

## ПРОЦЕССЫ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ ЦЕНТРОБЕЖНОЕ ДВИЖЕНИЕ ФРАГМОПЛАСТА В МЕЙОЗЕ У ЗЛАКОВ

© Н. В. Шамина,<sup>1</sup> \* О. В. Белых,<sup>2</sup> Г. А. Замковой,<sup>3</sup> И. В. Шевченко<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск,

<sup>2</sup> Новосибирский государственный университет

и <sup>3</sup> Краснодарский НИИ сельского хозяйства им. П. П. Лукьяненко;

\* электронный адрес: [shamina@mcb.nsc.ru](mailto:shamina@mcb.nsc.ru)

В статье приводится группа не описанных ранее аномалий мейотического деления материнских клеток пыльцы злаков, затрагивающих процессы центробежного движения фрагмопласта в последовательном цитокинезе. Эти фенотипы предоставляют новую информацию о функции подвижного фрагмопласта и подтверждают выдвинутую нами ранее модель центробежного движения как модификацию процесса В-анафазы.

Ключевые слова: цитоскелет, мейоз, материнские клетки пыльцы (МКП), фрагмопласт, микротрубочки, цитокинез, деление растительной клетки.

Процесс разделения цитоплазмы (цитокинез) в делящихся клетках высших растений принципиально отличается от цитокинеза животной клетки. Это объясняется наличием у растительной клетки жесткой целлюлозной клеточной стенки, что сильно затрудняет осуществление цитокинеза способом перетяжки. 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 (Staehelin, Hepler, 1996). Транспорт мембранных пузырьков к экватору осуществляет временная цитоскелетная структура — фрагмопласт. Он состоит из пучков противоположно ориентированных микротрубочек (МТ), соединенных (+)-концами на экваторе и находящихся в комплексе с фибриллами актина и мембранными компонентами (см. обзор: Segui-Simarro et al., 2007). В область перекрывания (+)-концов МТ, составляющих фибриллы фрагмопласта, осуществляется транспорт мембранных пузырьков (пластосом) — производных аппарата Гольджи. Пластосомы формируют в экваториальной области монослой — клеточную пластинку, являющуюся зачатком дочерних клеточных мембран. Фибриллы фрагмопласта окружают растущий край клеточной пластинки, непрерывно транспортируя в эту область мембранные пузырьки. Комплекс фрагмопласт—клеточная пластинка расширяется центробежно, пока не достигнет мембраны материнской клетки. После соприкосновения клеточной пластинки с мембраной материнской клетки пластосомы сливаются друг с другом с образованием дочерних клеточных мембран, а процессы цитокинеза (синтез пластосом, центробежное движение фрагмопласта) прекращаются.

Конкретные клеточные и молекулярные механизмы центробежного движения цитокинезной фигуры в де-

ляющейся растительной клетке в настоящее время служат предметом дискуссии. Гипотеза о том, что движущей силой центробежного движения является растущая клеточная пластинка, раздвигающая в стороны фибриллы фрагмопласта (Staehelin, Hepler, 1996), противоречит нашим данным о центробежном движении фрагмопласта в отсутствие клеточной пластинки (Шамина и др., 2006б). Существует представление о том, что расширение мейотического фрагмопласта осуществляется за счет полимеризации дополнительных МТ на его внешней поверхности и параллельной деполимеризации их на внутренней, со стороны клеточной пластинки (см. обзор: Assaad et al., 1997). Предложен также механизм центробежного движения, осуществляющийся предположительно за счет сокращения актиновых фибрилл, соединяющих растущий край фрагмопласта—клеточной пластинки с мембраной материнской клетки (Pickett-Heaps et al., 1999; Molchan et al., 2002). Это разнообразие гипотез и моделей отражает, по-видимому, разнообразие механизмов цитокинеза в различных типах растительных клеток: мейотических и соматических, снабженных клеточной стенкой и бесстеночных, вакуолизированных и нет, осуществляющих деление с участием фрагмосомы и без нее и т. д. Однако на уровне современных знаний представляется, что все эти вариации имеют в основе базовый набор основных механизмов цитокинеза. Информативным подходом к их изучению является анализ широкого спектра аномалий центробежного движения фрагмопласта в мейозе. Материнские клетки пыльцы (МКП) высших растений — идеальный цитологический объект благодаря их крупным размерам, многочисленности и синхронизации по стадиям деления. Кроме того, большое количество фенотипов с разнообразными аномалиями мейотического деления легко доступно у растений в имеющихся обширных коллекциях мейотических мутантов, гаплоидов, ал-

логаплоидов, полиплоидов, аллоплазматических линий и т. п.

Согласно нашим наблюдениям (Шамина и др., 2006а), фрагмопласт в МКП однодольных видов с последовательным цитокинезом формируется на базе центральных фибрилл веретена и проходит в своем развитии несколько этапов: реорганизация фибрилл центрального веретена из цельного пучка в конфигурацию полого цилиндра, затем изгиб фибрилл и перемещение их срединных точек к периферии клетки. На этих этапах фибриллы фрагмопласта непрерывно транспортируют к своим срединным точкам (местам перекрывания (+)-концов МТ) мембранные пузырьки, создавая клеточную пластинку.

Подвижный фрагмопласт в мейозе с последовательным цитокинезом в виде полого цилиндра, состоящего из длинных фибрилл, отходящих от полюсов телофазного веретена и изгибающихся в ходе центробежного движения, не является уникальным для спорогенной ткани. Фрагмопласт такой морфологии формируется также и в митозе целого ряда типов соматических клеток. Он описан в делении клеток эндосперма (DeMey et al., 1982), суспензионных клеток арабидопсиса (Smertenko et al., 2004; Chan et al., 2005), замыкающих клеток устьиц (Palevitz, Nepler, 1974), клеток тапетума и оболочек пыльника. Поэтому изучение механизма его действия имеет более широкое значение, чем специально для мейоза с последовательным цитокинезом.

