

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОМИКСИСА В МАТЕРИНСКИХ КЛЕТКАХ ПЫЛЬЦЫ У ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА *NICOTIANA TABACUM* L. С МУТАНТНЫМ ФЕНОТИПОМ

© Ю. В. Сидорчук, Е. В. Дейнеко, В. К. Шумный

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск;
электронный адрес: sidorch@bionet.nsc.ru

Представлены частотные характеристики и цитологический анализ цитомиксиса в ходе микроспорогенеза у трансгенных растений табака *Nicotiana tabacum* L. с измененным строением цветка и мужской стерильностью. Показано влияние цитомиксиса на качественный состав продуктов мейоза (формирование цитопластов и полиад). Установлено повышение частоты проявления цитомиксиса в результате удвоения числа хромосом у исследованных растений.

Ключевые слова: цитомиксис, материнские клетки пыльцы, мейоз.

Явление перехода ядерного материала из одной клетки в другую, известное под названием «цитомиксис», довольно широко распространено в природе и описано для многих видов растений (Камра, 1960; Heslop-Harrison, 1966; Шнайдер, 1975). Как правило, цитомиксис наблюдается в материнских клетках пыльцы (МКП) (Heslop-Harrison, 1966; Романова, Орлова, 1971; Bauchan, 1987; Falistocco et al., 1995; Caetano-Pereira, Pagliarini, 1997). Однако известны случаи миграции хромосом и в других тканях, например в клетках апикальной меристемы у древесных растений (Кострицына, Солдатов, 1991; Guzicka, Wozny, 2004), в предзародышах злаков (Ключарева, 1983) и вегетативных тканях пыльника (Ван и др., 2004). Чаще всего цитомиксис регистрируется в профазе первого мейотического деления (Шкутина, Козловская, 1974; Bauchan, 1987; Feijo, Pais, 1989; Шамина и др., 2000). Рядом авторов описаны случаи перемещения ядерного материала и на других стадиях мейоза, включая стадию тетрад (Basavaiah, Murthy, 1987; Falistocco et al., 1995; De Souza, Pagliarini, 1997; Ressayre et al., 2003).

Установлено, что цитомиксис в основном характерен для генетически несбалансированных растений, таких как гибриды, мутанты и анеуплоиды (Premachandran et al., 1988; Peng et al., 2003; Zhou, 2003). Это явление описано и для полиплоидных видов растений (Камра, 1960; Basavaiah, Murthy, 1987; Sheidai, Attaei, 2005), однако прямой корреляции между уровнем пloidности и увеличением частоты цитомиксиса не отмечено (Saleses, 1970; De Souza, Pagliarini, 1997).

В известной нам литературе нет данных о встречаемости цитомиксиса у генетически модифицированных (трансгенных) растений, тогда как хорошо известно, что встраивание фрагментов экзогенной ДНК в районы расположения собственных генов растения может приводить к изменению их функций и формированию мутантного фенотипа (Feldmann, 1991). У трансгенных растений описаны различные нарушения мейотического деления (He et

al., 1996; Peirson et al., 1996), хромосомные перестройки (Nacry et al., 1998), а также изменение числа хромосом и уровня пloidности (Matzke et al., 1994; Choi et al., 2000a, 2000b), индуцированные в процессе трансформации.

Цель данной работы — сравнительный анализ частоты цитомиксиса в МКП трансгенных растений табака с мутантным фенотипом, изучение особенностей его проявления на клеточном уровне, а также возможных генетических причин его возникновения (соматоклональная изменчивость и инсерционный мутагенез).

Материал и методика

Материалом для исследований послужили трансгенные растения табака с мутантным фенотипом, обозначенные как 16.70, Res73, 121.92, 121.57, 121.86, Res79 и Res61 (исследуемая группа). Данные растения были выделены нами ранее из серии независимо полученных трансформантов (Дейнеко и др., 2000) и характеризовались измененной морфологией цветков и пониженным уровнем мужской фертильности. Для сравнительного анализа при выявлении особенностей цитомиксиса у обозначенной выше группы использовали растения исходной линии SR1 (контроль 1), регенеранты (контроль 2), трансформанты с неизменной морфологией цветка (контроль 3) и нетрансгенные растения с удвоенным числом хромосом (контроль 4). Регенеранты и трансформанты были получены из листовых эксплантов линии SR1 по стандартной методике (Horsch et al., 1985). Для удвоения числа хромосом и получения полиплоидных форм семени табака (линия SR1) обрабатывали колхицином (методику см.: Smiley, Stokes, 1966). Растения выращивали в условиях гидропонной теплицы с фотопериодом 16/8 ч (день/ночь), при 22/18 °C (день/ночь).

