

ДИНАМИКА МИКРОТРУБОЧКОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА В МЕЙОЗЕ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ. VI. МЕХАНИЗМЫ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОГО ЦИТОКИНЕЗА

© Н. В. Шамина,¹ Н. М. Ковалева,¹ Е. И. Гордеева,¹ Е. Г. Серюкова²

¹Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, и ²Омский государственный агроуниверситет;
электронный адрес: shamina@bionet.nsc.ru

В работе изучен процесс перехода цитоскелета от веретена деления к фрагмопласту в материнских клетках пыльцы в мейозе дикого типа у ряда видов однодольных растений и у форм с аномальным цитокинезом. Показано, что в последовательном цитокинезе функцию фрагмопласта выполняют фибриллы центрального веретена. В ходе цитокинеза они совершают центробежное движение, изгибаются и умножаются за счет увеличения количества входящих в них микротрубочек. Показана независимость движения фрагмопласта от присутствия клеточной пластинки. На основании полученных данных предложена модель центробежного движения фрагмопласта в мейозе с последовательным цитокинезом.

Ключевые слова: цитоскелет, микротрубочки, фрагмопласт, цитокинез, деление клетки, мейотические мутанты.

Основная функция цитоскелета в телофазе — автономизация дочерних геномов путем разделения цитоплазмы, т. е. осуществление процессов цитокинеза. В ходе эволюции растения выработали способ цитокинеза, представляющий собой модифицированный экзоцитоз. При этом мембранные пузырьки из аппарата Гольджи транспортируются в экваториальную зону цитоплазмы, образуют там монослой (клеточную пластинку), затем сливаются и формируют мембраны дочерних клеток (Stahelin, Hepler, 1996). Поскольку весь внутриклеточный дистанционный транспорт осуществляется микротрубочковым цитоскелетом, именно он играет центральную роль в цитокинезе растительной клетки, где для этого формируется специальная цитоскелетная структура — фрагмопласт (Gunning, 1982; Baskin, Cande, 1990). В лишенной centrosомы растительной клетке механизмы реорганизации цитоскелета из одной структуры в другую остаются во многом неизвестными. В частности, это касается перехода цитоскелета от веретена деления к фрагмопласту. Этот переход описывается как появление между дочерними ядрами ориентированных структур цитоскелета (Baskin, Cande, 1990). Клетка не может создавать микротрубочки (МТ) в любой произвольной точке цитоплазмы. Поэтому описание возникновения МТ фрагмопласта в интерзональной области цитоплазмы без соотношения с активностью и локализацией соответствующих центров организации МТ (ЦОМТ) и без связи с предшествующими структурами цитоскелета (веретеном деления) является недостаточным для понимания процессов реорганизации цитоскелета на этой стадии. В ходе нормального деления процесс формирования фрагмопласта происходит достаточно быстро, поэтому довольно трудно выявить его промежуточные этапы и переходные стадии.

На стадиях от профазы до анафазы включительно цикл перестроек цитоскелета в мейотических делениях

материнских клеток пыльцы (МКП) не различается у видов однодольных и двудольных растений (Hogan, 1987; Staiger, Cande, 1990; Шамина и др., 2000; Шамина, 2003). Различия начинаются в телофазе, когда у однодольных происходит последовательный цитокинез в обоих мейотических делениях, а у двудольных — одновременный цитокинез в телофазе II. В мейотических делениях цитокинез может осуществляться последовательно после каждого деления (как у большинства видов однодольных растений) или только в телофазе второго мейотического деления, одновременно автономизируя четыре дочерних ядра (как у большинства видов двудольных растений). Фрагмопласты в МКП у двудольных и однодольных видов принципиально не различаются по строению: это система длинных микротрубочковых пучков, отходящих от области расположения дочерних групп хромосом и перекрывающихся (+)-концами на экваторе, как и в митотическом фрагмопласте (Euteneuer, McIntosh, 1980; Wick, 1991). По направлению к (+)-концам МТ осуществляется транспорт мембранных пузырьков аппарата Гольджи (пластосом) для формирования их монослоя — клеточной пластинки.

Однако способ формирования клеточной пластинки фрагмопластом в МКП однодольных резко отличается от такового в МКП двудольных. В последовательном цитокинезе фибриллы фрагмопласта совершают центробежное движение в комплексе с растущей клеточной пластинкой, подобно тому как это происходит в митозе. В одновременном цитокинезе фрагмопласт неподвижен (Van Lammeren et al., 1985; Traas et al., 1989), и в разделении цитоплазмы участвует, как считают, инвагинация мембраны материнской клетки (Heslop-Harrison, 1971; Brown, Lemmon, 1988). Механизм формирования фрагмопласта в МКП у однодольных детально не описан. Недостаточно описан также завершающий этап цикла цитоскеле-

та — процесс перехода от фрагмопласта к интерфазным радиальным пучкам в мейоцитах в обоих делениях мейоза у видов как однодольных, так и двудольных растений.

Для изучения цикла реорганизации цитоскелета в ходе деления растительной клетки мы применили подход, заключающийся в анализе разнообразных аномалий этого процесса (Shamina et al., 2003). Удобнее всего использовать для этого мейотическое деление, аномалии которого не влияют на жизнеспособность организма и сравнительно легко доступны у растений. Анализ аномальных делений весьма информативен для изучения характеристик нормального процесса внутриклеточных морфологических преобразований. Формы с аномальным мейозом сравнительно легко доступны у растений, что предоставляет возможность разделить изучаемый процесс на отдельные стадии или обнаружить процессы, скрытые в норме. Структура и функция фрагмопласта в ходе последовательного цитокинеза в мейозе у видов однодольных растений аналогичны митотическому, поэтому данная модель вполне адекватна для изучения цитокинеза в растительной клетке.

