



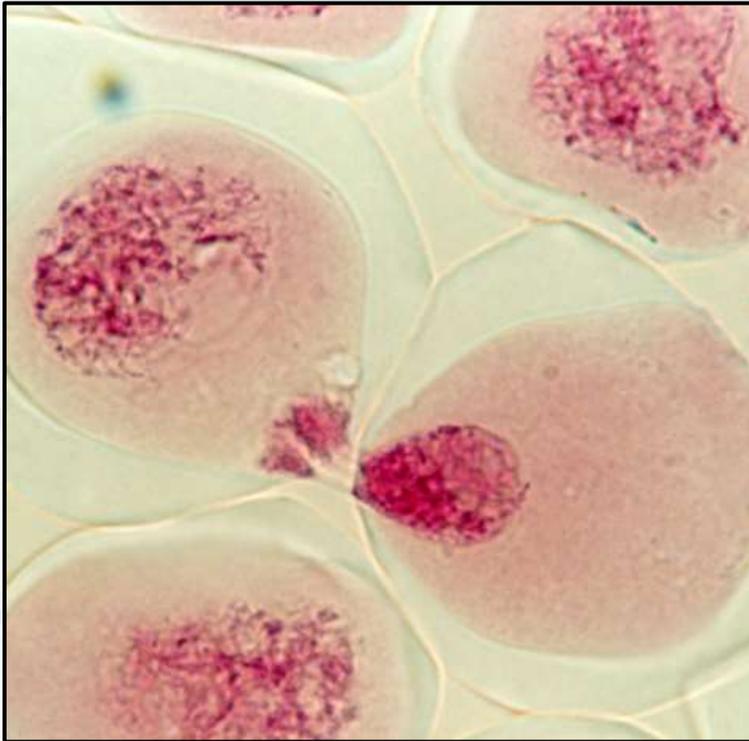
*Институт цитологии и генетики СО РАН
Лаборатория биоинженерии растений*

Цитомиксис в микроспорогезе однодольных и двудольных растений различного уровня плоидности



Научный руководитель:
к. б. н., Сидорчук Ю. В.

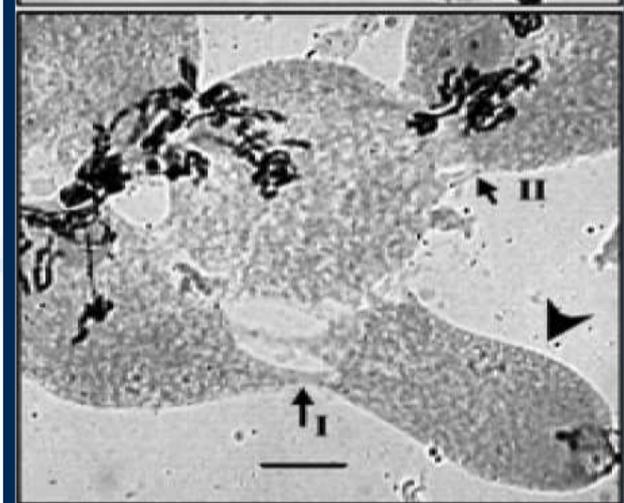
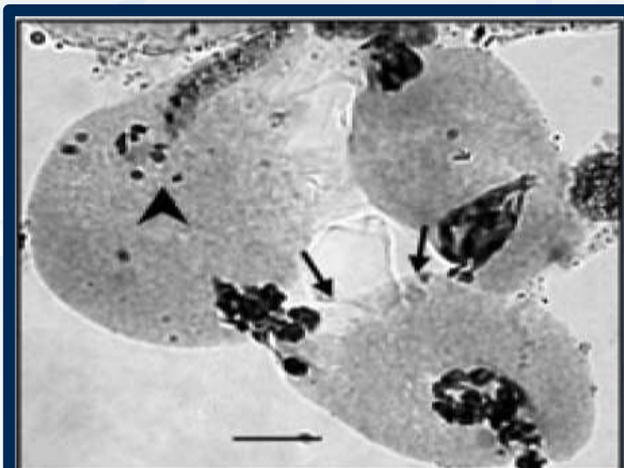
Цитомиксис



Цитомиксис (от греч. *kytos* – «клетка» и *mixis* – «смешение, соединение») – это явление перехода ядерного материала, цитоплазмы и органелл из одной клетки в другую по цитомиктическим каналам.