Числа хромосом у растений табака подсчитывали в меристемах кончиков корней. Кончики корней фиксиро-

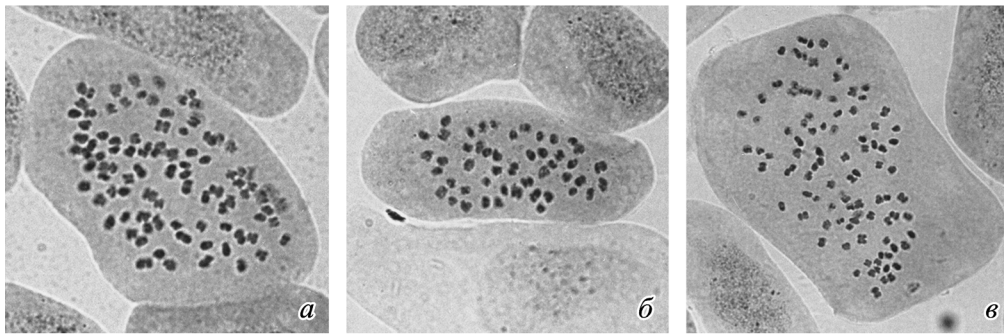


Рис. 1. Метафазные хромосомы клеток меристемы кончиков корней у растений табака.

a — число хромосом у трансгенных растений исследуемой группы (фенотипы 16.70, Res73, 121.92, 121.57, 121.86, Res79 и Res61), $2n = 96$; *b* — число хромосом у растений контрольных групп 1—3, $2n = 48$; *v* — число хромосом у растений контрольной группы 4, $2n = 96$. Об. $100\times$.

вали по Карнуа (3 части 96 %-ного этанола, 1 часть ледяной уксусной кислоты) в течение 1 сут с предварительной обработкой эмульсией α -бромнафталина в течение ночи при $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Зафиксированный материал дважды промывали 70 %-ным этанолом по 2—3 ч и хранили в 70 %-ном этаноле при $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Мацерацию материала проводили 45 %-ной уксусной кислотой. Число хромосом подсчитывали не менее чем в 10 клетках на давленных препаратах, окрашенных 4 %-ным уксуснокислым кармином.

Для анализа мейотического деления бутоны цветков табака фиксировали по той же методике, что и кончики корней, исключая предобработку α -бромнафталином. Цитологический анализ стадий мейоза в пыльниках из 3—5 бутонов для каждого образца проводили на давленных препаратах МКП табака при окрашивании 4 %-ным уксуснокислым кармином. Частоту цитомиксиса подсчитывали на стадии профазы 1 мейоза в 1000—2500 мейоцитах для каждого пыльника.

Фотографии в проходящем свете делали на микроскопе Axsioskop 2 plus с помощью фотонасадки MC80, используя объектив $100\times$.

Результаты

Хромосомный анализ. Было установлено, что трансгенные растения табака исследуемой группы, характеризовавшиеся измененной морфологией цветков и пониженным уровнем мужской фертильности, имели удвоенное число хромосом ($2n = 96$) в меристемах кончиков корней (рис. 1, *a*). Растения из контрольных групп с неизменной морфологией цветков и нормальной фертильностью (контроли 1—3) имели стандартный для вида набор хромосом ($2n = 48$) (рис. 1, *b*). Таким образом, результаты свидетельствуют о спонтанном удвоении числа хромосом у растений исследуемой группы. Следует отметить, что растения табака, полученные в результате обработки проросших семян раствором колхицина (контроль 4), имели удвоенное число хромосом (рис. 1, *v*) и характеризовались такими же изменениями в морфологии цветков и снижением мужской фертильности, как и растения исследуемой группы.

Частота цитомиксиса. В таблице представлены данные по частоте встречаемости цитомиксиса в МКП у исследуемой (трансгенные растения с мутантным фенотипом) и контрольных групп растений табака в профазе первого деления мейоза. Необходимо отметить, что цито-

миксис был выявлен в МКП у всех анализируемых групп растений (см. таблицу). Установлено, что в контрольных группах растений с неизменным числом хромосом ($2n = 48$) частота встречаемости цитомиксиса варьировала от $3.4 \pm 0.8\%$ (контроль 3) до $4.0 \pm 0.4\%$ (контроль 1). Для нетрансгенных растений табака с удвоенным числом хромосом (контроль 4) частота проявления цитомиксиса существенно увеличилась и в среднем составила $18.0 \pm 0.7\%$.

