



световая  
микроскопия



а – поздний интеркинез;

б – деполимеризация интерзональной системы микротрубочек в ранней профазе 2;

в, г – укорочение радиальных пучков МТ и формирование «чехла» МТ вокруг ядер;

д, е – дезинтеграция перинуклеолярной системы МТ при переходе от профазы 2 к прометафазе 2;

ж - распад ядерной оболочки, блок построения прометафазной фигуры цитоскелета (пучки МТ продолжают деполимеризоваться, не входят в зону бывшего ядра и не контактируют с хромосомами);

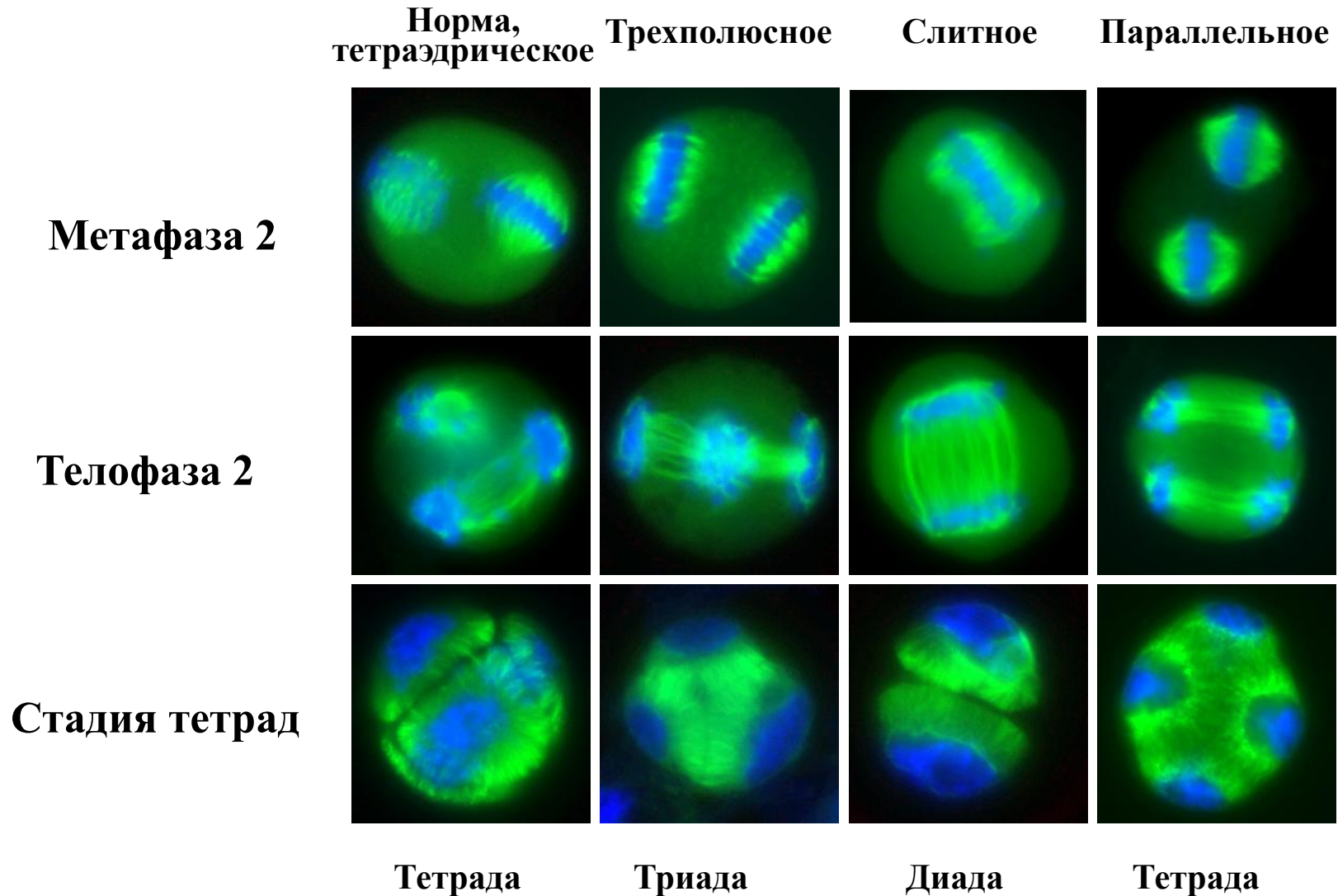
з - система цитоскелета в телофазе 2 в многоядерной клетке, радиальные пучки МТ отходят от оболочек микроядер;