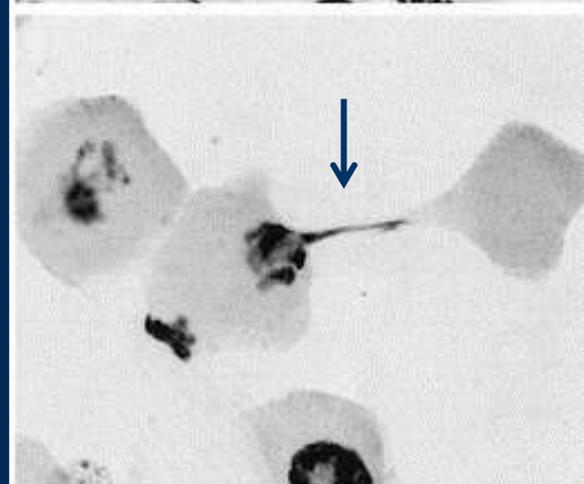
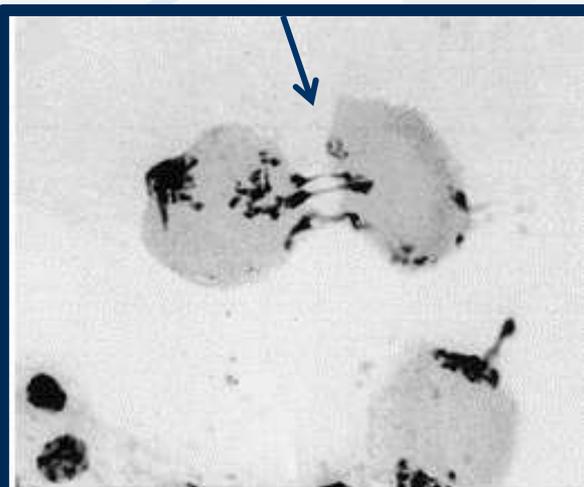
Цитомиксис в микроспорогенезе разных видов растений

Ranunculus hirtellus R.



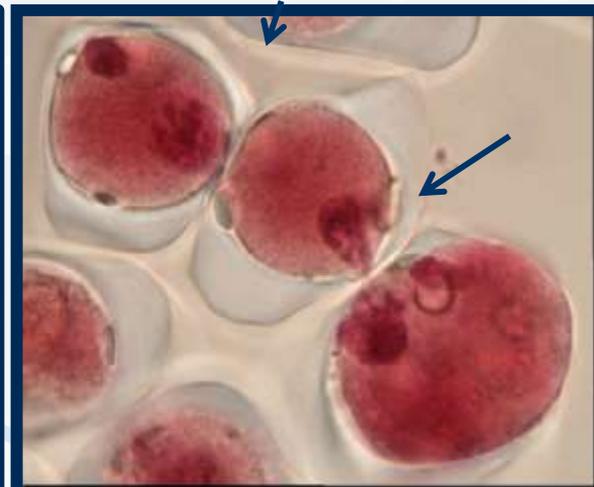
Kumar, Singhal. «Comparative Cytogenetics», 2011

Medicago sativa L.



Bellucci et al. «Heredity», 2003

Nicotiana tabacum L.

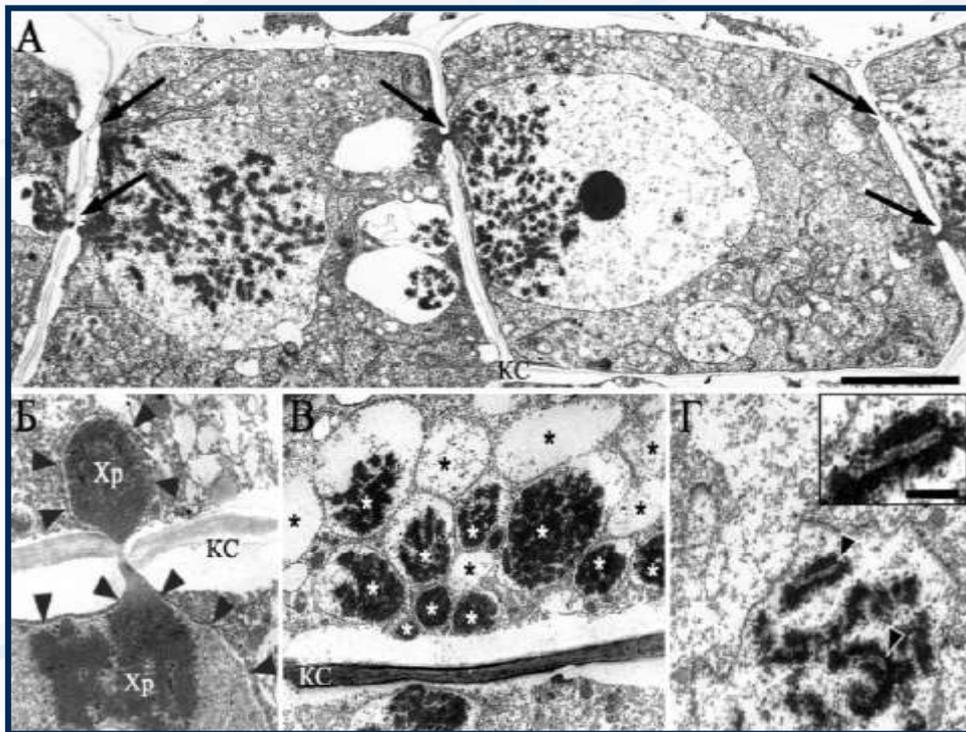


Лаборатория биоинженерии 3
ИЦиГ СО РАН

Современное состояние проблемы

Последние исследования направлены на изучение :