Среди группы трансгенных растений с измененной морфологией цветка наблюдалась широкая вариабельность в проявлении анализируемого признака. Размах изменчивости по частоте цитомиксиса составил от 7.6 % у растения Res61 до 44.6 % у растения 16.70. Отмечены единичные случаи, когда в цитомикстический обмен было вовлечено до 100 % МКП в пыльнике. В среднем частота цитомиксиса в анализируемой группе растений составила $23.3 \pm 5.3\%$. В целом уровень цитомиксиса у трансген-

Частота проявления цитомиксиса в МКП у растений табака

Растения	Всего растений	Частота цитомиксиса, %	
Трансгенные с мутантным фенотипом, $2n = 96$	16.70	1	44.6
	Res73	1	39.1
	121.92	1	26.9
	121.57	1	15.7
	121.86	1	15.0
	Res79	1	14.0
	Res61	1	7.6
	Итого:	7	23.3 ± 5.3^a
Нетрансгенные с нормальным фенотипом, $2n = 48$	Контроль 1 (SR1)	3	4.0 ± 0.4^a
	Контроль 2 (регенеранты)	10	3.9 ± 0.4^a
Трансгенные с нормальным фенотипом, $2n = 48$	Контроль 3 (трансформанты)	8	3.4 ± 0.8^a
Нетрансгенные с мутантным фенотипом, $2n = 96$	Контроль 4 (колхицинированные)	3	18.0 ± 0.7^a

^a Средняя частота встречаемости цитомиксиса в группах.