В настоящей работе проведено изучение цикла перестроек микротрубочкового цитоскелета в мейотическом делении растительной клетки на стадиях от телофазы до интеркинеза в МКП ряда видов однодольных растений в норме и при различных аномалиях у отдаленных гибридов, мейотических мутантов и аллоплазматических линий. Показано, что основой фрагмопласта в МКП однодольных видов с последовательным цитокинезом являются фибриллы центрального веретена, совершающие центробежное движение в комплексе с новообразующимися полюсными МТ. Предложена модель центробежного движения мейотического фрагмопласта как модификация процессов В-анафазы.

Материал и методика

В работе был исследован мейоз дикого типа у видов однодольных растений семейства злаковых: *Zea mays*, *Triticum aestivum*, *Elytrigia elongatum* и *Secale cereale*, мейоз у пшенично-пырейных гибридов первого поколения (ППГ F1) с нормальным циклом цитоскелета, аномальный мейоз у ППГ F1 № 7-2 (*T. aestivum* сорта Новосибирская 67 × *A. glaucum*), ППГ F1 № 30-2 и 30-4 (*T. aestivum* сорта Кормовая 128 × *E. elongatum*), ППГ F1 № 27-1 (*T. aestivum* сорта Саратовская 29 × *A. glaucum*), № 21-1 (*T. durum* сорта Алтайская Нива × *E. elongatum*), № 1-90, 1-87 и 1-99 (*E. elongatum* × *T. aestivum* сорта Лютеценс 132), ПРГ F1 (*T. aestivum* сорта Саратовская 29 × *S. cereale* сорта Онохойская), а также в пшенично-ржаной аллоплазматической линии СуANK9, у мейотических мутантов *ms43* и *dv* (*Zea mays*).

Цитологический анализ мейоза проводили на световом уровне с визуализацией структур цитоскелета классическим методом (фиксация на Навашину и окраска ацеткармином) и иммуноокрашиванием на тубулин тотальных давленных препаратов пыльников (Shamina et al., 2003).

Результаты

Ход цитокинеза в МКП дикого типа у изученных нами видов злаковых протекал единообразно. После окончания анафазы веретено в МКП состоит практиче-

ски из одних центральных фибрилл, представляющих собой свободные пучки МТ, соединенных (+)-концами на экваторе (рис. 1, а). Хромосомы в телофазе минуют полюсные районы веретена, так что те оказываются как бы под ними, между телофазными группами хромосом и экваториальной областью веретена. С началом телофазы на экваторе веретена начинает формироваться клеточная пластинка в виде монослоя мембранных пузырьков (рис. 1, а). После того как клеточная пластинка пересечет все веретено (или одновременно с этим), центральные фибриллы веретена перераспределяются таким образом, что окружают растущий край клеточной пластинки в виде полого цилиндра — фрагмопласта (рис. 1, б, в). По-видимому, это перераспределение происходит путем перемещения пучков МТ из центра к краям. Возникает полное впечатление, что в МКП роль фрагмопласта исполняют центральные фибриллы веретена, более того — они по существу им и являются. Согласно нашим наблюдениям, фрагмопласт в МКП у однодольных — это не совокупность коротких МТ вокруг клеточной пластинки, как в митозе, но система длинных фибрилл, соединяющих полюсные районы с экватором и окружающих растущий край клеточной пластинки. При визуализации цитоскелета на этой стадии как классическими методами, так и иммуноокрашиванием (рис. 1, д—з) мы не видели никаких признаков того, чтобы система центральных фибрилл веретена в мейозе у однодольных заменялась в ходе телофазы на какой-то другой специальный набор «микротрубочек фрагмопласта».

Ряд аномалий веретена деления подтверждает наблюдение, согласно которому основным компонентом фрагмопласта в мейотическом делении являются центральные фибриллы веретена. Так, при некоторых аномалиях перехода цитоскелета от перинуклеарной системы к веретену деления в метафазе I могут формироваться изогнутые S-образные веретена (Шамина и др., 2003б). Анафазное движение хромосом в них, тем не менее, происходит нормально (рис. 1, и), а в телофазе на экваторе закладывается клеточная пластинка (рис. 1, к, м). Фрагмопласт также имеет S-образную форму (рис. 1, и—м). Центробежное движение такого фрагмопласта происходит, и цитокинез осуществляется. Сохранение фрагмопластом аномальной конфигурации веретена указывает на то, что именно центральные фибриллы веретена осуществляют цитокинез в телофазе. Такой фенотип мы наблюдали в мейозе у ППГ № 7-2 (*T. aestivum* сорта Новосибирская 67 × *A. glaucum*) с частотой от 10 до 20 %.