- влияния цитомиксиса на процесс мейотического деления и продукты мейоза;
- ультраструктурных особенностей цитомиксиса;
- вклада феномена в различные хромосомные аномалии;
- роли цитомиксиса в формировании поли- и анеуплоидов.



Mursalimov, Deineko. «*Protoplasma*», 2011

Цель работы

- Установление частотных характеристик цитомиксиса в МКМ разноплоидных линий табака и различных видов злаков, а также зависимости между частотой цитомиксиса в микроспорогенезе и уровнем плоидности растения.

Задачи работы

1. Сравнительный анализ частот цитомиксиса в микроспорогенезе табака различного уровня плоидности;
2. Сравнительный анализ частот цитомиксиса в микроспорогенезе нескольких видов и межвидовых гибридов злаков различного уровня плоидности;
3. Статистический анализ частот цитомиксиса в МКМ разноплоидных однодольных и двудольных растений;
4. Выявление роли микротрубочкового цитоскелета в цитомиксисе на примере МКМ триплоидных и гаплоидных растений табака и пшенично-ржаных гибридов методом иммуноокрашивания.

Объекты исследования

Однодольные растения (*Monocotyledones*)

Пшеница (*Triticum*):

1. *T. monoccoccum* и *T. sinskajae* ($2n = 14$);
2. *T. aethiopicum* и *T. dicoccum* ($2n = 28$);
3. *T. aestivum* ($2n = 42$);
4. *T. flaksbergeri* ($2n = 56$);

Рожь (*Secale*): *S. cereale* ($2n = 14$);

Пшенично-ржаные гибриды (*T. aestivum/S. cereale*).

Материал любезно предоставлен чл.-корр. РАСХН, д.б.н. Гончаровым Н.П., сектор генетики пшениц, и к.б.н. Силковой О.Г., зав. сектором цитогенетики злаков.



Двудольные растения (*Dicotyledones*)

Табак (*Nicotiana tabacum*):

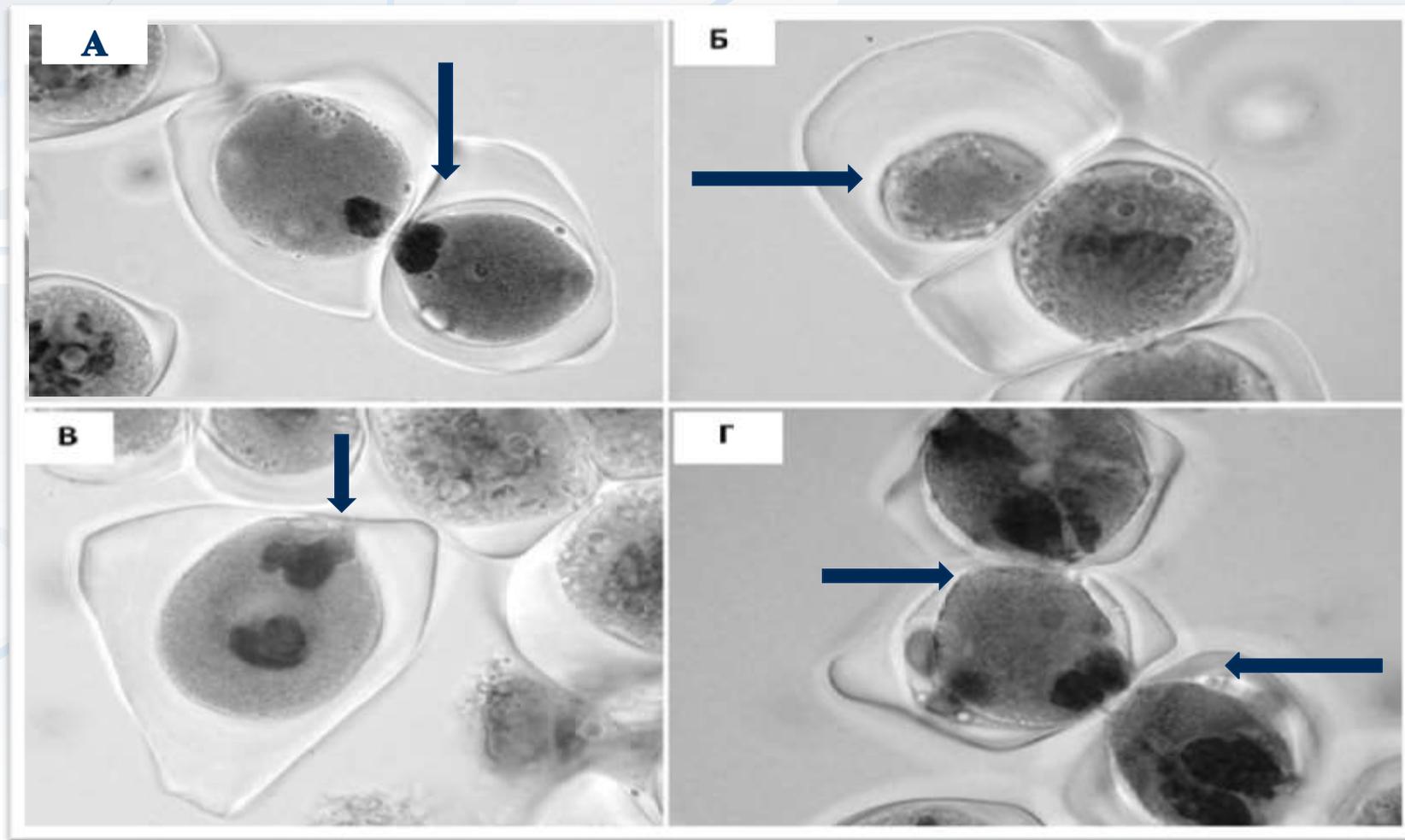
1. Гаплоидные группы Н1, Н3, Н7 ($n = 24$);
2. Диплоидная линия SR1 ($2n = 28$);
3. Триплоидные линии «2хк», «91хк», «16.70хк» ($3n = 72$);
4. Тетраплоидные линии № 2, № 4, № 91 ($4n = 96$);
5. Анеуплоидные линии Н16.70 (I) и Н16.70(II).