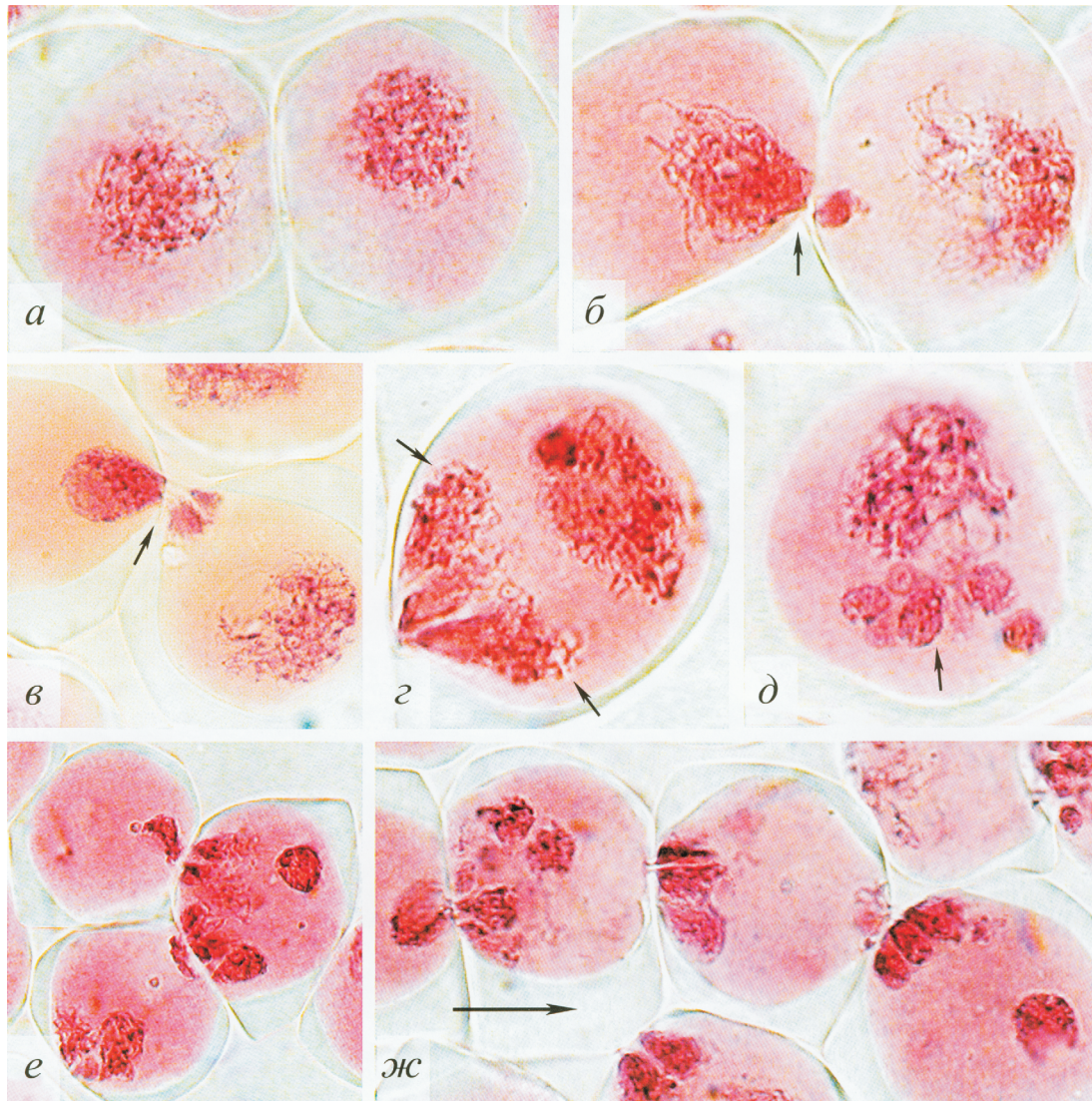


Рис. 2. Цитологические картины цитомиксиса в материнских клетках пыльцы (МКП) табака на стадии пахитены в профазе I мейоза.

а — МКП в норме, линия SR1 (контроль 1). *б—ж* — МКП с мигрирующим хроматином, трансгенные растения табака с мутантным фенотипом: *б* — перемещение хроматина по одному цитомиктическому каналу, *в* — перемещение хроматина по нескольким цитомиктическим каналам (видны как минимум 4 тяжа хроматина), *г* — восстановление структуры хроматина в реципиентной клетке, *д* — микродроза, *е* — одна клетка является реципиентом для двух соседних, *ж* — цепочка клеток, объединенных мигрирующим хроматином. Стрелкой указано направление движения хроматина.

ных растений с удвоенным числом хромосом (даже у Resb1 с минимальным его проявлением) был выше, чем у контрольных растений (как трансгенных, так и нетрансгенных) со стандартным набором хромосом (контроли 1—3).

Полученные результаты свидетельствуют о наличии «исходного» (3—4 %) цитомиксиса в МКП контрольных групп растений (трансгенных и нетрансгенных) с неизменным числом хромосом. На основании сравнения частот межклеточных перемещений ядерного материала у полиплоидных (исследуемая группа и контроль 4) и обычных форм табака (контроли 1—3) установлено повышение частоты проявления цитомиксиса в МКП при изменении уровня пloidности.

Цитологическая картина цитомиксиса. На рис. 2 представлены мейозиты табака на стадии пахитены в профазе первого деления мейоза у контрольных растений (рис. 2, *а*) и трансгенных растений с удвоенным числом хромосом (рис. 2, *б—ж*). У исследованных нами рас-

тений перемещение ядра и содержащихся в нем хромосом происходило как по одному (рис. 2, *б*), так и по нескольким цитомиктическим каналам одновременно (рис. 2, *в*). Регистрировались клетки, у которых число таких каналов достигало 8—10. В ходе цитомиксиса ядро донорной МКП уплотнялось, вытягивалось по направлению к месту цитомиктического контакта и затем перемещалось в реципиентную клетку по цитомиктическим каналам (рис. 2, *б, в*). Несмотря на то что в месте контакта хроматин в составе ядра сильно уплотнялся, в реципиентной клетке происходило восстановление его нормальной структуры (рис. 2, *г*) и образование одного или нескольких микроядер (рис. 2, *д*). Наряду с этим в некоторых случаях ядро донорной клетки уплотнялось чрезмерно, теряло структуру, фрагментировалось и перетекало из клетки в виде бесструктурных капель хроматина. Согласно нашим наблюдениям, такой хроматин в дальнейшем элиминировался, а МКП деградировали.