Морфологические аномалии центрального веретена полностью сохраняются в морфологии фрагмопласта также в фенотипе «разомкнутое веретено». В МКП ППГ F1 № 30-2 и 30-4 (*T. aestivum* сорта Кормовая 128 × *E. elongatum*) нарушено взаимодействие (+)-концов микротрубочковых пучков. Это приводит к формированию в метафазе монополярных веретен (Shamina et al., 2003), а также веретен, в состав которых кроме нормальных центральных фибрилл входят свободные пучки МТ, не соединенные (+)-концами на экваторе (рис. 2, а); частота аномалии 7—10 %. После укорочения кинетохорных фибрилл в анафазе телофазное веретено в таких клетках состоит из полностью сформированных центральных фибрилл и из торчащих в стороны свободных пучков МТ. Центральные фибриллы веретена формируют фрагмопласт, в котором строится клеточная пластинка. Затем эта система движется центробежно, т. е. расширяется из центра к мембране материнской клетки, осуществляя ци-

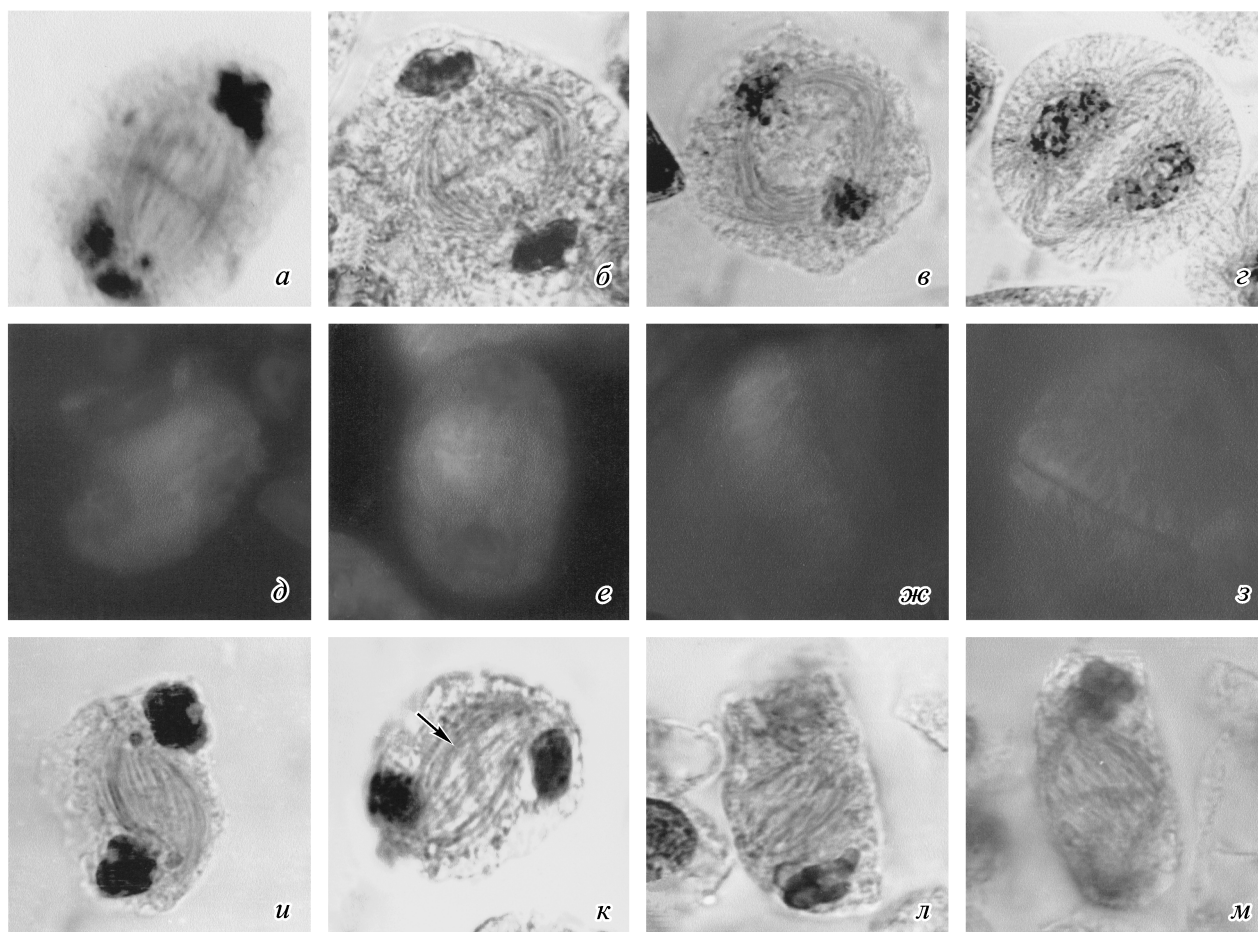


Рис. 1. Ход цитокinesis в нормальном и аномальном мейозе МКП злаков.

a–г — телофаза I в МКП дикого типа пырея удлиненного *Elytrigia elongatum*, фиксация по Навашину с окраской ацетокармином. *a* — ранняя телофаза, на экваторе веретена закладывается клеточная пластинка; *б* — средняя телофаза, центробежное движение фрагмопласта/клеточной пластинки, фибриллы фрагмопласта изгибаются; *в* — поздняя телофаза, фрагмопласт подходит к мембране материнской клетки; *г* — завершение цитокinesis: формирование дочерних клеточных мембран из клеточной пластинки и радиального цитоскелета от дочерних ядер. *д–з* — телофаза в МКП дикого типа кукурузы *Zea mays*, иммуноокрашивание на β -тубулин с окраской хромосом DAPI. *д* — поздняя анафаза—ранняя телофаза; *е* — средняя телофаза; *ж* — поздняя телофаза; *з* — завершение цитокinesis. *и–м* — цитокinesis в фенотипе с S-образным веретеном у ППГ № 7–2, фиксация по Навашину с окраской ацетокармином. *и* — поздняя анафаза; *к* — ранняя телофаза (клеточная пластинка отмечена стрелкой); *л, м* — два фокальных среза одной клетки с S-образным фрагмопластом. Об. 100 \times , ок. 10 \times .