Методы

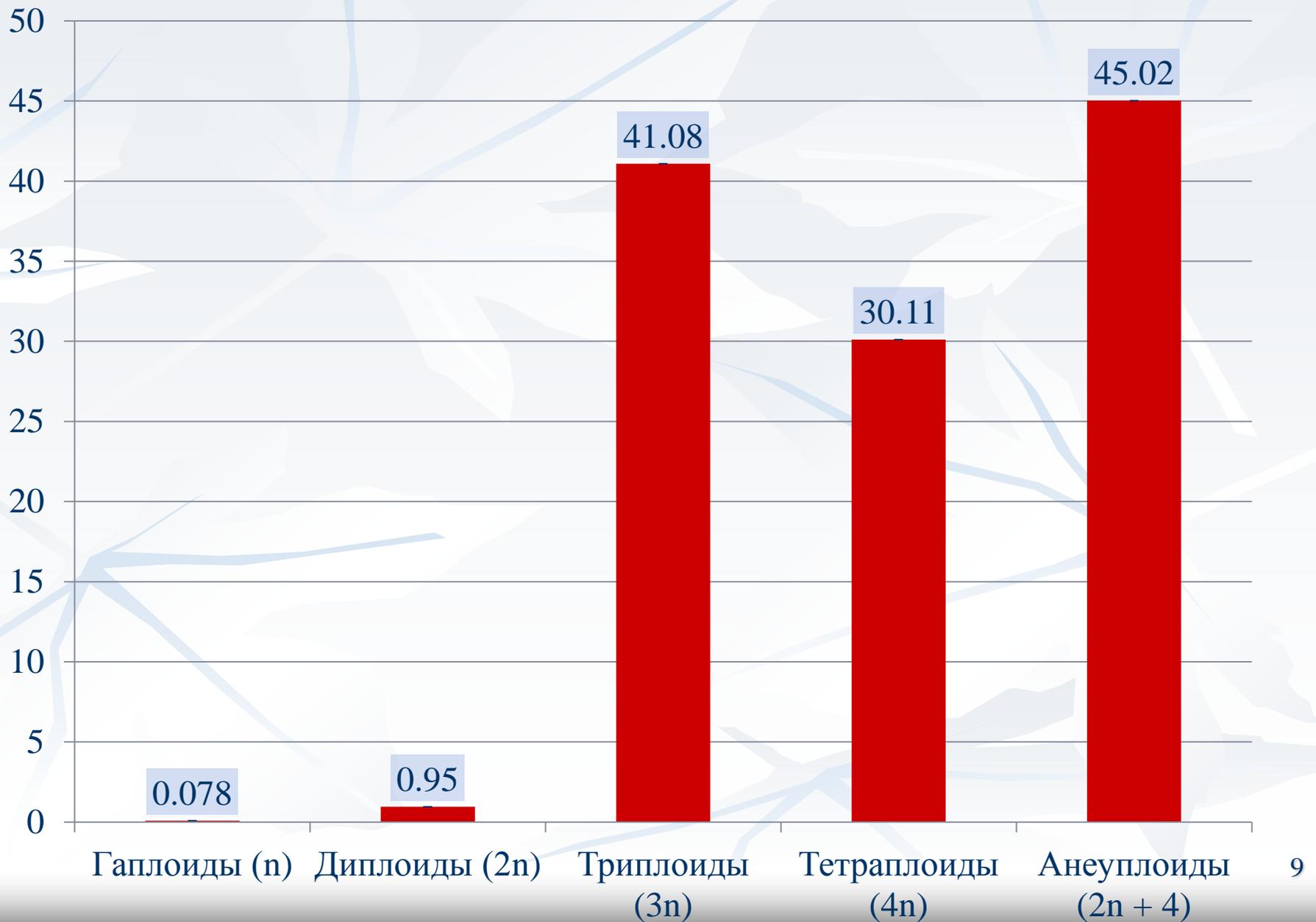
1. Индуцированный андрогенез;
2. Гибридизация;
3. Колхицинирование;
4. Световая микроскопия;
5. Иммуноокрашивание;
6. Статистическая обработка данных.