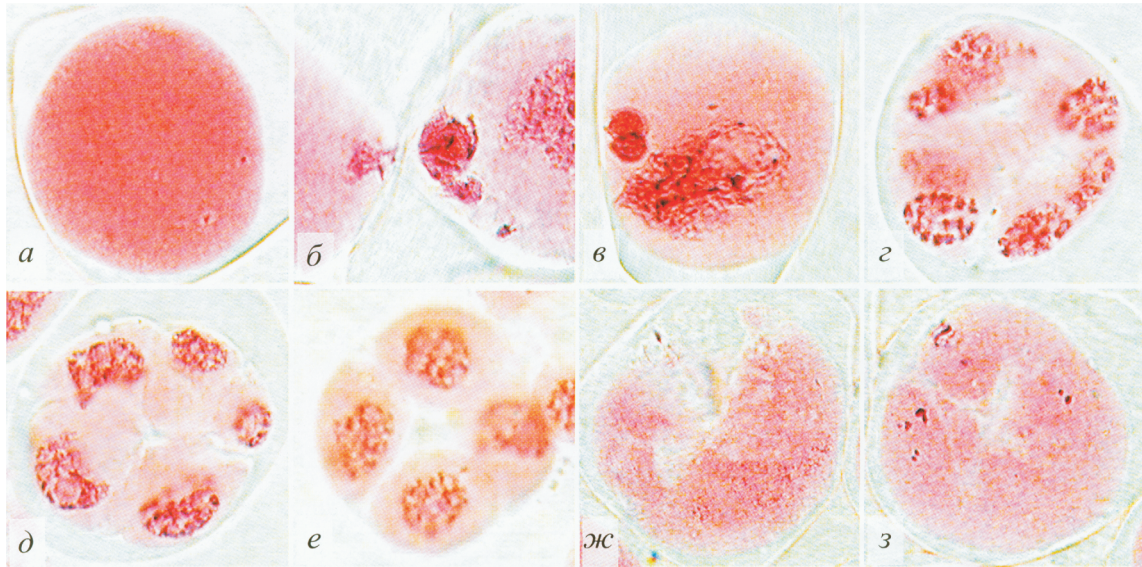


Рис. 3. Последствия цитомиксиса на клеточном уровне.

a—в — процесс формирования цитопласта и микроядер в результате цитомиксиса в профазе I: *a* — цитопласт, *б* — переход хроматина по цитомиктическому каналу в цитоплазму соседней клетки и образование микроядра, *в* — два микроядра в цитоплазме реципиентного мейоцита. *г—з* — последствия цитомиксиса на стадии тетрады: *г, д* — полиады; *е* — тетрада нормального вида; *ж, з* — аномальный цитокинез в цитопластах.

Как правило, в процессе цитомиксиса участвовали две клетки, одна из которых служила донором ядерного материала, а другая — реципиентом (рис. 2, *б—г*). Однако довольно часто регистрировались случаи, когда одна клетка являлась реципиентом для двух соседних (рис. 2, *е*). У большинства изученных нами мутантов цитомиксис носил массовый характер, поэтому на препаратах фигурировали цепочки клеток, объединенные попарно переходящими хромосомами (рис. 2, *ж*). Несмотря на то что цитомиксис достигал максимального проявления в средней профазе I, наблюдать его можно было и на всех последующих стадиях мейоза, включая стадию тетрады.

В большинстве случаев цитологическая картина цитомиксиса у трансгенных растений с мутантным фенотипом характеризовалась значительным числом переходящих хромосом, в результате чего уже на стадии профазы I регистрировались очевидные последствия миграции ядер: клетки, полностью лишённые ядра и хромосом (цитопласты) (рис. 3, *а*), а также клетки с микроядрами (рис. 3, *б, в*). В дальнейшем клетки с микроядрами проходили все стадии мейотического деления с образованием полиад (рис. 3, *г д*).

Таким образом, среди продуктов мейоза у полиплоидных трансгенных растений наряду с внешне нормальными тетрадами (рис. 3, *е*) можно было наблюдать полиады и цитопласты. Интересно отметить, что, несмотря на отсутствие хромосом, часть цитопластов претерпевала беспорядочное деление на фрагменты в результате аномального цитокинеза (рис. 3, *ж, з*).

Цитологическая картина цитомиксиса в МКП нетрансгенных полиплоидных растений (контроль 4) не имела каких-либо явных отличий от таковой у трансгенных растений с удвоенным числом хромосом. У растений контрольных групп с диплоидным набором хромосом (контроли 1—3), несмотря на наличие 3—4 % цитомиксиса в профазе I мейоза, среди продуктов мейоза никогда не наблюдали полиад, а цитопласты обнаруживались в исключительно редких, единичных, случаях.

Обсуждение

В настоящее время известно, что широкий спектр мутационной изменчивости у трансгенных растений может быть вызван как нарушением функционирования отдельных генов в результате встраивания в геном экзогенной ДНК (Feldmann, 1991), так и изменением у них в процессе культивирования *in vitro* числа хромосом или уровня ploидности (Matzke et al., 1994; Choi et al., 2000a, 2000b). Среди изученных нами групп растений табака повышенный уровень цитомиксиса регистрировался только в группах, где растения характеризовались удвоенным числом хромосом. Таким образом, полученные данные делают очевидным тот факт, что основной причиной, приводящей к повышению частоты цитомиксиса у растений табака, является изменение уровня ploидности. В пользу данного предположения свидетельствует также и отсутствие повышенного уровня цитомиксиса в группах растений—регенерантов (контроль 2) и трансгенных растений с нормальной морфологией цветка (контроль 3).