Анализируя аномалии цитокинеза в мейозе МКП отдаленных гибридов, мейотических мутантов и гаплоидов злаков, мы предложили гипотезу о центробежном движении фрагмопласта как модификации В-анафазы (Shamina et al., 2007). Сегрегация хромосом в кариокинезе осуществляется как за счет укорочения прикрепленных к ним кинетохорных фибрилл (А-анафаза), так и за счет удлинения фибрилл центрального веретена и раздвижения полюсов веретена (В-анафаза) (Cande, 1982; Snyder et al., 1985; Brust-Mascher, Scholey, 2002; Brust-Mascher et al., 2004). В-анафаза характерна не только для животных, но и для растительных клеток (Yu, Russel, 1993; Hayashi et al., 2007). Для распространения вширь клеточной пластинки необходимо, чтобы центробежно перемещались точки перекрывания противоположно направленных МТ в составе фибрилл фрагмопласта, поскольку именно в эти точки направлен транспорт пластосом. Мы предположили, что такое перемещение срединных точек происходит за счет того, что каждая фибрилла удлиняется (основной процесс В-анафазы) и одновременно прогрессивно изгибается (добавленный процесс). Полюса телофазного веретена и дочерние группы хромосом при этом не смещаются. В настоящей работе описаны новые аномалии цитокинеза в мейозе МКП гаплоидов и аллогаплоидов злаков, подтверждающие выдвинутую нами модель центробежного движения фрагмопласта.

## Материал и методика

Для цитологического анализа мейоза использовали пыльники пшенично-пырейных гибридов первого поколения (ППГ F1) № 31 (*Triticum aestivum* сорта Саратовская 29 × *Aropyron glaucum*), № 27-575 (*T. durum* сорта Алтайская Нива × *Elytrigia elongatum*) и № 328 (*Triticum aestivum* сорта Альбидум × *Agropyron glaucum*), пшенично-ржаных гибридов первого поколения (ПРГ F1) (*Triticum aestivum* сорта Саратовская × *Secale cereale*), а

также гаплоид кукурузы *Zea mays* № 4485 (Кр82 × Кр633).

Бутоны на стадии мейоза фиксировали модифицированным фиксатором Навашина в течение 1 сут (Wada, Kusunoki, 1964), материал хранили в фиксаторе. Временные давленные ацетокарминовые препараты пыльников готовили по обычной методике. Наблюдения проводили с помощью микроскопа Olympus при увеличении 100 × 10. Ретушь изображений с помощью графических редакторов не проводили.

## Результаты

Формирование и функция фрагмопласта в ходе мейотического деления материнских клеток пыльцы у аллогаплоидов злаков (обычный фенотип). Для того, чтобы лучше ориентироваться в стадиях цитоскелетного цикла в растительном мейозе, мы предваряем описание аномальных фенотипов иллюстрацией тривиального мейотического деления с последовательным цитокинезом материнских клеток пыльцы (МКП) аллогаплоидов злаков (Shamina, 2005а, 2005b; Shamina et al., 2007). Это необходимо также для сравнения аномальных клеточных структур с нормальными. Обычным мы обозначаем фенотип, в котором не наблюдается иных аномалий по сравнению с мейозом дикого типа, кроме отсутствия синансиса гомологичных хромосом и его последствий.

Ход внутриклеточных реорганизаций цитоскелета, обеспечивающий развитие и функцию фрагмопласта, выглядит следующим образом. В диплотене-диакинезе вокруг ядра в меридиональной плоскости формируется цитоскелетное кольцо (рис. 1, а). Далее, одновременно с распадом ядерной оболочки и началом прометафазы, перинуклеарное кольцо также распадается на составляющие элементы — пучки микротрубочек (рис. 1, б, в), которые входят в зону бывшего ядра (Шамина, 2003). В результате формируется хаотичная сеть элементов цитоскелета (пучков МТ) (рис. 1, г), которые соединяются с кинетохорами хромосом, формируя кинетохорные фибриллы веретена. Свободные пучки МТ на этой стадии соединяются (+)-концами друг с другом, формируя биполярные центральные фибриллы веретена. В поздней прометафазе (рис. 1, д) сформированные кинетохорные фибриллы с прикрепленными унивалентами, а также центральные фибриллы веретена (являющиеся и фибриллами будущего фрагмопласта) ориентируются биполярно, конвергируют на полюсах и формируют веретено деления (рис. 1, е). Униваленты, как правило, ориентированы редуционно, т. е. каждый несет один кинетохор и соединен лишь с одним из полюсов. В анафазе униваленты оказываются разбросанными вдоль веретена и постепенно достигают полюсов (рис. 1, ж). Кинетохорные фибриллы при этом укорачиваются и исчезают. Веретено в ранней телофазе состоит из сплошного пучка центральных фибрилл (ранний фрагмопласт), которые являются основой формирующегося фрагмопласта, и анеуплоидных телофазных групп хромосом (рис. 1, з). Затем на экваторе телофазного веретена формируется клеточная пластинка (рис. 1, и), фибриллы центрального веретена окружают ее, принимая конфигурацию полого цилиндра. Мы назвали эту конфигурацию средним фрагмопластом. Затем фибриллы его прогрессивно изгибаются и удлиняются, в результате чего их центральные точки перемещаются