Цитомиксис и его последствия в МКМ табака



А – цитомиксис в МКМ тетраплоидной линии табака *Nicotiana tabacum* L.; Б – цитопласт; В – микроядро; Г – цитомиксис «по цепочке».

Частота цитомиксиса в МКМ табака

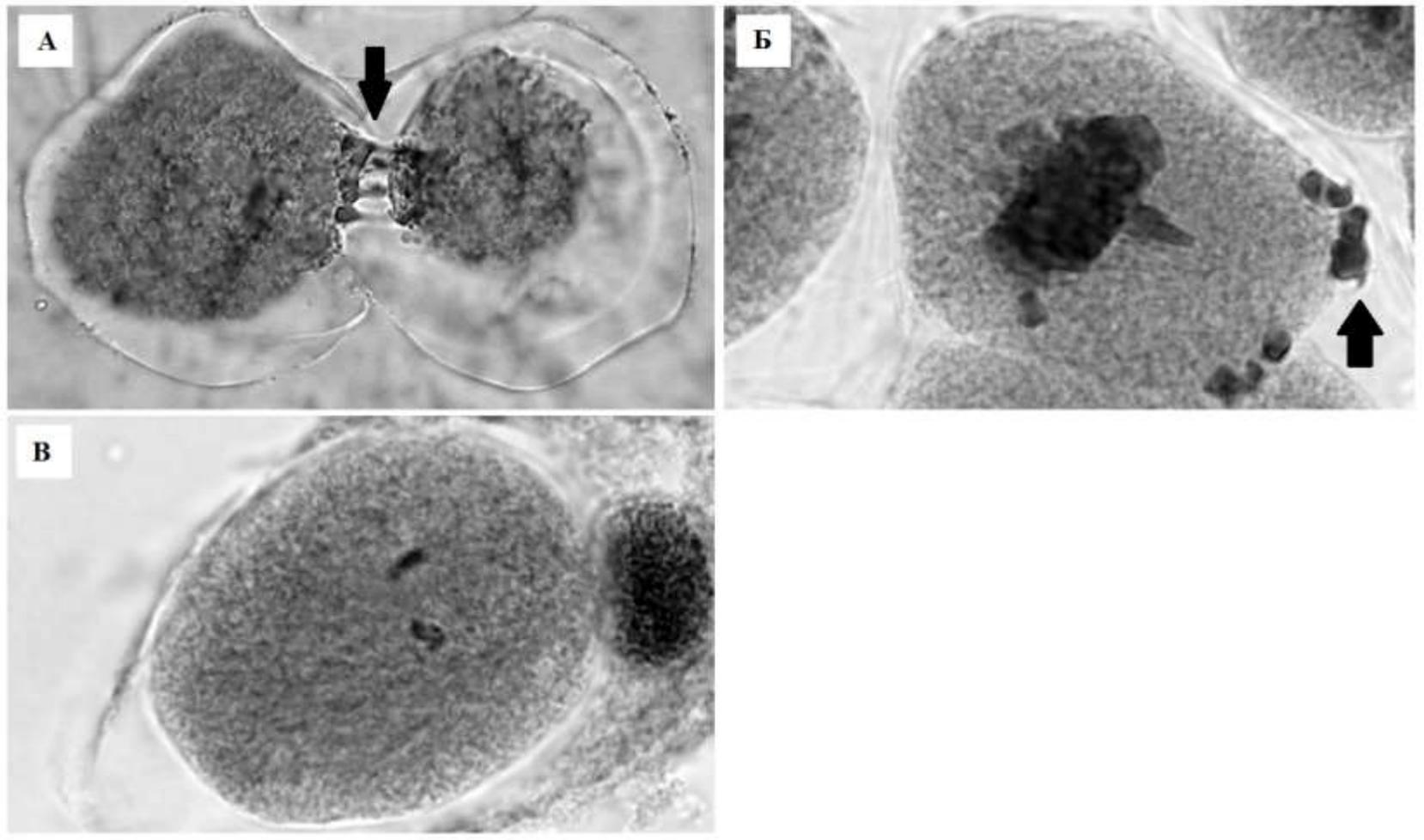


Дисперсионный анализ частот цитомиксиса для МКМ табака

Источник вариации	Дисперсия (S)	Степень свободы (df)	Средний квадрат (mS)
A (между уровнями плоидности)	$S_A = 13589$	4	3397