Влияние уровня ploидности позволяет объяснить наличие цитомиксиса в контрольных группах растений со стандартным набором хромосом (контроли 1—3). Известно, что вид *N. tabacum* L. объединяет геномы двух родительских видов (*N. sylvestris* и *N. tomentosiformis*), т. е. уже является аллотетраплоидом с числом хромосом, равным 48 (Lim, 2000). Таким образом, невысокий «исходный» уровень цитомиксиса может быть обусловлен именно аллотетраплоидной природой вида *N. tabacum* L.

В литературе неоднократно отмечалась значительная изменчивость по частоте цитомиксиса не только между отдельными растениями в исследуемых популяциях, между разными бутонами, собранными с одного растения, но даже между локулами одного пыльника (Heslop-Harrison, 1966; Романов, Орлова, 1971; Шкутина, Козловская, 1974). Ряд авторов связывают это явление с особенностями функционирования генов, контролирующими данный признак (Soodan, Wafai, 1987; Feijo, Pais, 1989; Саета-

по-Pereira, Pagliarini, 1997). Отсутствие различий по частоте цитомиксиса в изученных нами контрольных группах растений со стандартным числом хромосом отрицает какой-либо вклад соматической изменчивости в этот процесс. В то же время у трансгенных растений с удвоенным числом хромосом наблюдался широкий размах изменчивости по частоте цитомиксиса. Это наводит на мысль о возможном вкладе в проявление исследуемого признака тех изменений, которые могли быть индуцированы инсерциями фрагментов экзогенной ДНК в растительный геном при агробактериальной трансформации.

Цитологические проявления цитомиксиса в мейозе у исследованных нами трансгенных растений табака с мутантным фенотипом весьма разнообразны. Можно предположить, что на стадии профазы I, вероятнее всего, происходит переход из клетки в клетку не отдельных хромосом, а хромосом в составе ядра, включая ядерную оболочку. Будучи прикрепленными теломерами к ядерной оболочке, хромосомы мигрируют вслед за ней по цитомиксическим каналам. Однако перемещения ядерного материала у изученных нами растений происходили не только в первой и второй профазе, т. е. при наличии ядерной оболочки, но также и во время мобильных фаз мейоза, когда ядерная оболочка отсутствует.

Не совсем понятна дальнейшая судьба перешедших хромосом. Показано, что полученные клеткой добавочные хромосомы остаются в цитоплазме на той же стадии спирализации, на которой были в момент переноса, а затем дегенерируют либо образуют пикнотические капли и также дегенерируют (Романов, Орлова, 1971; Кострицына, Солдатов, 1991). В работе Ключаревой (1983) обособленность и самостоятельность определяются как характерные черты цитомиксического материала. Однако не исключается возможность его слияния с основным ядром клетки-реципиента (Романов, Орлова, 1971; Bione et al., 2000).

Среди авторов, изучавших цитомиксис, нет единого мнения о последствиях этого явления. Например, Шкутина и Козловская (1974) полагают, что цитомиксис на стадии пахитены не влияет на частоту появления нарушений в тетрадах. Однако, по мнению большинства исследователей, наиболее вероятным следствием цитомиксиса могут быть анеуплоидия, полиплоидия (Basavaiah, Murthy, 1987; Caetano-Pereira, Pagliarini, 1997) и реституция гамет (Premachandran et al., 1988; Falistocco et al., 1995).

Выделенные нами трансгенные растения табака с измененной структурой цветка и удвоенным числом хромосом, проявляющие различные уровни цитомиксиса, характеризовались также и другими нарушениями мейотического деления, такими как деформация ядер в профазе II и нарушенное взаиморасположение веретен второго деления (Шамина и др., 2000). Все это приводило к появлению аномалий различного происхождения на стадии тетрады, и вычленив на этой стадии клетки, нарушения в которых вызваны исключительно миграцией хромосом, практически невозможно. Однако наши наблюдения позволяют полагать, что последствиями цитомиксиса на клеточном уровне могут быть цитопласты и полиады. Кроме того, нельзя исключить существование среди прочих продуктов мейотического деления также внешне нормальных тетрад, содержащих анеуплоидные в результате цитомиксиса микроспоры.

Одной из характеристик цитологической картины цитомиксиса является направление движения ядер, их частей и хромосом. Согласно наблюдениям одних исследователей, ядра и ядерный материал перемещаются направ-

ленно и образуют цепочки клеток, объединенных между собой переходящими хромосомами (Шамина и др., 2000; Peng et al., 2003). Другие исследователи делают акцент на том, что все межклеточные перемещения происходят случайным образом и определить направление движения невозможно (Романов, Орлова, 1971). Согласно нашим наблюдениям, можно выявить некоторую тенденцию к направленности межклеточных перемещений. На препаратах чаще всего присутствуют цепочки клеток, объединенных в местах контактов переходящими хромосомами. Ядра в этих клетках перемещаются в одном направлении. Однако наряду с подобной картиной в небольшом проценте случаев можно наблюдать клетки, которые являются реципиентами для двух соседних клеток, или даже пары клеток, «обменивающихся» своим ядерным материалом. На наш взгляд, процесс цитомиксиса, начинаясь локально в каком-либо месте пыльника (не обязательно в одном), распространяется радиально, вовлекая в перемещения все новые и новые мейоциты.