и, к – деформация ядер; л – прометафаза 2 в МКП с деформированными ядрами; м – формирование полиады

## Деформация ядер в профазе второго деления и возможные продукты на стадии тетрад

Уровень плоидности	Нарушения, %	
	деформированные ядра	полиады
$2n=48$	0,0	0,0
$3n=72$	20,0 5,0	21,0 8,3
$4n=96$	49,5 3,1	19,7 1,5

# Нарушение положения веретен второго деления мейоза и последствия на стадии тетрад ( $3n=72$ ; $4n=96$ )



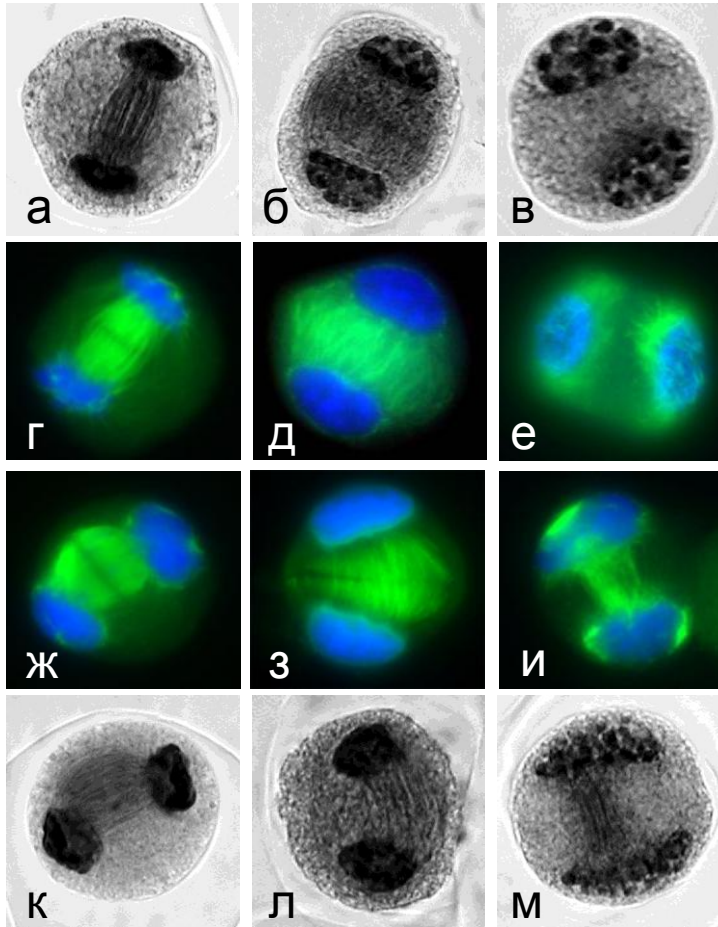
## Нарушения положения веретен второго деления и возможные продукты на стадии тетрад

Уровень плоидности	Нарушения, %							
	Положение веретен				Продукты мейоза			
	параллельное		трехполюсно е		диады		триады	
2n=48	0,8	0,2	2,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
3n=72	11,0	1,4	3,0	1,1	1,9	0,8	1,5	1,0
4n=96	5,6	0,3	7,3	1,2	2,7	1,7	2,7	1,2

# Динамика микротрубочкового цитоскелета в МКП табака в телофазе 1 – профазе 2

Телофаза 1    Интеркинез    Профаза 2

Норма,  
 $2n=48$



а, г – ранняя телофаза 1;

б, д – интеркинез;