B (между линиями одного уровня плоидности)	$S_B = 126$	7	18
C (между растениями одной линии)	<i>Пренебрежимо мала</i>		
Случайная ошибка	65494	407406	0,2
Общее	79209	407417	—

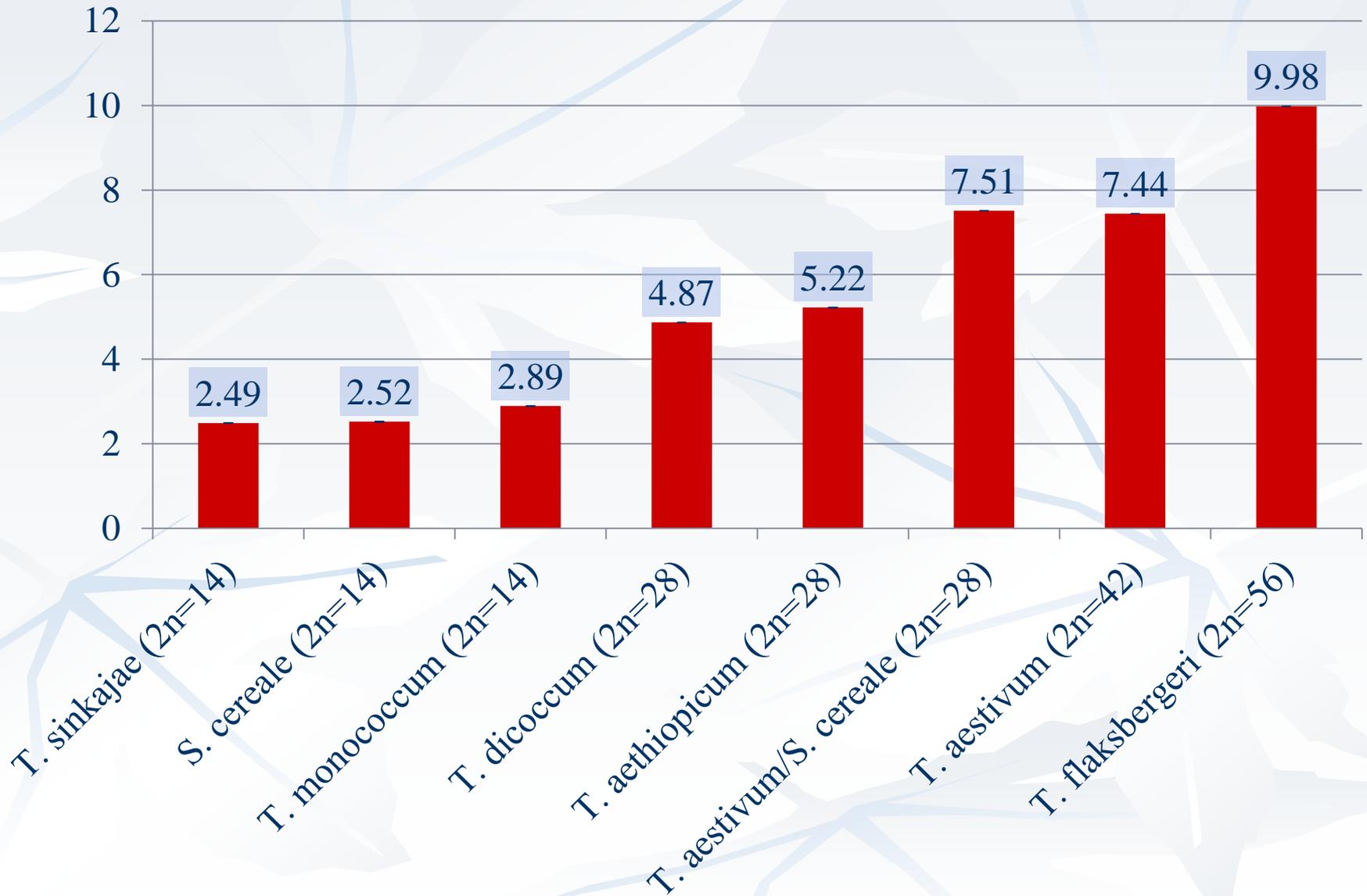
	Значение критерия Фишера (F)	Степени свободы (df)	Уровень значимости (p)
Для фактора A	$F_A = 188,7$	$df_1 = 4$	> 0,999
		$df_2 = 7$	
Для фактора B	$F_B = 90$	$df_1 = 7$	> 0,999
		$df_2 = \infty$	