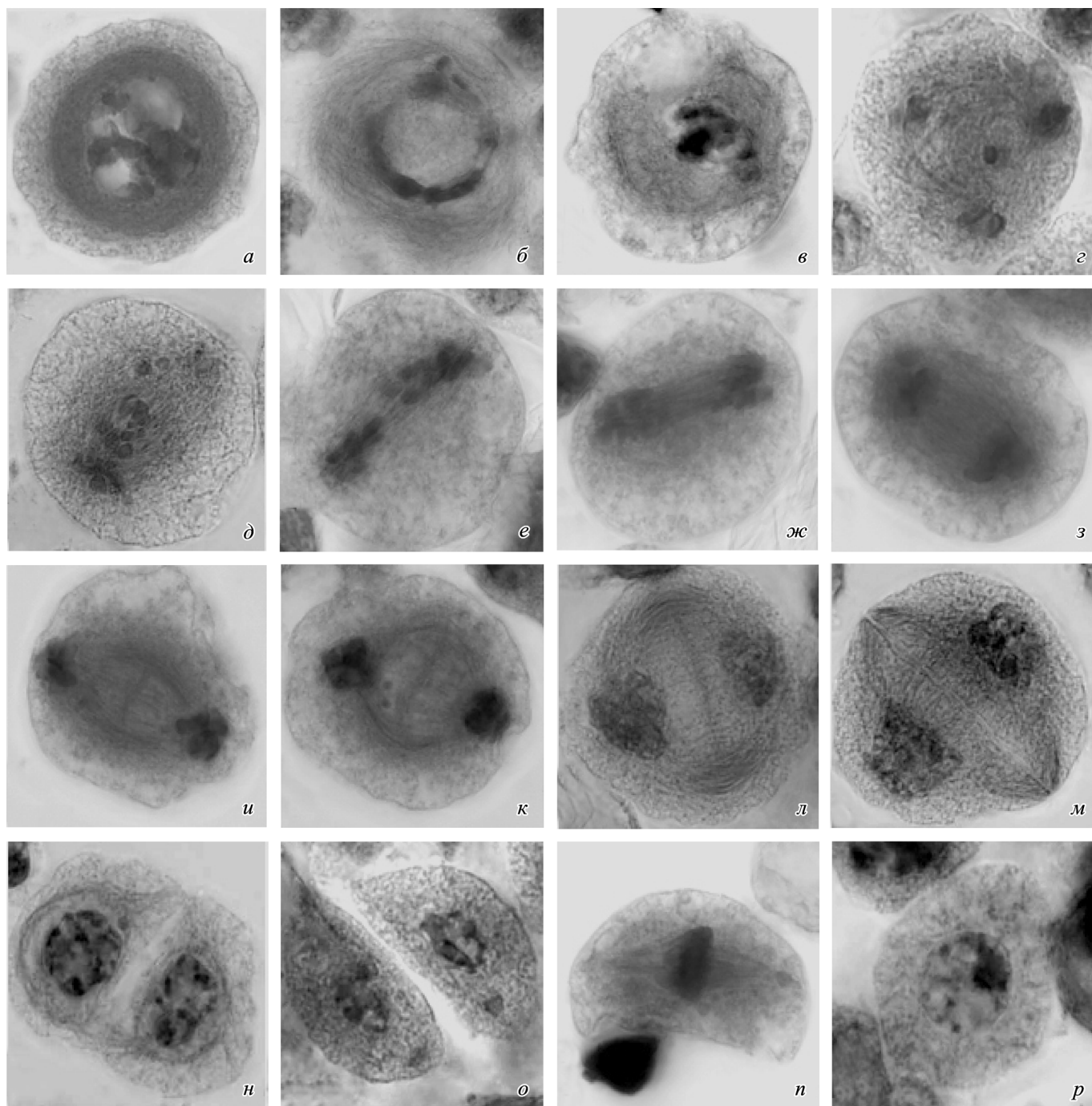


Рис. 1. Ход мейоза в МКП ППГ F1 обычного фенотипа.

*a* — зиготена, хромосомы находятся в конфигурации «букета»; *б* — пахитена, выход хромосом из «букета»; *в* — диакинез, формируется перинуклеарное цитоскелетное кольцо; *г* — распад ядерной оболочки и перинуклеарного кольца при начале прометафазы; *д* — хаотическая стадия прометафазы; *е* — поздняя прометафаза I, унваленты собираются на экваторе веретена, имитируя метафазную пластинку; *ж* — условная метафаза I—анафаза I; *з* — поздняя анафаза I—ранняя телофаза I; *и—м* — последовательные стадии телофазы I с центробежным движением фрагмопласта—клеточной пластинки; *н* — диада в профазе II; *о* — диада в прометафазе II; *п* — метафаза II; *р* — клетка — член тетрады (молодая микроспора).

центробежно к периферии клетки. Расширяющийся центробежно полый цилиндр, а точнее, сферическую фигуру, ограниченную изогнутыми фибриллами, мы обозначаем как поздний фрагмопласт (рис. 1, *к, л*). Достигнув мембраны материнской клетки, мембранные пузырьки клеточной пластинки сливаются с образованием дочерних клеточных мембран, и цитокинез прекращается (рис. 1, *м*). Продуктом деления является диада с анеуплоидными членами (рис. 1, *н, о*). Второе деление мейоза в

обычном фенотипе аллоглоида происходит само по себе нормально (рис. 1, *н*), продуктом мейоза является тетрада анеуплоидных нежизнеспособных микроспор (рис. 1, *р*).

