

## МЕЙОТИЧНИЙ МУТАНТ ТОМАТУ *dsm<sub>2</sub>*

Лісовська Т.П., Коцун Л.О., Кузьмішина І.І.

Волинський національний університет імені Лесі Українки

Мейоз - складний поділ еукаріотичних клітин, який передують утворенню статевих клітин і призводить до зменшення кількості хромосом вдвічі. Він відбувається в клітинах статевих залоз тварин і людини, у найпростіших, археспоріальних клітинах насінних зачатків і пиляків вищих рослин, а також у зиготах багатьох грибів і водоростей. Еволюційне значення мейотичного поділу зумовлене, насамперед тим, що під час мейозу та в ході статевого розмноження генерується широкий спектр комбінаційної мінливості. Мейоз як і інші біологічні процеси знаходиться під генетичним контролем. Дослідження генетичного контролю мейозу здійснюють за допомогою мейотичних мутантів – організмів із порушеним перебігом певних стадій мейотичного поділу. До генетичного контролю мейозу залучена велика кількість генів, про що свідчить існування багатьох неалельних мутацій, які впливають на нормальний перебіг мейозу. У рослин відомі колекції мейотичних мутантів арабідопсису [Caryl A. P., 2003], кукурудзи [Голубовская И. Н., 1985, 2000], жита [Соснихина С. П. и др., 2005] та інших рослин. У томата відомо дев'ять мейотичних мутацій, які впливають на синапсис хромосом і компактизацію хроматину [Moens P., 1969; Лисовская Т. П. и др., 2009]. В даній роботі наводяться результати дослідження цитологічного вияву і генетичного аналізу нової мейотичної мутації томату.

**Матеріали і методи.** Матеріалом дослідження була мейотична мутація *dsm<sub>2</sub>*, виділена за стерильністю серед рослин – регенерантів, одержаних із культури калюсу томату сорту Вікторина [Грати М. И. и др., 1997]. Рослини морфологічно не відрізнялися від інших рослин цього сорту. Квіти були звичайної будови, відбувалося нормальне цвітіння, але плоди не зав'язувалися. Через майже повну чоловічу стерильність мутація підтримується у вигляді популяції ВС від схрещування гомозиготних за мейотичною мутацією рослин в якості материнської форми із фертильними гетерозиготами в якості батьківської форми.

В тест на алелізм були включені мутації *dsm<sub>1</sub>*, *dsm<sub>3</sub>* і *sti*, які входять до складу колекції мейотичних мутантів томату, зібраної в лабораторії генетики і селекції Волинського національного університету імені Лесі Українки. За походженням *dsm<sub>1</sub>* і *sti* – спонтанні мутації, виділені за стерильністю в польових посівах томату сорту Глорія [Lisovska T. P. et al., 1994], *dsm<sub>3</sub>* - мейотична мутація, виділена із М<sub>2</sub> сорту Факел, отриманого із насіння, опроміненого γ-променями в дозі 300 Гр. За цитологічним виявом мутації *dsm<sub>1</sub>* і *dsm<sub>3</sub>* – синаптичні з середнім ступенем десинапсису [Лисовская Т. П. и др., 2011], мутація *sti* характеризується порушенням конденсації хроматину.

Бутони розміром 2-3 мм фіксували в суміші етанол : крижана оцтова кислота у співвідношенні 3:1, зберігали у 70% етанолі, фарбували ацетокарміном згідно загальноприйнятої методики [Паушева З. П., 1974]. Для цитологічних досліджень готували давлені препарати пиляків на різних стадіях мейозу. Фертильність пилку визначали ацетокарміновим методом.

Статистичну обробку даних здійснювали за методом  $\chi^2$  і t-критерієм Стьюдента [3].

### **Результати та обговорення.**

Мейоз у гетерозиготних за мутацією *dsm<sub>2</sub>* рослин відбувався нормально, відсоток мейоцитів з порушеннями був незначний.