Цитомиксис и его последствия в МКМ злаков



А – цитомиксис в МКМ пшеницы Фляксбергера *Triticum flaksbergeri* Navr.; Б –
микроядро; В – цитопласт.

Частота цитомиксиса в МКМ злаков

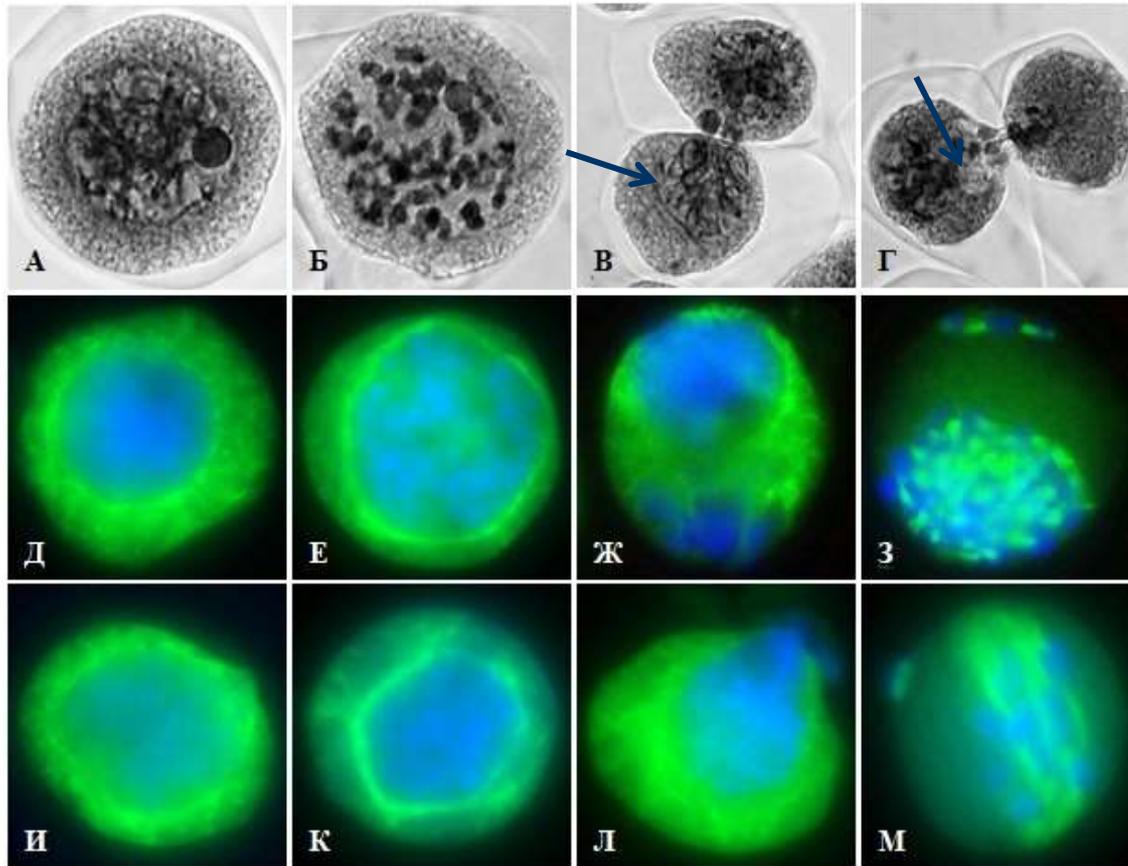


Дисперсионный анализ частот цитомиксиса для МКМ злаков

Источник вариации	Дисперсия (S)	Степень свободы (df)	Средний квадрат (mS)
A (между хромосомными числами)	$S_A = 10,42$	5	2,08
B (между видами с одинаковым числом хромосом)	<i>Пренебрежимо мала</i>		
C (между растениями одного вида)	<i>Пренебрежимо мала</i>		
Случайная ошибка	823,52	17124	0,048
Общее	834,97	17195	—

	Значение критерия Фишера (F)	Степени свободы (df)	Уровень значимости (p)
Для фактора A	$F_A = 43,3$	$df_1 = 5$	$> 0,999$
		$df_2 = 17124$	