Аномально удлиненный фрагмопласт. В ряде генотипов отдаленных гибридов злаков первого поколения в мейозе МКП наблюдается наложение элементов центробежного движения на структуру раннего фрагмопласта. В этом случае фрагмопласт, не имеющий кон-

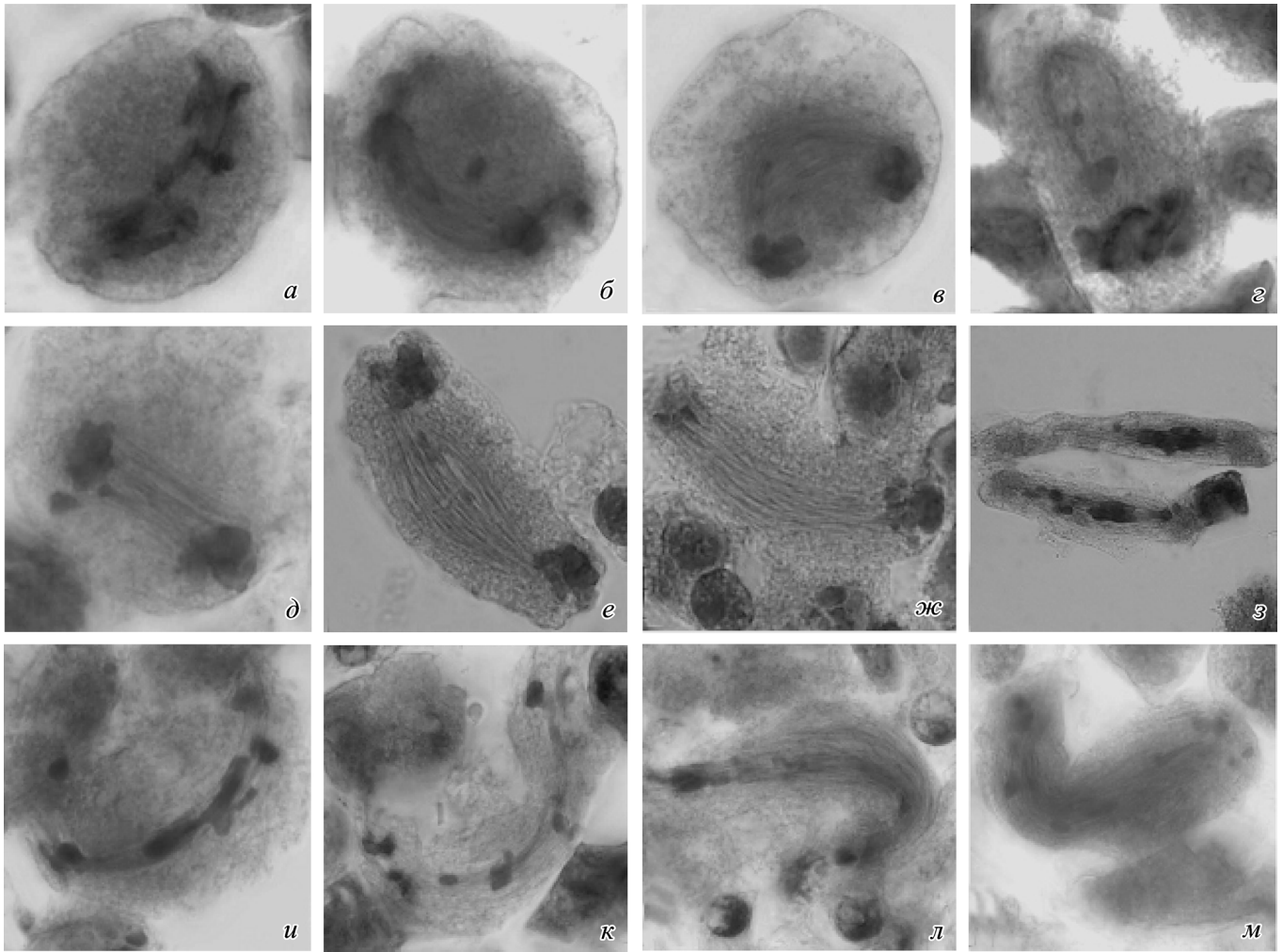


Рис. 2. Гамма-фенотип и фенотип с удлинённым фрагмопластом.

*a—г* — гамма-фенотип в МКП ППГ F1 № 31: *a, б* — поздняя анафаза I; *в* — прогрессивный изгиб и удлинение раннего фрагмопласта в ходе телофазы I; *г* — сближение телофазных групп хромосом и петлеобразный изгиб раннего фрагмопласта в поздней телофазе I. *д—м* — формирование удлинённого фрагмопласта в МКП ППГ F1 № 31: *д* — ранний фрагмопласт в ранней телофазе; *е—ж* — прогрессивное удлинение фрагмопласта в ходе телофазы I; *з* — деформированные МКП с удлинённым фрагмопластом; *и, к* — удлинённые фрагмопласты со слабым изгибом фибрилл; *л, м* — удлинённые фрагмопласты с асимметричным изгибом фибрилл в рамках одного полуверетена.

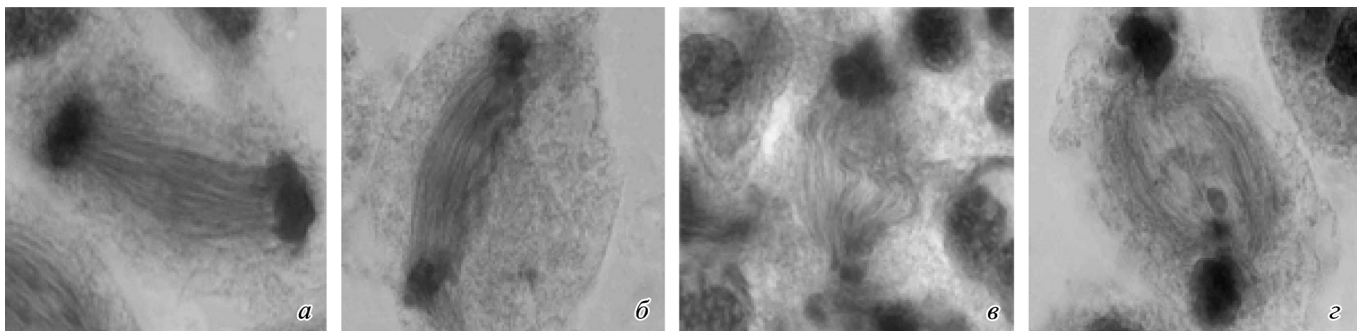


Рис. 3. Аномальный профиль фибрилл фрагмопласта в МКП ППГ F1 № 27-575.