токинез. Пучки свободных МТ сохраняются на периферии расширяющегося фрагмопласта (рис. 2, б). Эта аномалия также демонстрирует, что система центральных фибрилл веретена осуществляет процесс цитокinesis в мейозе у видов однодольных растений.

Еще одним подтверждением этому служит аномальная телофаза в фенотипе «автономное веретено». Эту аномалию мы наблюдали в мейозе у отдаленных гибридов злаков первого поколения: ПРГ F1 (*T. aestivum* сорта Саратовская 29 \times *S. cereale* сорта Онохойская), ППГ F1 № 27-1 (*T. aestivum* сорта Саратовская 29 \times *A. glaucum*), № 21-1 (*T. durum* сорта Алтайская Нива \times *E. elongatum*), а также в пшенично-ржаной аллоплазматической линии СуАНК9 с частотой от 10 до 30 %. По причине полного блокирования формирования кинетохорных фибрилл биполярное метафазное веретено с конвергированными полюсами строится исключительно из центральных фибрилл веретена (рис. 2, в). В телофазе на экваторе этого веретена, лишённого хромосом, происходят закладка клеточной пластинки (рис. 2, г), центробежное движение и цитокinesis (рис. 2, д). Особенно показательным является цитокinesis в одной из разновидностей этого феноти-

па — «комете». Автономное веретено в нем формируется дивергентным и в метафазе представляет собой систему прямых взаимно параллельных фибрилл. Хромосомы отходят к одному из полюсов, скользя по поверхности веретена, по-видимому за счет взаимодействия плеч с его фибриллами. Телофазное веретено в результате имеет характерный вид, напоминающий комету: от единственной группы хромосом веерообразно расходятся фибриллы центрального веретена (рис. 2, е). В телофазе на экваторе веретена (посередине «хвоста кометы») формируется клеточная пластинка (рис. 2, ж), происходят центробежное движение и цитокinesis с отделением цитопласта (рис. 2, з). На десятках синхронизированных МКП последовательные этапы формирования автономного веретена и ход цитокinesis в этом фенотипе хорошо прослеживаются, так что не возникает сомнений в том, что система центральных фибрилл веретена осуществляет цитокinesis в качестве фрагмопласта.

Подтверждением этому может служить тот наблюдаемый нами неоднократно факт, что отсутствие в МКП однодольных биполярной системы центрального веретена неизбежно сопровождается отсутствием цитокinesis.