в, е – средняя профаза 2;

ж, к, з, л – поздняя телофаза 1,

нарушение полимеризации МТ пучков;

и, м – средняя профаза 2, нарушение

размыкания и деполимеризации (+)-  
концов МТ пучков;

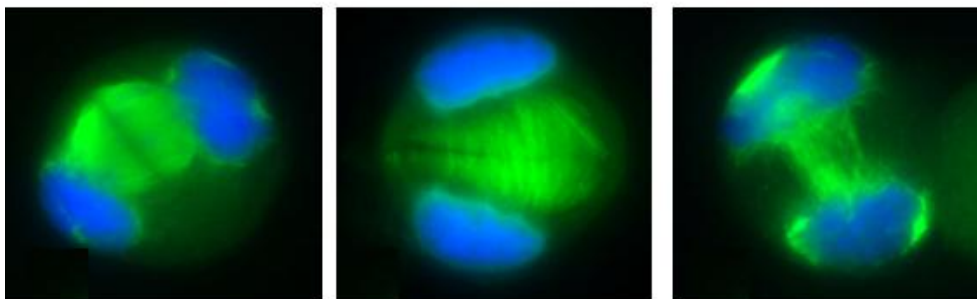
г-и – иммуноокрашивание;

а-в, к-м – световая микроскопия.

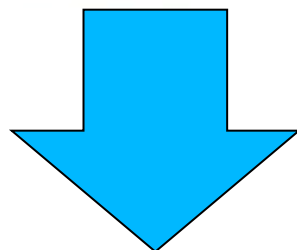
**Обозначения:**

синий цвет – хромосомы; зеленый цвет – цитоскелет.

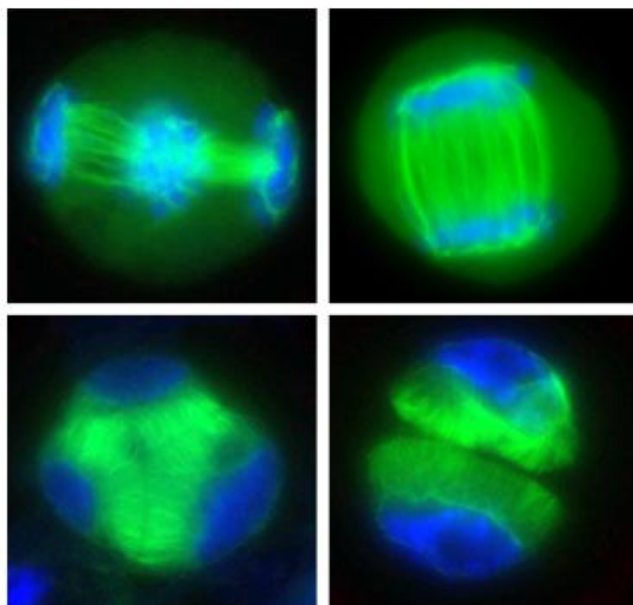
Нарушения,  
 $4n=96$



Нарушение положения ядер



Нарушение положения веретен



Триады и диады

## **ВЫВОДЫ**

**1. Изучена динамика микротрубочкового цитоскелета в мейозе растений табака с различным уровнем ploидности. Цикл МТ цитоскелета осуществляется посредством реорганизации двух системных структур – радиального интерфазного цитоскелета и веретена деления. Фрагмопласт как отдельная цитоскелетная структура не строится.**

**2. Формирование в метафазе мультиполярных веретен деления в результате нарушения биполярной организации МТ пучков и отклонения в формировании радиальной системы цитоскелета в интеркинезе наблюдаются только мейозе триплоидных растений табака.**

**3. Нарушение процессов реорганизации МТ пучков в поздней профазе второго деления с последующим блоком построения веретен, а также аномалии положения веретен второго деления наблюдаются в мейозе как триплоидных, так и тетраплоидных растений табака.**

**4. Аномальное положение веретен второго деления связано с нарушением процессов полимеризации-деполимеризации и взаимодействия (+)-концов МТ в интеркинезе-профазе 2.**