*а* — прямые фибриллы раннего фрагмопласта; *б* — часть фибрилл раннего фрагмопласта приобретает волнистый профиль; *в, г* — волнистые фибриллы в составе позднего фрагмопласта.

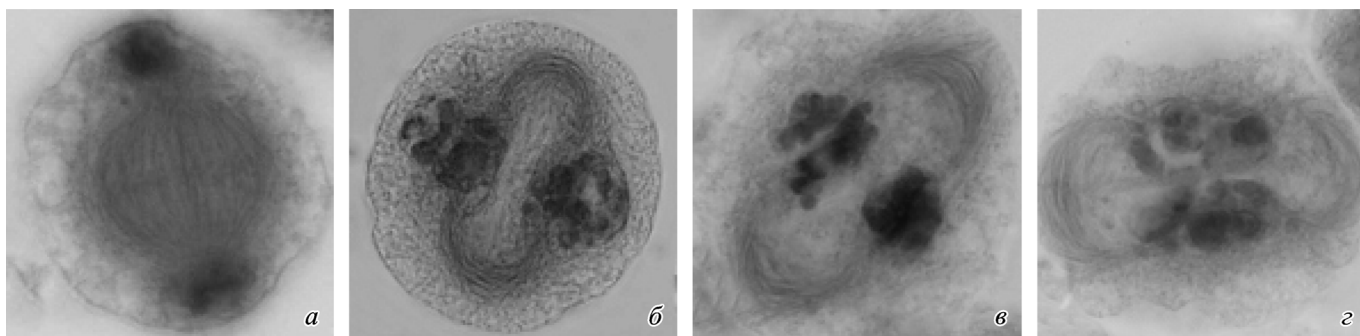


Рис. 4. Центробежное движение фрагмопласта при чрезмерном изгибе его фибрилл в МКП ППГ F1.

*a* — нормальная исходная форма фрагмопласта и телефазной фигуры в средней телофазе; *б—z* — прогрессивный чрезмерный изгиб фибрилл фрагмопласта, приводящий к аномальному сближению телофазных групп хромосом и сопровождающийся аномалиями клеточной пластинки (средняя—поздняя телофаза).

фигурации полого цилиндра, ведет себя как одна фибрилла, удлиняясь и изгибаясь как единое целое (рис. 2, *a—z*). Эта аномалия, названная гамма-фенотипом, была описана нами ранее (Гордеева и др., 2009).

В фенотипе ППГ F1 № 31 (*Triticum aestivum* сорта Саратовская 29 × *Aropyron glaucum*) МКП с гамма-фенотипом составляют около 70 %, и около 10 % МКП имеют фенотип, где фрагмопласт аномально удлиннен (рис. 2, *д—м*). В этом случае ход цитоскелетного цикла тривиален до стадии ранней телофазы I, когда формируется ранний фрагмопласт в виде центрального веретена с дочерними группами хромосом на полюсах (рис. 2, *д*). Затем это веретено начинает аномально удлиняться, так что деформирует клетку, которая принимает вытянутую форму (рис. 2, *е—z*). Полюсные районы веретена с телофазными группами хромосом значительно раздвигаются, полностью имитируя В-анафазу. Признаков формирования среднего фрагмопласта (полого цилиндра) не обнаруживается. Клеточная пластинка не формируется. Продукт деления — двуядерная монада. Наблюдаются также некоторые нарушения в сегрегации унивалентов в анафазе I: часть из них не доходит до полюсов и остается в теле веретена; это наблюдается в части клеток и не влияет на поведение цитоскелета в телофазе. В некоторых клетках с удлинненным фрагмопластом происходит его слабый изгиб, часто изгибается лишь одно из «полуверетен» (рис. 2, *и—м*). МКП с удлинненным фрагмопластом встречаются в виде примеси и в других аллоглопидях злаков с гамма-фенотипом, в частности в ряде исследованных нами ПРГ F1 (*Triticum aestivum* сорта Саратовская × *Secale Cereale*).

Волнистый профиль фибрилл позднего фрагмопласта. Это довольно редко встречающееся среди аномальных фенотипов нарушение, наблюдаемое с частотой около 20 % в МКП ППГ F1 № 27-575 (*T. durum* сорта Алтайская Нива × *Elytrigia elongatum*) и в МКП гаплоида кукурузы *Zea mays* № 4485 (Кр82 × Кр633). После формирования среднего фрагмопласта (полого цилиндра), которое происходит нормально, в начале или в ходе центробежного движения позднего фрагмопласта фибриллы приобретают аномальный профиль. Вместо равномерно изогнутых они становятся извитыми и волнистыми (рис. 3, *a, б*). Их центробежное движение нарушается, фрагмопласт останавливается. Клеточная пластинка либо отсутствует, либо имеет аномальную форму — искривленную, фрагментарную (рис. 3, *в, z*). Фрагмопласт с извитыми фибриллами не достигает мембраны материнской клетки (рис. 3, *z*), и дочерние клеточные мембраны не

формируются, даже в тех случаях, когда клеточная пластинка присутствует. Продукт деления клеток с таким фенотипом — двуядерные монады в интеркинезе.