Итак, полученные нами данные позволяют утверждать, что высокий уровень цитомиксиса у трансгенных растений табака с мутантным фенотипом обусловлен спонтанным повышением уровня пloidности. Инсерции Г-ДНК хотя и не являются основной причиной возникновения цитомиксиса, тем не менее могут вносить определенный вклад в его изменчивость, влияя на экспрессию генов, контролирующих данный признак. Максимальной частоты межклеточные перемещения ядерного материала достигали в средней профазе I, однако наблюдать их можно было и на всех последующих стадиях мейоза, включая стадию тетрад. Очевидными последствиями цитомиксиса, регистрируемыми на стадии тетрады, являются цитопласты и полиады.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы «Ведущие научные школы» (НШ-528.2006.4).

Список литературы

- Ван С. Ю., Юй Ч. Х., Ли С., Ван Ч. И., Чжэн Г. Ч. 2004. Ультраструктура и возможное происхождение цитоплазматических каналов, обеспечивающих связь между клетками вегетативных тканей пыльников. Физиол. раст. 51(1) : 110—120.
- Дейнеко Е. В., Загорская А. А., Сидорчук Ю. В., Новосела Т. В., Комарова М. Л., Филипенко Е. А., Шумный В. К. 2000. Особенности морфологических признаков и фертильности пыльцы у трансгенных растений табака. Физиол. раст. 47(1) : 73—78.
- Ключарева М. В. 1983. Экструзия ядерного материала в предзародышах у злаковых растений. ДАН СССР. 269(2) : 509—512.
- Кострицына Т. В., Солдатов И. В. 1991. Цитомиксис в апикальной меристеме побегов гибридов *Prunus domestica* L. × *Persica vulgaris* Mill. Генетика. 27(10) : 1790—1794.
- Романов И. Д., Орлова И. Н. 1971. Цитомиксис и его последствия в микроспорах тритикале. Генетика. 7(12) : 5—13.
- Шамина Н. В., Дорогова Н. В., Загорская А. А., Дейнеко Е. В., Шумный В. К. 2000. Нарушения мужского мейоза в трансгенной линии *ges91* табака. Цитология. 42(12) : 1173—1178.
- Шкутина Ф. М., Козловская В. Ф. 1974. Цитомиксис в мейозе у некоторых гибридных форм злаков подтрибы *Triticinae*. Генетика. 10(5) : 5—12.
- Шнайдер Т. 1975. К вопросу о цитомиксисе у растений. Изв. АН ЭССР. 24(3) : 199—209.
- Basavaiah A., Murthy T. C. S. 1987. Cytomixis in pollen mother cells of *Urochloa panicoides* P. Beauv. (Poaceae). Cytologia. 52 : 69—74.