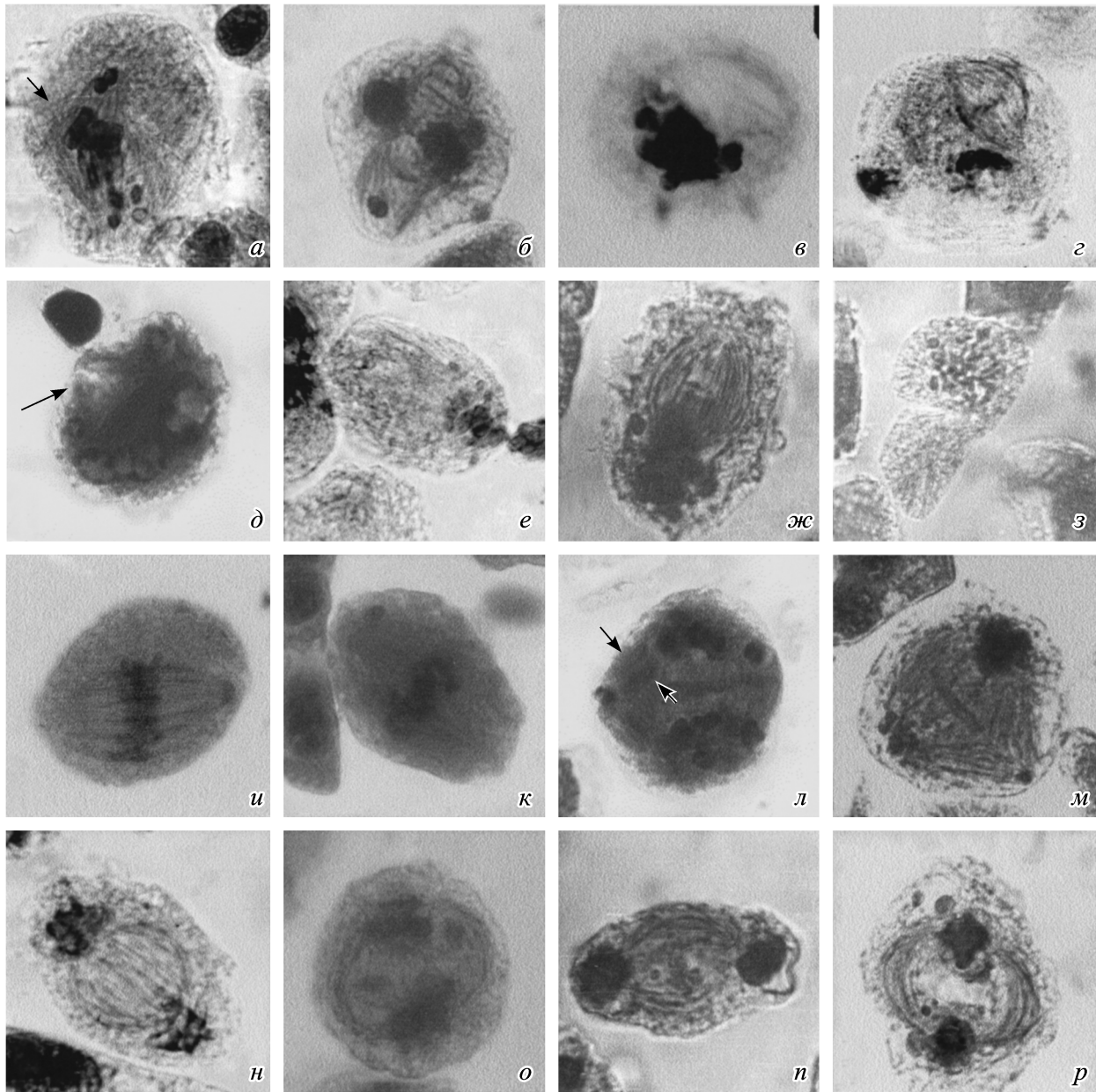


Рис. 2. Аномалии цитокинеза в мейозе отдаленных гибридов злаков первого поколения.

a, б — разомкнутое метафазное веретено и разомкнутый фрагмопласт в МКП ППГ F1 № 30-2 (концы свободных МТ пучков отмечены *стрелкой*). *в-д* — фенотип «автономное веретено» в МКП ППГ F1 № 21-1. *в* — метафаза I; *г* — телофаза I; *д* — цитокинез с дочерними мембранами в виде насечки (отмечено *стрелкой*). *е-з* — фенотип «комета», вариант автономного веретена у ППГ № 27-1. *е* — поздняя анафаза I; *ж* — телофаза I; фрагмопласт состоит из изогнутых фибрилл; *з* — цитокинез с отделением безъядерного цитоплазма. *и-м* — цитокинез при наличии несегрегировавшей хромосомы. *и* — кинетохорные МТ в метафазном веретене *Triticum ferruginea*; *к* — метафазное веретено в МКП ПРГ F1 *T. ferruginea* × *S. cereale*; *л, м* — резкое утолщение кинетохорного пучка (обозначен *стрелками*) несегрегированной хромосомы в ходе телофазы I в МКП ПРГ F1 *T. ferruginea* × *S. cereale*. *н, о* — центробежное движение фрагмопласта в отсутствие клеточной пластинки МКП ППГ F1. *п, р* — нарушение центробежного движения фрагмопласта и соответствующие аномалии формирования клеточной пластинки в МКП ППГ F1. Фиксация по Навашину с окраской ацетокармином. Об. 100×, ок. 10×.

Это характерно для аномалии «хаотическое веретено» в ППГ № 1-90 и 1-87 (*E. elongatum* × *T. aestivum* сорта Лютеценс 132), «монополярное веретено» в ППГ F1 № 30-2 и 30-4 (*T. aestivum* сорта Кормовая 128 × *E. elongatum*) и «нонполярное веретено» в фенотипе мутации *dv* у кукурузы (Shamina et al., 2000). Продуктом деления таких клеток всегда являются монады с микроядрами.

Важной характеристикой динамики цитоскелета в период центробежного движения является значительное увеличение количества МТ во фрагмопласте по сравне-

нию с центральным веретеном, каким оно было в поздней анафазе. Наблюдения изменений цитоскелета в ходе нормальной телофазы показывают, что это увеличение «массы» МТ происходит в период центробежного движения за счет увеличения количества МТ в составе фибрилл центрального веретена, иными словами, за счет утолщения этих фибрилл. Это хорошо иллюстрируется фенотипом аномального телофазного веретена, содержащего биполярно ориентированные униваленты с нерасщепленным кинетохором. Эти униваленты, соединенные

с полюсами веретена кинетохорными фибриллами, не способны перемещаться в анафазе и остаются на экваторе веретена вплоть до окончания деления клетки. В ходе центробежного движения фрагмопласта/клеточной пластинки они оттесняются к периферии. В ходе цитокинеза толщина их кинетохорных фибрилл возрастает в несколько раз за счет увеличения количества входящих в них пучков МТ (рис. 2, *и—м*). Это указывает на то, что в этот период весь цитоскелет претерпевает процесс «утолщения» фибрилл.

В средней телофазе мейоза дикого типа начинается центробежное движение фрагмопласта/клеточной пластинки к мембране материнской клетки. Фрагмопласт приобретает бочонкообразную форму, поскольку его фибриллы изгибаются (рис. 1, *б—з*). По мере продвижения фрагмопласта к периферии его фибриллы становятся все более круто изогнутыми (рис. 1, *а—з*). Мы полагаем, что такое изменение профиля фибрилл веретена является характерной особенностью структуры фрагмопласта на стадии центробежного движения. Это подтверждается фенотипом нескольких аномалий.