Чрезмерный изгиб фибрилл фрагмопласта в ходе центробежного движения. В МКП ППГ F1 № 328 (*Triticum aestivum* сорта Альбидум × *Agropyron glaucum*) в средней—поздней телофазе первого мейотического деления морфология нормально сформированного позднего фрагмопласта резко изменяется. В ходе центробежного движения его фибриллы приобретают чрезмерный изгиб, в результате чего телофазные группы хромосом, находящиеся на полюсах фрагмопласта, аномально сближаются (рис. 4, *a—z*). Сближаются также полюсные концы фрагмопластных фибрилл, а сами фибриллы приобретают форму незамкнутых колец. В подавляющем большинстве клеток с таким фенотипом клеточная пластинка отсутствует либо имеет фрагментарный вид (рис. 4, *б, в*). Сближенные телофазные группы хромосом (рис. 4, *z*) могут объединяться на экваторе, окружаться общей ядерной оболочкой и формировать реституционное ядро. Фрагмопласт, как правило, не достигает мембраны материнской клетки и не соприкасается с ней либо достигает ее не одновременно по всей окружности, а какой-то своей частью. Частота аномалии достигает 30 %. Продуктом деления МКП с таким фенотипом являются одно- или двуядерные монады на стадии диад, иногда — с неполным цитокинезом в виде насечки на мембране материнской клетки.

## Обсуждение

Прежде чем приступить к обсуждению вышеописанных аномальных фенотипов, мы считаем необходимым отметить преимущество применяемого в этой работе классического метода визуализации цитоскелета и других субклеточных структур для обозначенного круга задач. Метод заключается в ацетоформалиновой фиксации материала и последующей его окраске общим красителем на белок (ацетокармин, ацетоорсеин и др.). В процессе приготовления давленных препаратов из материала, зафиксированного таким образом, смещение внутриклеточных морфологических структур относительно друг друга, а также изменение их формы невозможно. Это выгодно отличает этот метод от ацетоалкогольной фиксации (по Карнуа, Ньюкомеру и т. п.), которая рассчитана именно на возможность распластывания клетки, смещения и про-

странственного разделения органелл (главным образом хромосом) для их подсчета и индивидуального изучения. Таким образом, вышеописанные аномалии фрагмопласта и его элементов не могут быть результатом деформаций в процессе приготовления давленого препарата.

Представленные в настоящей статье аномальные фенотипы подтверждают выдвинутую нами модель центробежного движения фрагмопласта в МКП с последовательным цитокинезом. Эта модель полагает основой центробежного движения фибрилл фрагмопласта (фибрилл центрального веретена) их удлинение в ходе В-анафазы с одновременным их прогрессивным изгибом (Shamina et al., 2007). Приведем результаты наших исследований, легшие в основу этой модели: 1) фибриллы фрагмопласта представляют собой переформированные центральные фибриллы веретена деления (Шамина и др., 2006а); 2) фрагмопласт способен к самостоятельному центробежному движению в отсутствие клеточной пластинки, на это указывают аномалия «пустой фрагмопласт» и его способность перемещаться без клеточной пластинки (Шамина и др., 2006б); 3) в процессе центробежного движения фибриллы фрагмопласта изгибаются (Шамина и др., 2006а).

Удлиненный фрагмопласт. Морфологически этот фенотип представляет собой полную аналогию В-анафазы. Исследования показали, что в ходе В-анафазы происходит значительное удлинение центральных фибрилл веретена за счет присоединения субъединиц тубулина к (+)-концам МТ в области их перекрывания на экваторе и взаимного (+)-направленного скольжения за счет действия моторных белков (кинезины) (Cande, 1982; Brust-Mascher, Scholey, 2002). В результате и веретено, и клетка растягиваются в длину и расстояние между дочерними группами хромосом увеличивается.

Исследования молекулярных процессов, происходящих во фрагмопласте, показали, что в области перекрывания (+)-концов МТ в центральных точках фибрилл на экваторе фрагмопласта происходит активное включение димеров тубулина (Vantard et al., 1990; Zang et al., 1990). Установлено также, что фрагмопласт содержит моторные белки, обеспечивающие (+)-направленное скольжение противоположно ориентированных пучков МТ и, следовательно, удлинение фибрилл (Asada et al., 1997; Lee, Liu, 2001; Smith, 2002; Pan et al., 2004). Согласно нашей модели, обеспечить центробежное перемещение точки перекрывания (+)-концов МТ каждой фибриллы может сочетание двух процессов — удлинения фибрилл и их изгиба. Очевидно, в фенотипе «удлиненный фрагмопласт» блокирован процесс прогрессивного изгиба МТ. Эта аномалия хорошо иллюстрирует ключевую роль процесса изгиба фибрилл в их центробежном движении. Изменение профиля пучков МТ с уменьшением радиуса изгиба может осуществляться специальными ассоциированными с микротрубочками белками (MAPs). У дрожозилы известны мутации, изменяющие профиль пучков МТ в делящейся клетке и приводящие к формированию изогнутых веретен (Inoue et al., 2000; Klein-Smith, Walchak, 2000). Изменение изгиба пучков МТ с изменением шага спирали в ходе онтогенеза описано для кортикальных МТ (Lloyd et al., 1996).

Можно утверждать, что данная аномалия представляет собой результат утери важного элемента центробежного движения фрагмопласта — изгиба его фибрилл, с сохранением их удлинения.

Волнистые МТ. Эта аномалия, как и предыдущая, подтверждает наблюдение: изгиб фибрилл фрагмопласта

в телофазе является специальным процессом цитокинеза, осуществляется активно в ходе центробежного движения и может быть нарушен. Изменение профиля фибрилл микротрубочкового цитоскелета неоднократно описано. Изгиб интерфазных МТ — общее свойство цитоскелета животных клеток (Cassimeris et al., 1988; Seitz-Tutter et al., 1988; Tanaka, Kirschner, 1991). Интерфазные МТ патогенного гриба *Ustilago maydis* изгибаются и перемещаются в цитоплазме (Steinberg et al., 2000). Спиральный профиль имеют кортикальные МТ в клетках высших растений, снабженных клеточной стенкой (Сур, Palewitz, 1995; Lloyd et al., 1996). Изогнуты фибриллы цитоскелета, составляющие препрофазный пучок МТ в митотических клетках высших растений (Mineyuki, 1999). Ярко выраженный волнистый профиль имеют профазные фибриллы микротрубочкового цитоскелета в делящихся генеративных клетках пыльцы дикого типа, но значение этого явления неизвестно (Zhang et al., 1995; Banas et al., 1996).