- Bauchan G. R. 1987. Cytomixis in *Agropyron cristatum*. *Genome*. 29 : 765—769.
- Bione N. C. P., Pagliarini M. S., de Toledo J. F. F. 2000. Meiotic behavior of several Brazilian soybean varieties. *Genet. Mol. Biol.* 23 : 623—631.
- Caetano-Pereira C. M., Pagliarini M. S. 1997. Cytomixis in maize microsporocytes. *Cytologia*. 62 : 351—355.
- Choi H.-W., Lemaux P. G., Cho M. 2000a. Increased chromosomal variation in transgenic versus nontransgenic barley (*Hordeum vulgare* L.) plants. *Crop Sci*; 40 : 524—533.
- Choi H.-W., Lemaux P. G., Cho M. 2000b. High frequency of cytogenetic aberration in transgenic oat (*Avena sativa* L.) plants. *Plant Sci.* 156 : 85—94.
- De Souza A. M., Pagliarini M. S. 1997. Cytomixis in *Brassica napus* var. *oleifera* and *Brassica campestris* var. *oleifera* (Brassicaceae). *Cytologia*. 62 : 25—29.
- Falstocco E., Tosti N., Falcinelli M. 1995. Cytomixis in pollen mother cells of diploid *Dactylis*, one of the origins of 2n gametes. *J. Heredity*. 86 : 448—453.
- Feijo J., Pais S. 1989. Cytomixis in meiosis during the microsporogenesis of *Ophris lutea*: an ultrastructural study. *Caryologia*. 42 : 37—48.
- Feldmann K. A. 1991. T-DNA insertion mutagenesis in *Arabidopsis*: mutation spectrum. *Plant J.* 1 : 71—82.
- Guzicka M., Wozny A. 2004. Cytomixis in shoot apex of Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst]. *Trees*. 18 : 722—724.
- He C., Tirlapur U., Cresti M., Peja M., Crone D. E., Mascarenhas J. P. 1996. An *Arabidopsis* mutant showing aberrations in male meiosis. *Sex. Plant Reprod.* 9 : 54—57.
- Heslop-Harrison J. 1966. Cytoplasmic connections between angiosperm meiocytes. *Ann. Bot.* 30 : 592—600.
- Horsch R. B., Fry J. E., Hoffmann N. I., Eichholtz D., Rogers S. G., Fraley R. T. 1985. A simple and general method for transferring genes into plants. *Science*. 227 : 1229—1231.
- Kamra O. P. 1960. Chromatin extrusion and cytomixis in pollen mother cells of *Hordeum*. *Hereditas*. 46 : 592—600.
- Lim K. Y., Matyasek R., Lichtenstein C. P., Leitch A. R. 2000. Molecular cytogenetic analyses and phylogenetic studies in the *Nicotiana* section Tomentosae. *Chromosoma*. 109 : 245—258.
- Matzke M. A., Moscone E. A., Park Y. D., Papp I., Oberkofler H., Neuheuber F., Matzke A. J. 1994. Inheritance and expression of a transgene insert in an aneuploid tobacco line. *Mol. Gen. Genet.* 245 : 471—485.
- Nacry Ph., Camilleri Ch., Courtial B., Caboche M., Bouchez D. 1998. Major chromosomal rearrangements induced by T-DNA transformation in *Arabidopsis*. *Genetics*. 149 : 641—650.
- Peirson B. N., Owen H. A., Feldmann K. A., Makaroff Ch. A. 1996. Characterization of three male-sterile mutants of *Arabidopsis thaliana* exhibiting alterations in meiosis. *Sex. Plant Reprod.* 9 : 1—16.
- Peng Zh.-S., Yang J., Zheng G.-Ch. 2003. Cytomixis in pollen mother cells of new synthetic hexaploid amphidiploid (*Aegilops tauschii* × *Triticum turgidum*). *Cytologia*. 68 : 335—340.
- Premachandran M. N., Sachan J. K. S., Sarkar K. R. 1988. Cytomixis in a maize trisomic. *Curr. Sci.* 57 : 681—682.
- Ressayre A., Mignot A., Siljak-Yakovlev S., Raquin C. 2003. Postmeiotic cytokinesis and pollen aperture number determination in eudicots: effect of the cleavage wall number. *Protoplasma*. 221 : 257—268.
- Salesses G. 1970. Sur le phenomene de cytomixie chez des hybrids triploids de prunier. Consequences genetiques possibles. *Ann. Amelior. Plantes*. 20 : 383—388.
- Sheidai M., Attaei S. 2005. Meiotic studies of some stipa (*Poaaceae*) species and population in Iran. *Cytologia*. 70 : 23—31.
- Smiley J. H., Stokes G. W. 1966. Induction and identification of tetraploid in burley tobacco. *Tobacco Sci.* 163 : 30—32.
- Soodan A. S., Wafai B. A. 1987. Spontaneous occurrence of cytomixis during microsporogenesis in almond (*Prunus amygdalus* Batsch) and peach (*P. persica* Batsch). *Cytologia*. 52 : 361—364.
- Zhou Shi-Qi. 2003. Viewing the difference between diploid and polyploid in the light of the upland cotton aneuploid. *Hereditas*. 138 : 65—72.

Поступила 27 IV 2006

PECULIARITIES OF THE CYTOMIXIS IN THE POLLEN MOTHER CELLS
OF TRANSGENIC TOBACCO PLANTS (*NICOTIANA TABACUM* L.) WITH MUTANT PHENOTYPE

Yu. V. Sidorchuk, E. V. Deineko, V. K. Shumny

Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of RAS, Novosibirsk; e-mail: sidorch@bionet.nsc.ru

This paper represents the frequency characteristics and cytological analysis of cytomixis in the course of male meiosis in transgenic tobacco plants (*Nicotiana tabacum* L.) with altered flower morphology and male sterility. The influence of cytomixis on qualitative composition of the meiotic products is shown (cytoplasts and polyads formation). It was established that doubling of chromosomes number increased cytomixis frequency in the investigated plants.

Key words: cytomixis, pollen mother cells, meiosis.