Так, в описанном выше фенотипе «комета» прямые фибриллы метафазного дивергентного веретена изгибаются в телофазе, и само веретено приобретает бочонкообразную форму, свойственную фрагмопласту (рис. 2, *е, ж*). Центробежное движение фрагмопласта/клеточной пластинки и формирование дочерних клеточных мембран происходят нормально, несмотря на то что на одном из полюсов отсутствуют хромосомы.

Важную характеристику центробежного движения фрагмопласта вскрывает аномалия с блокированием формирования клеточной пластинки в телофазе I. Мы наблюдали ее с частотой от 3 до 10 % в фенотипе у ППГ F1 10 вариантов скрещивания и 2 вариантов ПРГ F1. В ППГ F1 № 1-99 (*E. elongatum* × *T. aestivum* сорта Лютесценс 132) эта аномалия носит массовый характер — в 30 % МКП (рис. 2, *н*). В ранней телофазе в экваториальной зоне веретена клеточная пластинка отсутствует, а затем «пустой» фрагмопласт в виде полого цилиндра, а точнее, полого бочонка, поскольку его фибриллы изогнуты, начинает центробежное движение к мембране материнской клетки (рис. 2, *о—р*). По мере того как фрагмопласт перемещается от центра к периферии, его фибриллы становятся все более изогнутыми. Этот феномен подтверждает наблюдение, согласно которому изгиб пучков МТ на стадии центробежного движения является собственной характеристикой цитоскелетной системы фрагмопласта. Она также обнаруживает самостоятельную роль фрагмопласта в центробежном движении.

В некоторых фенотипах нарушение цитокинеза происходит по причине аномалий процесса центробежного движения фрагмопласта и клеточной пластинки. Это проявляется в том, что фрагмопласт останавливается, не достигая мембраны материнской клетки. Клеточная пластинка в таком фрагмопласте всегда аномальна: она не является монослоем пузырьков, а имеет форму облака, сильно искривлена (рис. 2, *п, р*). Иногда в таких случаях фрагмопласт/клеточная пластинка расширяются в стороны несимметрично, т. е. один край движется, а другие нет. В результате этого система достигает материнской мембраны только одним своим краем, клеточная пластинка пересекает цитоплазму не полностью, и дочерние клеточные мембраны имеют вид насечки, или инвагинации, внутрь материнской цитоплазмы. Эту аномалию ци-

токинеза мы наблюдали в фенотипе мейотического мутанта *ms43* у кукурузы, а также у ППГ F1 № 13-2 и 13-4 (*T. aestivum* АНК9 × *A. glaucum* 52-3).

Обсуждение

Механизмы формирования фрагмопласта в растительной клетке изучены недостаточно. В настоящее время считается, что в соматических клетках фрагмопласт формируется путем появления новых пучков МТ в пространстве между разошедшимися группами хромосом (Zang et al., 1990). Клетка не может формировать МТ в любой произвольной точке цитоплазмы: полимеризация новых МТ может происходить только на специальных морфологических структурах — центрах организации микротрубочек (ЦОМТ) (Lambert, 1995; Marc, 1997). Остается неизвестным, на каких организующих структурах происходит формирование фрагмопласта в соматических клетках. В мейоцитах у видов двудольных растений фрагмопласты в одновременном цитокинезе формируются из систем МТ, полимеризующихся от полюсов телофазных веретен (Tiezzi et al., 1992).

Анализ цитоскелета в телофазе нормального и аномального мейозов в МКП у видов однодольных растений методами световой микроскопии и иммуноцитохимии не выявил дополнительного формирования специальных систем МТ для построения фрагмопласта. Функцию фрагмопласта, по нашим данным, выполняют центральные фибриллы веретена, сохраняющиеся в интерзоне после укорочения кинетохорных МТ в анафазе и расхождения хромосом. Вдоль них осуществляется транспорт пластосом (мембранных пузырьков клеточной пластинки) в экваториальную зону (Дорогова, Шамина, 1995). Затем эти фибриллы перегруппировываются, окружая растущий край клеточной пластинки в виде слоя, и изгибаются. Точки перекрывания противоположно направленных МТ в изогнутых фибриллах фрагмопласта (центральная часть фибриллы) начинают центробежное движение к мембране материнской клетки; при этом продолжается транспорт пластосом в эту точку, т. е. к растущему краю клеточной пластинки. Параллельно происходит утолщение фибрилл фрагмопласта за счет увеличения количества входящих в них МТ.

Факт утилизации фибрилл веретена для осуществления процесса цитокинеза подтверждают также описанные нами аномалии цитоскелетного цикла: S-образный фрагмопласт в клетках с S-веретеном (Шамина и др., 2003б), разомкнутый фрагмопласт, цитокинез в фенотипе «комета» (Серюкова и др., 2003) и цитокенез в автономном веретене (Шамина и др., 2003а). Косвенно на это указывает также отсутствие фрагмопласта и цитокинеза в фенотипах с хаотическим и неполярным веретеном, в которых центральные фибриллы веретена дезориентированы (Shamina et al., 2000; Серюкова и др., 2003).

Изгиб фибрилл веретена в телофазе является специальным процессом формирования фрагмопласта, а не результатом деформирующего действия со стороны растущей клеточной пластинки, что подтверждает изогнутый профиль фибрилл во фрагмопластах, лишенных клеточной пластинки. Этот же аномальный фенотип служит доказательством независимости фрагмопласта от клеточной пластинки в осуществлении его важнейшей функции — центробежного движения. Ранее полагали, что именно растущая клеточная пластинка раздвигает фиб-

риллы фрагмопласта, т. е. служит причиной центробежного перемещения всей системы (Yasuhara, Shibaoka, 2000; Nishihama, Machida, 2001).