Чрезмерно изогнутые фибриллы фрагмопласта. Аномальная форма этого фрагмопласта сопровождается его неспособностью совершить центробежное движение на необходимое расстояние и достичь мембраны материнской клетки. Сближение полюсных концов фибрилл и прилежащих к ним групп хромосом в центре клетки указывает на то, что данный фенотип является результатом нарушения баланса между двумя процессами, обеспечивающими центробежное движение, — удлинением фибрилл фрагмопласта и их прогрессивным изгибом. Если этот баланс соблюдается, расстояние между полюсами цитокинетической фигуры сохраняется неизменным в ходе центробежного движения фрагмопласта. Если преобладает какой-либо из этих двух процессов в ущерб другому, центробежное движение фибрилл нарушается и они не могут пересечь цитоплазму материнской клетки полностью. Это хорошо иллюстрируют фенотипы с удлиненным фрагмопластом и с чрезмерным изгибом фибрилл.

С этой точки зрения можно интерпретировать сближение дочерних групп хромосом на полюсах гамма-фрагмопласта (Гордеева и др., 2009) и фрагмопласта, лишённого клеточной пластинки (Шамина и др., 2006б). В обоих этих случаях цитокинез не может остановиться, так как отсутствует сигнал к его прекращению — формирование дочерних клеточных мембран (Shamina et al., 2009). Поэтому центробежное движение этих аномальных фрагмопластов продолжается и после того, как они достигнут мембраны материнской клетки. Это явление мы назвали чрезмерным цитокинезом (Дорогова, Шамина, 2001). Затем можно ожидать, что изгиб фибрилл фрагмопласта начнет преобладать над их удлинением из-за истощения в клетке пула неполимеризованных субъединиц тубулина.

Итак, представленные в настоящей работе аномальные фенотипы, не описанные ранее в литературе, подтверждают предложенную нами модель центробежного движения подвижного фрагмопласта в МКП в мейозе с последовательным цитокинезом. Эта модель может быть распространена и на фрагмопласты сходной морфологии в митозе соматических клеток.

Авторы выражают свою благодарность проф. Л. В. Высоцкой (Новосибирский государственный университет) за содействие выполнению этой работы.