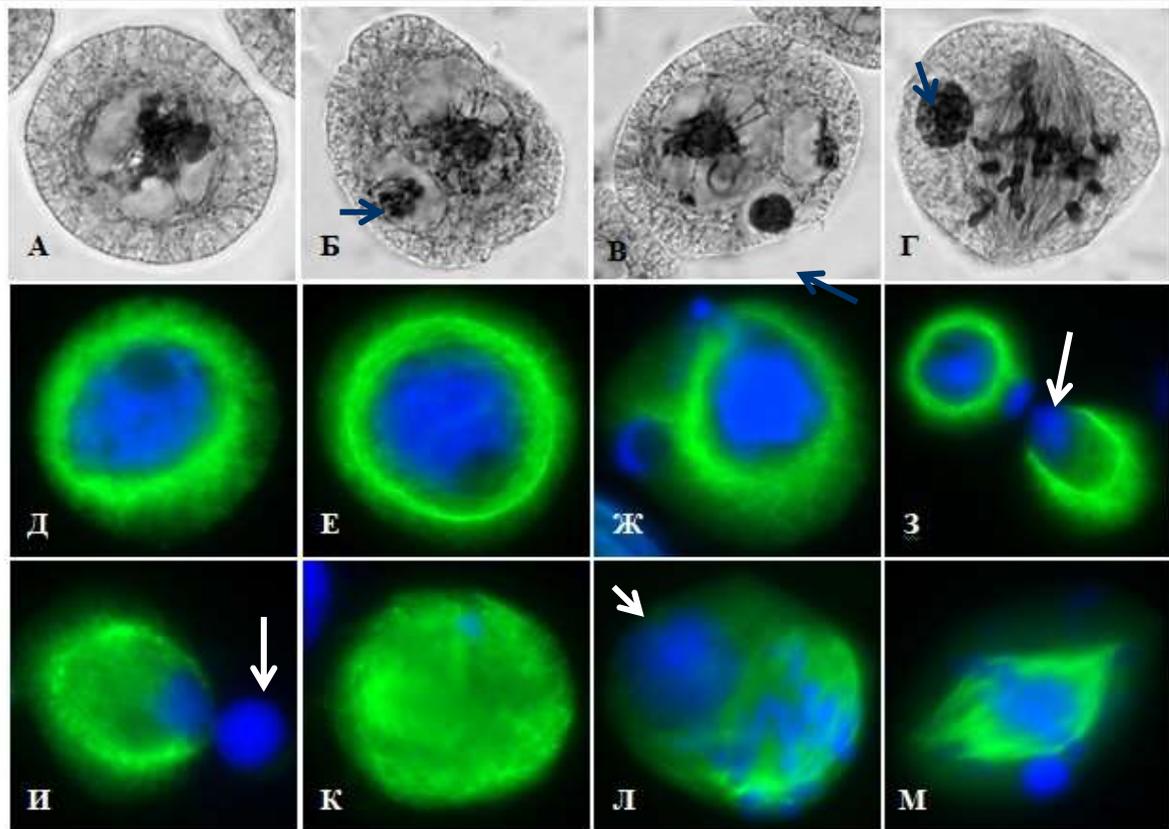
Структура тубулинового цитоскелета в первом делении мейоза в МКМ табака



А-Г – окрашивание по Wada;
Д-М – иммуноокрашивание микротрубочек с помощью антител к α -тубулину;
Зеленый цвет – тубулиновый цитоскелет; синий цвет – ядра, хромосомы.

Структура тубулинового цитоскелета в МКМ триплоидных (А-З) и гаплоидных (И-М) растений табака (*Nicotiana tabacum* L.)

Структура тубулинового цитоскелета в первом делении мейоза в МКМ пшенично-ржаных гибридов



А-Г – окрашивание по Wada;
Д-М – иммуноокрашивание микротрубочек с помощью антител к α -тубулину;
Зеленый цвет – тубулиновый цитоскелет; синий цвет – ядра, хромосомы.

Структура тубулинового цитоскелета в МКМ пшенично-ржаных гибридов (*T. aestivum* L., сорт Саратовская29 / *S. cereale* L., сорт Онохойская)

Выводы:

1. Уровень цитомиксиса достоверно отличается у растений табака различного уровня ploидности;
2. Переход на более высокий уровень ploидности достоверно повышает частоту цитомиксиса в МКМ табака;
3. Частота цитомиксиса выше у триплоидов и анеуплоидов;
4. Уровень цитомиксиса достоверно отличается у видов злаков с различным числом хромосом;
5. Увеличение числа хромосом в ядре достоверно повышает частоту цитомиксиса в МКМ злаков;
6. Цитомиксис в МКМ табака и злаков не связан с нарушениями тубулинового цитоскелета.