Центробежное перемещение фибрилл центрального веретена в виде подвижного фрагмопласта в ходе формирования клеточной пластинки можно представить как модификацию основных процессов цикла реорганизации цитоскелета. Аномальный фенотип цитокинеза в отсутствие формирования клеточной пластинки в мейозе у однодольных демонстрирует, что центробежное движение фибриллярной системы фрагмопласта является его собственной функцией, а не следствием расширения клеточной пластинки. Изгиб фибрилл фрагмопласта в ходе центробежного движения также является его неотъемлемым свойством. Сопоставив эти результаты с данными литературы об активном присоединении субъединиц тубулина в зоне перекрывания МТ фрагмопласта (Vantard et al., 1990; Zang et al., 1990) и о присутствии там (+)-направленной моторной активности кинезин-подобных белков (Asada et al., 1997; Lee, Liu, 2000), можно предложить простую модель центробежного движения фрагмопласта в МКП как модификацию процесса В-анафазы. В-анафаза осуществляется в животных и в некоторых типах растительных клеток и представляет собой удлинение центрального веретена с раздвижением полюсов и дочерних групп хромосом. К этому приводят наращивание и взаимное скольжение противоположно направленных пучков МТ в зоне перекрывания их (+)-концов (Cande, 1982; Brust-Mascher, Scholey, 2002). Можно предположить, что в телофазе в МКП однодольных из-за происходящего на этой стадии изгиба пучков МТ центрального веретена районы полюсов будут оставаться неподвижными, а точки перекрывания (+)-концов МТ будут смещаться латерально, т. е. совершать центробежное движение. С этой точки зрения важно, что кривизна фибрилл фрагмопласта возрастает в ходе центробежного движения.

О возможной эволюционной связи механизмов В-анафазы и центробежного движения фрагмопласта свидетельствуют результаты исследования белков, ассоциированных с МТ в делящихся растительных клетках. Так, в клетках мезофилла табака обнаружен белок NtMAP65-1, локализующийся в зоне перекрывания (+)-концов МТ фрагмопласта (Smertenko et al., 2000) и обнаруживающий значительную гомологию с микротрубочкоассоциированными белками PRC1 (Protein Regulator of Cytokinesis) человека (Jiang et al., 1998) и Ase1 (Anaphase spindle elongation) дрожжей (Pellman et al., 1995). Эти белки необходимы, в частности, для удлинения веретена в ходе В-анафазы. Аналогично NtMAP65-1 может осуществлять удлинение фибрилл фрагмопласта в ходе его центробежного движения.

Авторы глубоко благодарны Г. М. Серюкову (Омский государственный агроуниверситет) за материал пшенично-пырейных гибридов первого поколения, любезно предоставленный для цитологического исследования.

Список литературы

- Дорогова Н. В., Шамина Н. В. 1995. Ультраструктура аномального мейоза у мутанта *ms43* у кукурузы. Цитология. 37 (7) : 561—566.
- Серюкова Е. Г., Дорогова Н. В., Жарков Н. А., Шамина Н. В. 2003. Нарушения прометафазы, приводящие к реституции ядер. Цитология. 45 (3) : 244—248.

Шамина Н. В. 2003. Динамика микротрубочкового цитоскелета в мейозе у высших растений. I. Околядерное кольцо микротрубочек и построение мейотического веретена. Цитология. 45 (7) : 650—654.

Шамина Н. В., Дорогова Н. В., Перельман П. Л. 2000. Нарушения мужского мейоза у гороха *Pisum sativum* L., вызываемые мутацией *ms3*. Цитология. 42 (4) : 404—411.

Шамина Н. В., Дорогова Н. В., Серюкова Е. Г., Силкова О. Г. 2003а. Динамика микротрубочкового цитоскелета в мейозе у высших растений. II. Формирование перинуклеарного кольца микротрубочек. Цитология. 45 (7) : 655—660.

Шамина Н. В., Дорогова Н. В., Серюкова Е. Г. 2003б. Динамика микротрубочкового цитоскелета в мейозе у высших растений. III. Стадии ранней прометафазы. Цитология. 45 (7) : 661—667.

Asada T., Kuriyama R., Shibaoka H. 1997. TKRP125, a kinesin-related protein involved in the centrosome-independent organization of the cytokinetic apparatus in tobacco. J. Cell Sci. 110 : 179—189.

Bajer A. S., Smirnova E. A. 1999. Reorganization of microtubular cytoskeleton and formation of cellular processes during post-telophase in *Haemanthus* endosperm. Cell Motil. Cytoskeleton. 44 : 96—109.

Baskin T. I., Cande W. Z. 1990. The structure and function of the mitotic spindle in flowering plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 41 : 27—315.

Brown R. C., Lemmon B. E. 1988. Cytokinesis occurs at boundaries of domains delimited by nuclear-based microtubules in sporocytes of *Conocephalum conicum*. Cell Motil. Cytoskeleton. 11 : 139—146.

Brust-Mascher I., Scholey J. M. 2002. Microtubule flux and sliding in mitotic spindles of *Drosophyla* embryos. Mol. Biol. Cell. 13 : 3967—3975.