## Список литературы

- Гордеева Е. И., Шамина Н. В., Дудка Л. Ф., Ковтуненко В. Я., Болоболова Е. У. 2009. Формирование дополнительно фрагмента компенсирует нарушение цитокинеза в мейозе у пшенично-ржаного гибрида. Цитология. 54 (4) : 297—301.
- Дорогова Н. В., Шамина Н. В. 2001. Феномен чрезмерного цитокинеза в фенотипе мейотической мутации *rat* у кукурузы. Цитология. 43 (5) : 471—476.
- Шамина Н. В. 2003. Динамика микротрубочкового цитоскелета в мейозе высших растений. I. Околяядерное кольцо микротрубочек и построение мейотического веретена. Цитология. 45 (7) : 650—654.
- Шамина Н. В., Ковалева Н. М., Гордеева Е. И., Серюкова Е. И. 2006а. Динамика микротрубочкового цитоскелета в мейозе у высших растений. VI. Механизмы последовательного цитокинеза. Цитология. 48 (2) : 120—126.
- Шамина Н. В., Ковалева Н. М., Шацкая О. А. 2006б. Изменения в ориентации фрагмента в результате его чрезмерного центробежного движения при отсутствии клеточной пластинки. Цитология. 48 (12) : 1023—1029.
- 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.
- Assaaf F. F., Mayer U., Lukowitz W., Jurgens G. 1997. Cytokinesis in somatic plant cells. Plant Physiol. Biochem. 35 : 177—184.
- Banas M., Tirlapur U. P., Charzynska M., Cresti M. 1996. Some events in mitosis and cytokinesis in the generative cell of *Ornithogalum virens* L. Planta. 199 : 202—208.
- Brust-Mascher I., Civelekoglu-Scholey G., Kwon M., Mogilner A., Scholey J. M. 2004. Model for anaphase B: role of three mitotic motors in a switch from poleward flux to spindle elongation. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 101 : 15 938—15 943.
- 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.
- Cassimeris L., Pryer N. K., Salmon E. D. 1988. Real-time observations of microtubule dynamic instability in living cells. J. Cell Biol. 107 : 2223—2231.
- Chan J., Calder G., Fox S., Lloyd C. 2005. Localization of the microtubule end binding protein EB1 reveals alternative pathways of spindle development in *Arabidopsis* suspension cells. Plant Cell. 16 : 1737—1748.
- Cyr R. J., Palewitz B. A. 1995. Organization of cortical microtubules in plant cells. Curr. Opin. Cell Biol. 7 : 65—71.
- DeMey J., Lambert A. M., Bajer A. S., Moeremans M., DeBrabander M. 1982. Visualization of microtubules in interphase and mitotic plant cells of *Haemanthus* endosperm with the immunogold staining method. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 79 : 1898—1902.
- Hayashi I., Sano T., Kutsuna N., Kumagai-Sano F., Hasezawa S. 2007. Contribution of anaphase B to chromosome separation in higher plant cells estimated by image processing. Plant Cell Physiol. 48 : 1509—1513.
- Inoue Y. H., do Carno Avides M., Shiraki M., Deak P., Yamaguchi M., Nishimoto Y., Matsukage A., Glover D. M. 2000. Orbit, a novel microtubule-associated protein essential for mitosis in *Drosophila*. J. Cell Biol. 149 : 153—165.
- Klein-Smith S.L., Walczak C.E. 2000. Microtubules in orbit. J. Cell Biol. 149 : 5—6.
- Lee Y. R. J., Liu B. 2001. Kinesin-related proteins in plant cytokinesis. J. Plant Growth Regul. 20 : 141—150.
- Lloyd C. W., Shaw P. J., Warn R. M., Yuan M. 1996. Gibberellic acid induced reorientation of cortical microtubules in living plant cells. J. Microsc. 181 : 140—144.
- Mineyuki Y. 1999. The preprophase band of microtubules: its function as a cytokinetic apparatus in higher plants. Int. Rev. Cytol. 187 : 1—49.
- Molchan T. M., Valster A. H., Hepler P. K. 2002. Actomyosin promotes cell plate alignment and late lateral expansion in *Tradescantia* stamen hair cells. Planta. 214 : 683—693.
- Palevitz B. A., Hepler P. K. 1974. The control of the plane of division during stomatal differentiation in *Allium*. I. Spindle reorientation. Chromosoma. 46 : 297—326.
- Pan R., Lee Y. R. J., Liu B. 2004. Localization of two homologous *Arabidopsis* kinesin-related proteins in the phragmoplast. Planta. 220 : 156—164.
- Pickett-Heaps J. D., Gunning B. E. S., Brown R. C., Lemon B. E., Cleary A. L. 1999. The cytoplasmic domains and the evolution of spatially organized cell division. Amer. J. Bot. 86 : 153—172.
- Segui-Simarro J. M., Otegui M. S., Austin J. R., II, Staehelin L. A. 2007. Plant cytokinesis: insights gained from electron tomography studies. Plant Cell Monogr. 9 : 251—287.
- Seitz-Tutter D., Langford G. M., Weiss D. J. 1988. Dynamic instability of native MTs from squid axon in rare and independent of gliding and vesicle transport. Exp. Cell Res. 178 : 504—512.
- Shamina N. V. 2005a. Formation of division spindle in higher plant meiosis. Cell Biol. Intern. 29 : 309—318.
- Shamina N. V. 2005b. Catalogue of division spindle abnormalities in higher plants. Cell Biol. Intern. 29 : 384—391.
- Shamina N. V., Gordeeva E. I., Kovaleva N. M., Seriuokova E. G., Dorogova N. V. 2007. Formation and function of phragmoplast during successive cytokinesis stages in higher plant meiosis. Cell Biol. Intern. 31 : 626—635.
- Shamina N. V., Zharkov N. A., Omelyanchuk L. V. 2009. Feed-back control of successive meiotic cytokinesis. Cell Biol. Intern. 33(3) : 393—401.
- Smertenko A. P., Chang H.-Yu., Wagner V., Karoliti D., Fenik S., Sonobe S., Lloyd C., Hauser M.-T., Hussey P. 2004. The *Arabidopsis* microtubule-associated protein AtMAP65-1: molecular analysis of its microtubule bundling activity. Plant Cell. 16 : 2035—2047.
- Smith L. G. 2002. Plant cytokinesis: motoring to the finish. Curr. Biol. 12 : R206—R209.
- Snyder J. A., Golub R. J., Berg S. P. 1985. Role of non-kinetochore microtubules in spindle elongation in mitotic PtK cells. Eur. J. Cell Biol. 39 : 373—379.
- Staehelin L. A., Hepler P. K. 1996. Cytokinesis in higher plants. Cell. 84 : 821—824.
- Steinberg G., Wedlich-Soldner R., Brill M., Schults I. 2000. Microtubules in the ungal pathogen *Ustilago maydis* are highly dynamic and determine cell polarity. J. Cell Sci. 114 : 609—622.
- Tanaka E., Kirschner M. 1991. Microtubule behavior in the growth cone of living neurons during axon elongation. J. Cell Biol. 115 : 345—363.
- 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.
- Wada B., Kusunoki F. 1964. Spindle membrane in meiosis of pollen mother cells of *Tradescantia* and in mitosis of endosperm cells of *Zephyranthes*. Cytologia (Tokyo). 29 : 109—111.
- Yu Hong-Shi, Russell S. D. 1993. Three-dimensional ultrastructure of generative cell mitosis in the pollen tube of *Nicotiana tabacum*. Eur. J. Cell Biol. 61 : 338—348.
- Zhang D., Wadsworth P., Hepler P. K. 1990. Microtubule dynamics in living dividing plant cells: Confocal imaging of microinjected fluorescent brain tubulin. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 87 : 8820—8824.
- Zhang H. Q., Bohdanowicz J., Pierson E. S., Li Y. Q., Tiezzi A., Cresti M. 1995. Microtubular organization during asymmetrical division of the generative cell of *Gagea lutea*. J. Plant Res. 108 : 269—276.

---

PROCESSES OF PHRAGMOPLAST CENTRIFUGAL MOVEMENT IN CEREAL MEIOSIS

*N. V. Shamina,<sup>1,\*</sup> O. V. Belykh,<sup>2</sup> G. A. Zamkovoy,<sup>3</sup> I. V. Shevchenko<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of Siberian Branch of RAS, Novosibirsk,

<sup>2</sup> Novosibirsk State University

and <sup>3</sup> P. P. Lukianenko Agricultural Institute, Krasnodar;

\* e-mail: shamina@bionet.nsc.ru

A group of new meiotic division abnormalities affecting processes of phragmoplast centrifugal movement in successive cytokinesis in cereal pollen mother cells is described. These phenotypes present new information about motile phragmoplast formation and operation and confirm our model of centrifugal movements as B-anaphase modification.

**Key words:** cytokinesis, cytoskeleton, meiosis, microtubules, pollen mother cells (PMCs), phragmoplast, plant cell division.

---