Аналіз цитологічного вияву гомозиготних за мутацією *dsm<sub>2</sub>* рослин показав, що початок мейозу у них перебігав очевидно нормально, порушення виявили починаючи зі стадії діакінезу профазі I мейозу. В діакінезі замість 12 бівалентів в нормі у мутанта *dsm<sub>2</sub>* спостерігались уніваленти, кількість яких коливалась від 4 до 10 на мейоцит. Середня частота унівалентів на мейоцит дорівнювала  $0,12 \pm 0,12$  і  $7,60 \pm 0,46$  для гетеро- і гомозигот за мутацією *dsm<sub>2</sub>*, відповідно. У зв'язку з наявністю значної кількості унівалентів у синаптичного мутанта *dsm<sub>2</sub>*, середня частота хіазм на мейоцит у нього виявилася значно меншою ніж у фертильної гетерозиготи ( $11,00 \pm 0,36$  і  $15,24 \pm 0,24$ , відповідно).

Крім унівалентів в діакінезі траплялися мультиваленти, що дозволяє передбачати негомологічний синапсис хромосом у даного мутанта.

Ми виявили, що, на відміну від середньої частоти хіазм на мейоцит, яка була істотно нижча у гомозиготних за мутацією *dsm<sub>2</sub>* рослин, гомо- і гетерозиготні рослини неістотно відрізнялися за середньою частотою хіазм на бівалент. Цей факт свідчить про те, що кількість хіазм не зменшується рівномірно у всіх бівалентах: вони зникають у певних бівалентах одночасно інші зберігають всі хіазми, які виникли внаслідок кросоверних обмінів в пахітені. Можливо, передчасно розпадаються лише мультиваленти, які утворилися внаслідок гетерологічного синапсису, і зберігають хіазми біваленти із гомологічним синапсисом.

Порушення, виявлені в першому поділі мейозу, призводять до чисельних порушень у другому поділі, а саме відставання хромосом і хроматид в метафазі II та анафазі II. За частотою порушень на всіх стадіях мейозу мутант *dsm<sub>2</sub>* істотно відрізнявся від фертильних гетерозигот. Після закінчення мейозу на стадії спорад у дисинаптичного мутанта *dsm<sub>2</sub>* замість рівних за розміром тетрад утворюються нерівні тетради і тетради з мікроядрами.

Порушення, які відбуваються на всіх стадіях мейозу, призводять до значної стерильності пилку гомозиготних за мутацією *dsm<sub>2</sub>* рослин. Фертильність пилку гомозиготних рослин *dsm<sub>2</sub>/dsm<sub>2</sub>* ( $1,16 \pm 0,58$  % ) значно нижча ніж у гетерозиготних *Dsm<sub>2</sub>/dsm<sub>2</sub>*

(86,13±0,94 %) Для оцінки впливу досліджуваних мейотичних мутацій на мейоз в мегаспорогенезі ми провели аналіз життєздатності продуктів жіночого мейозу за зав'язуванням насінин на плід. Середня кількість насінин на плід у гомозигот  $dsm_2/dsm_2$  становила 8,71±3,41 насінин, що істотно нижче за середню кількість насінин, що зав'язалися на плід у гетерозигот  $Dsm_2/dsm_2$  – 133,30±21,22 насінин. Таким чином досліджувана мейотична мутація впливає як на чоловічий, так і на жіночий мейоз.

Результати функціонального тесту на алелізм показали, що мейотична мутація  $dsm_2$  не алельна іншим синаптичним мутаціям томату  $dsm_1$ ,  $dsm_3$  та мутації  $sti$ , яка викликає порушення конденсації хроматину.

**Висновки.** За цитологічним виявом досліджувана мутація належить до синаптичних із негомологічним синапсисом. За співвідношенням бівалентів та унівалентів вона характеризується середнім ступенем десинапсису. Мейотична мутація  $dsm_2$  має вияв як у мікроспорогенезі, так і у мегаспорогенезі, про що свідчить низька фертильність пилку і незначна кількість насінин, які зав'язалися, на плід у мутантних рослин.

Мейотична мутація  $dsm_2$  томату носить рецесивний характер успадкування і визначається одним геном.