Cande W. Z. 1982. Nucleotide requirements for anaphase chromosome movements in permeabilized mitotic cells: anaphase B but not anaphase A requires ATP. Cell. 28 : 15—22.

Euteneuer U., McIntosh J. R. 1980. Polarity of midbody and phragmoplast microtubules. J. Cell Biol. 87 : 509—515.

Gunning B. E. S. 1982. The cytokinetic apparatus: its development and spatial regulation. In: The cytoskeleton in plant growth and development. London: Acad. Press. 229—292.

Heslop-Harrison J. 1971. Wall pattern formation in angiosperm microsporogenesis. Symp. Soc. Exp. Biol. 25 : 277—300.

Hogan C. 1987. Microtubule patterns during meiosis in two higher plant species. Protoplasma. 138 : 126—136.

Jiang W., Jimenes G., Wells N. J., Hope T. J., Wahl G. M., Hunter T., Fukunaga R. 1998. PRC1: a human mitotic spindle-associated CDK substrate protein required for cytokinesis. Mol. Cell. 2 : 877—885.

Lambert A. M. 1995. Microtubule-organizing centers in higher plants — evolving concepts. Bot. acta. 108 : 535—537.

Lee Y. R., Liu B. 2000. Identification of a phragmoplast-associated kinesin-related protein in higher plants. Curr. Biol. 10 : 797—800.

Marc J. 1997. Microtubule-organizing centres in plants. Trends Plant Sci. 2 : 223—230.

Nishihama R., Machida Y. 2001. Expansion of the phragmoplast during plant cytokinesis: a MAPK pathway may MAP it out. Curr. Opin. Plant Biol. 4 : 507—512.

Pellman D., Bagget M., Tu Y. H., Fink G. R., Tu H. 1995. Two microtubule associated proteins required for anaphase spindle movement in *Saccharomyces cerevisiae*. J. Cell Biol. 130 : 1373—1385.

Shamina N. V., Dorogova N. V., Trunova T. A. 2000. Radial spindle and the phenotype of maize meiotic mutant, *dv*. Cell Biol. Int. 24 : 729—736.

Shamina N. V., Silkova O. G., Serukova E. G. 2003. Monopolar spindles in meiosis of intergeneric cereal hybrids. Cell Biol. Int. 27 : 657—664.

Smertenko A., Saleh N., Igarashi H., Mori H., Hauser-Hahn I., Jiang C. J., Sonobe S., Lloyd C. W., Hussey P. J. 2000. A new class of microtubule-associated proteins in plants. Nat. Cell Biol. 2 : 750—753.

Stahelin L. A., Hepler P. K. 1996. Cytokinesis in higher plants. *Cell*. 84 : 821—824.

Staiger C. H., Cande W. Z. 1990. Microtubule distribution in *dv*, a maize meiotic mutant defective in the prophase to metaphase transition. *Develop. Biol.* 138 : 231—242.

Tiezzi A., Bednara J., Del Casino C., Bartalesi A., Cai G., Moscatelli A. 1992. The microtubular cytoskeleton during pollen development and pollen tube growth in *Nicotiana tabacum*. In: *Angiosperm pollen and ovules*. New York: Springer-Verlag. 224—232.

Traas J. A., Burgain S., Dumas de Vaulx R. 1989. The organization of the cytoskeleton during meiosis in eggplant *Solanum melongena* L.: microtubules and F-actin are both necessary for coordinated meiotic division. *J. Cell Sci.* 92 : 541—550.

Van Lammeren A. A. M., Keijzer C. J., Willemsse M. T. M., Kieft H. 1985. Structure and function of the microtubular cytoskeleton

during pollen development in *Gasteria verrucosa* (Mill.) H. Duval. *Planta*. 165 : 1—11.

Vantard M., Levilliers N., Hill A. M., Adoutte A., Lambert A. M. 1990. Incorporation of *Paramecium* tubulin into higher plant cells reveals functional sites of microtubule assembly. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 87 : 8825—8829.

Wick S. M. 1991. Spatial aspects of cytokinesis in plant cells. *Curr. Opin. Cell Biol.* 3 : 253—260.

Yasuhara H., Shibaoka H. 2000. Inhibition of cell-plate formation by brefeldin A inhibited the depolymerization of microtubules in the central region of the phragmoplast. *Plant Cell Physiol.* 41 : 300—310.

Zang D., Wadsworth P., Hepler P. K. 1990. Microtubule dynamics in living plant cells: confocal imaging of microinjected fluorescent brain tubulin. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 87 : 8820—8824.

Поступила 24 II 2005

DYNAMICS OF MICROTUBULAR CYTOSKELETON IN HIGHER PLANT MEIOSIS. VI. MECHANISMS OF THE SUCCESSIVE CYTOKINESIS

N. V. Shamina,¹ N. M. Kovaleva,¹ E. I. Gordeeva,¹ E. G. Seryukova²

¹ Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, and ² Omsk State Agricultural University;
e-mail: shamina@bionet.nsc.ru

Intracellular morphological processes of successive cytokinesis in cereal pollen mother cells during normal and abnormal meiosis were studied. It was shown that the central spindle fiber system transforms into a phragmoplast at telophase. A model of centrifugal movement of the phragmoplast as a modification of B-anaphase has been proposed.

Key words: cytoskeleton, plant cell division, meiotic mutants, phragmoplast, MTs.